

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**Atividade antimicrobiana de extratos de
Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi)
frente a bactérias relacionadas à mastite
bovina.**

LUCIANA FERREIRA LOBO DE SOUZA
Medicina Veterinária

Brasília
2011



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

Atividade antimicrobiana de extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) frente a bactérias relacionadas à mastite bovina.

LUCIANA FERREIRA LOBO DE SOUZA

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

Orientador: Prof. Dr. Vítor Salvador Picão Gonçalves

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

LUCIANA FERREIRA LOBO DE SOUZA

Título do trabalho:

Atividade antimicrobiana de extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) frente a bactérias relacionadas à mastite bovina.

APROVADO EM ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Vítor Salvador Picão Gonçalves

Prof^a. Dr^a. Simone Perecmanis

Prof^a. Dr^a. Márcia de Aguiar Ferreira

DEDICATÓRIA

*A meus pais, Ana Maria Ferreira Leite e
Ricardo Lobo de Souza, a meu irmão
Danilo Ferreira Lobo de Souza, a minha
avó Maria de Lourdes Leite Santos, ao meu
tio Jorge Nallim Ferreira e ao meu
namorado Mykel Portella Soares por todo o
apoio durante a concretização de mais
uma etapa da minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, um agradecimento especial a meus pais, Ana e Ricardo que, independente de estarem perto ou longe, me deram força e coragem e são a razão de eu chegar aonde cheguei e ser o que sou. Ao meu irmão Danilo, que sempre esteve presente da sua maneira. Ao Mykel que se mostrou o melhor companheiro para todas as horas estando sempre comigo, mesmo tão distante. A meus avós maternos, Maria de Lourdes e Nilton (*in memorium*), paternos, Amador e Dulce e a todos os familiares que, de uma maneira ou de outra, também estiveram presentes durante esta caminhada. Amo muito todos vocês.

Aos professores e funcionários da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UnB que participaram brilhantemente da minha formação acadêmica. Às “meninas” do Laboratório de Bacteriologia da Faculdade da Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, Sílvia, Renata, Carla e Beatriz, pelo tempo dedicado em prol de meus experimentos e a todas as colegas das pesquisas com plantas medicinais que me acompanharam e me ajudaram nessa jornada. Ao meu orientador Prof. Dr. Vítor Salvador Picão Gonçalves e a meu supervisor de estágio curricular Prof. Dr. Luiz Filipe Damé Schuch, pois sem eles este trabalho não teria se concretizado.

Aos grandes amigos, Caroline e Kamila, que nas horas difíceis não abandonam e que sempre estarão comigo. A meu sogro, Ornaldo, sogra, Sevane, e cunhada, Priscila, pelo apoio prestado enquanto estive tão longe de casa. Aos colegas do pensionato em Pelotas que, durante a realização de meu estágio supervisionado, alegraram os meus dias.

E finalmente, agradeço aos animais, que se doaram e confiaram em minhas mãos, e são o motivo da conclusão de mais uma importante fase de minha vida.

RESUMO

Schinus terebinthifolius Raddi é uma planta pertencente à família Anacardiaceae popularmente conhecida como aroeira-vermelha e pimenta brasileira. Suas atividades antibacteriana, anti-inflamatória, cicatrizante e antifúngica vêm sendo cada vez mais pesquisadas e relatadas na literatura científica. Sabe-se que a infecção da glândula mamária dos bovinos pode ser eficientemente controlada, de forma preventiva, a partir da utilização de substâncias antimicrobianas nos tetos antes e após a ordenha. O objetivo deste trabalho foi descrever a atividade antimicrobiana de extratos de Aroeira frente a bactérias relacionadas à mastite bovina a partir de informações obtidas em pesquisa bibliográfica. As pesquisas encontradas sobre esta planta foram conduzidas em circunstâncias muito distintas. Três delas utilizaram o método da difusão por meio de perfuração em ágar, outras duas, da difusão em ágar por disco de papel. Cinco estudos avaliaram sua ação antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus*, quatro frente a *Pseudomonas aeruginosa* e três em relação a *Escherichia coli*. Estudos frente a *Corynebacterium* sp., *Streptococcus* spp. e *Staphylococcus* coagulase negativa, bactérias consideradas causadoras de mastite, não foram encontrados. A casca foi avaliada em dois estudos, as folhas, somente em um, e os frutos também em um. Os extratos mais pesquisados foram: decocto, extrato alcoólico e extrato hidroalcoólico. Isso demonstra a necessidade da realização de estudos padronizados para se chegar a resultados mais concretos quanto ao potencial antimicrobiano da planta e seu poder de uso na prevenção da mastite bovina. Sendo assim, o estudo das propriedades das plantas ainda tem muito a evoluir e, num país como o Brasil, uma oportunidade enorme para o desenvolvimento de pesquisas e, consequentemente, conhecimento técnico-científico.

Palavras-chave: aroeira, *Schinus terebinthifolius* Raddi, antimicrobiano, mastite bovina.

ABSTRACT

Schinus terebinthifolius Raddi is a plant that belongs to Anacardiaceae family and it is popularly known as red-aoeira and brazilian pepper. Antibacterial, anti-inflammatory, antifungal and healing properties have been increasingly researched and reported in scientific literature. It is known that infection of the mammary gland of cattle can be efficiently controlled, preventively, using antimicrobial substances in the teats before and after the milking. The purpose of this study was to describe the antimicrobial activity of aroeira extracts against bacteria related to cattle mastitis using data obtained from literature. Researches on the properties of this plant were conducted in very different circumstances. Three of them used the diffusion method through agar drilling, other two, the diffusion method through paper discs. Five studies evaluated its antimicrobial action against *Staphylococcus aureus*, four against *Pseudomonas aeruginosa* and three against *Escherichia coli*. Studies with *Corynebacterium* sp., *Streptococcus* spp. and *Staphylococcus* negative coagulase, considered mastitis-causing, were not found. The bark was evaluated in two studies, the leaves, only in one and the fruits also in one. The most researched extracts were: decoction, alcoholic and hydro alcoholic extracts. This demonstrates the need for standardized studies to achieve more concrete results on the antimicrobial potential of the plant and its use in the prevention of cattle mastitis. Thus, the study of the plant's properties still has a lot to evolve, and in a country like Brazil, there are opportunities for the development of research and, consequently, technical and scientific knowledge.

Keywords: aroeira, *Schinus terebinthifolius* Raddi, antimicrobial, cattle mastitis.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
 2.1 Mastite Bovina	4
2.1.1 Introdução	4
2.1.2 Classificação.....	5
2.1.3 Etiologia.....	7
2.1.3.1 Situação Mundial.....	7
2.1.3.2 Situação Brasileira	8
2.1.3.3 Caracterização dos gêneros bacterianos.....	9
2.1.4 Diagnóstico	10
2.1.4.1 Diagnóstico da mastite clínica.....	10
2.1.4.2 Diagnóstico da mastite subclínica	11
2.1.4.3 Outros métodos	12
2.1.5 Tratamento.....	13
2.1.5.1 Resistência microbiana	14
2.1.5.2 Resíduos no leite.....	15
2.1.6 Prevenção e controle	16
2.1.6.1 Higiene e conforto para os animais.....	16
2.1.6.2 Tratamento das vacas secas e mastites clínicas.....	17
2.1.6.3 Bom manejo da ordenha.....	17
2.1.6.3.1 Desinfetantes	19
 2.2 Plantas medicinais como antimicrobianos.....	23
2.2.1 Plantas no controle e prevenção da mastite	24
 2.3 <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi.....	28
2.3.1 Características gerais	28
2.3.2 Usos na medicina popular	30
2.3.3 Propriedades	32
2.3.4 Considerações	35
3. CONCLUSÃO	41
4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

1. INTRODUÇÃO

Entre os maiores problemas de saúde que afetam o gado leiteiro, a mastite infecciosa é a enfermidade mais prevalente, determinando quedas na produção de leite, perdas pelo descarte e morte de animais e custos com tratamento. Sabe-se que nas propriedades leiteiras ocorre um amplo uso de produtos antimicrobianos, já que nos programas de prevenção e controle da enfermidade encontram-se a higienização do ambiente e dos equipamentos, a antisepsia dos tetos e o tratamento de vacas secas e de vacas que apresentam a doença (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000).

A resistência de patógenos aos mais diversos fármacos vem, há bastante tempo, se tornando um sério problema de ordem mundial. O consumo exagerado e indiscriminado de antimicrobianos tem resultado na resistência de inúmeras populações bacterianas, causando assim um sério problema de saúde pública. Em vista disso, a busca por novas substâncias derivadas de fontes naturais, incluindo plantas, tem ganhado importância crescente no meio técnico-científico.

A Medicina Veterinária recebe parte do ônus pelas resistências a antibióticos, além disso, enfrenta os desafios provenientes da formação de um mercado consumidor exigente por produtos livres de resíduos, culminando na necessidade da realização de estudos sobre o efeito antimicrobiano de extratos vegetais, principalmente devido ao surgimento de produções pecuárias onde o uso de alopatia é banido ou restrito (Lipinski, 2008).

Segundo o Decreto nº 6.323, de 27 de dezembro de 2007, o sistema orgânico de produção agropecuária é:

“...todo aquele em que se adotam técnicas específicas, mediante a otimização do uso dos recursos naturais e socioeconômicos disponíveis e o respeito à integridade cultural das comunidades rurais, tendo por objetivo a sustentabilidade econômica e ecológica, a maximização dos benefícios sociais, a minimização da dependência de energia não-renovável, empregando, sempre que possível, métodos culturais, biológicos e mecânicos, em contraposição ao uso de materiais sintéticos, a eliminação do uso de organismos geneticamente modificados e radiações ionizantes,

em qualquer fase do processo de produção, processamento, armazenamento, distribuição e comercialização, e a proteção do meio ambiente”.

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento já autoriza, por meio da Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008, o uso de extratos vegetais na sanitização de equipamentos e instalações e também no tratamento e prevenção de enfermidades dos animais na produção orgânica (Brasil, 2008).

Entretanto, poucas plantas medicinais utilizadas pelo Homem têm efeito cientificamente comprovado. Apesar disso, o uso popular já consolidado vem sendo utilizado como valioso guia para as pesquisas farmacológicas uma vez que as propriedades antimicrobianas de substâncias produzidas pelas plantas são conhecidas há séculos. O uso de plantas medicinais na arte de curar é uma forma de tratamento de origens muito antigas, relacionada aos primórdios da medicina e fundamentada no acúmulo de informações por sucessivas gerações. Ao longo dos séculos, produtos de origem vegetal constituíram as bases para tratamento de diversas doenças (Brasil, 2006).

Schinus terenbithifolius Raddi é uma planta pertencente à família Anacardiaceae conhecida popularmente como aroeira, aroeira-da-praia, aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha e bálsamo. Ocorre principalmente ao longo da mata atlântica, desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, e sua análise fitoquímica revelou a presença de alto teor de tanino, biflavonóides e ácidos triterpênicos nas cascas e de até 5% de óleo essencial formado por mono e sequiterpenos nos frutos e nas folhas (Lorenzi & Matos, 2008).

Pesquisas revelam propriedades anti-inflamatória (Amorim & Santos, 2003), cicatrizante (Lucena et. al, 2006; Lipinski, 2008), antibacteriana (Amorim & Santos, 20003; Lipinski, 2008; Guerra et. al, 2000; Degáspari et. al, 2005; Santos, 2007; Soares et. al, 2006; Soares et. al, 2007) e antifúngica (Santos et. al, 2010; Guerra et. al, 2000).

O presente trabalho tem por objetivo discorrer sobre a atividade antimicrobiana de extratos de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) frente a bactérias relacionadas à mastite bovina a partir de uma análise de dados e informações obtidos em pesquisa bibliográfica e documental, obedecendo a seguinte sequência de etapas: fundamentação teórica e revisão bibliográfica da mastite bovina, considerações sobre algumas pesquisas com plantas medicinais que apresentam propriedades antimicrobianas, revisão bibliográfica sobre a planta selecionada e conclusões sobre o assunto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mastite Bovina

2.1.1 Introdução

Mastite é a inflamação da glândula mamária caracterizada por alterações físicas, químicas e organolépticas do leite, além de alterações do tecido glandular. Pode ser causada por agentes químicos ou físicos, mas na maioria dos casos, é causada por bactérias. É responsável por grandes perdas econômicas pelo poder de reduzir drasticamente a produção leiteira (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000; Ladeira, 2007; Radostits et. al, 2007). Segundo Ladeira (2007) é estimado que para cada caso de mastite clínica em uma propriedade existam mais 14 casos de mastite subclínica.

Em 1998, Holanda-Júnior et. al realizaram levantamento para estimar o impacto econômico da ocorrência da mastite em seis fazendas da microrregião geográfica de Araxá, Minas Gerais. Verificaram que os custos e perdas totais com mastite foram equivalentes à US\$ 126 por vaca em lactação por ano. Deste total, 60% foram devido à redução na produção provocada por mastite subclínica, 15% com redução provocada por mastite clínica, 12% com perdas por quartos afacionais, 6% com mão-de-obra extra, 2% com reposição de animais, 2% com medicamentos, 2% com descarte de leite por causa de tratamento e 2% com serviços veterinários.

A mastite é a doença infecciosa mais comum encontrada em rebanhos leiteiros (Philpot & Nickerson, 2000). Em um levantamento recente realizado em propriedades leiteiras da microrregião de Cuiabá no Mato Grosso para verificar a prevalência da doença, foram examinadas 108 vacas e 279 amostras de leite provenientes de quartos mamários mastíticos. Dos animais examinados verificou-se que 85,2% eram portadores de mastite em pelo menos um quarto mamário. O percentual de quartos mamários afetados pela mastite clínica e subclínica foi de 5,8 e 65%, respectivamente (Martins et. al, 2010).

Cruz et. al (2011) ao acompanharem os registros de ordem sanitária de um rebanho bovino leiteiro no sul do Brasil de 2000 a 2009, observaram uma prevalência de 27,8% de mastite. Além disso, alterações de úbere (33,6%) foram uma das principais causas de descarte de animais no rebanho.

A mastite afeta diretamente a qualidade microbiológica do leite. A presença e multiplicação de micro-organismos indesejáveis no leite resultam na produção de enzimas que continuam a degradar proteína, gordura e açúcar do leite, mesmo após tratamento térmico, o que favorece o aparecimento de sabor e odor indesejáveis além de prejudicar a fabricação e diminuir o tempo de prateleira dos produtos derivados como os queijos.

Estudos realizados por Nero et. al (2005), ao avaliarem amostras de leite cru coletadas em 210 diferentes propriedades nas regiões de Viçosa, MG (47), Pelotas, RS (50), Londrina, PR (63) e Botucatu, SP (50), constataram que uma parcela significativa das amostras (48,6%) apresentaram contagens de micro-organismos aeróbios mesófilos acima do determinado pela Instrução Normativa 51, de 18 de setembro de 2002 (IN 51), sendo 21,3% na região de Viçosa (MG), 56,0% na região de Pelotas (RS), 47,6% na região de Londrina (PR) e 68,0% na região de Botucatu (SP). A IN 51, na época deste levantamento, determinava uma contagem máxima de aeróbios mesófilos no leite cru refrigerado de 1×10^6 UFC/ml para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. A partir do dia 1 julho de 2011, para essas mesmas regiões, a CCS permitida passou a ser de, no máximo, 1×10^5 UFC/ml para amostra individual e de 3×10^5 UFC/ml para leite de conjunto.

2.1.2 Classificação

A doença é geralmente designada de acordo com a origem de seu agente causador. A mastite ambiental é aquela causada por micro-organismos oriundos do ambiente e a contagiosa é aquela causada por micro-organismos que residem, primariamente, na glândula mamária. A transmissão da mastite contagiosa ocorre, principalmente, durante a ordenha, seja pelas mãos do ordenhador, pelas próprias teteiras ou pelos recipientes utilizados para antisepsia dos tetos. A fonte de infecção é o leite proveniente de quartos mamários infectados. No caso da mastite

ambiental, a transmissão é feita pelo contato direto da glândula mamária com o ambiente contaminado, principalmente, por fezes. (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000; Ladeira, 2007; Radostits et. al, 2007)

De acordo com os sinais clínicos, a mastite pode ser classificada em clínica, podendo ser superaguda, aguda, subaguda ou crônica, ou subclínica. As mastites, em sua maioria, são subclínicas ou crônicas. A forma superaguda está geralmente associada a reações sistêmicas graves e pode ser fatal. O quarto afetado se torna aumentado de volume e dolorido à palpação. Os sinais clínicos incluem febre alta, depressão profunda, anorexia, podendo evoluir para choque séptico. Além disso, o leite pode apresentar pus, grumos e sangue (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000; Ladeira, 2007; Radostits et. al, 2007).

A forma aguda é caracterizada por um grande aumento de volume na glândula afetada, rubor, dor à palpação, secreção purulenta e coágulos espessos, porém sem alterações sistêmicas evidentes (Radostits et. al, 2007).

A forma subaguda ou crônica é de difícil detecção, pois não ocorrem reações sistêmicas e as alterações da glândula são menos marcantes. Podem-se verificar, entretanto, alterações no leite como a presença de grumos ou aparência aquosa (Philpot & Nickerson, 2000; Ladeira, 2007; Radostits et. al, 2007). A resposta inflamatória persistente resulta em bloqueio de ductos, atrofia de alvéolos associados e, posteriormente, em fibrose, o que dificulta ainda mais a eliminação do agente e a penetração de antibióticos durante tratamento (Philpot & Nickerson, 2000).

A mastite subclínica é a forma mais prevalente, porém não se observam alterações na glândula mamária nem no leite. São diagnosticadas somente por cultura bacteriana ou por testes que demonstrem a alta taxa de leucócitos no leite (Philpot & Nickerson, 2000; Ladeira, 2007).

2.1.3 Etiologia

Embora mais de 140 espécies microbianas possam estar envolvidas com a doença, um número relativamente pequeno é responsável pela maioria dos casos de mastite (Philpot e Nickerson, 2000).

2.1.3.1 Situação Mundial

Segundo Quinn et. al (2005), cinco patógenos bacterianos são os principais responsáveis pela mastite bovina: *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus agalactiae*.

Radostits et. al (2007) e Philpot & Nickerson (2000) ressaltam também agentes como *Staphylococcus coagulase negativa*, habitantes naturais da pele da glândula mamária, considerados patógenos oportunistas. Radostits et. al (2007) classificam os micro-organismos causadores da mastite como patógenos maiores e menores. Os patógenos maiores seriam aqueles causadores da mastite clínica e os menores, causadores da mastite subclínica e, menos frequentemente, também de mastite clínica. Os patógenos maiores causadores de mastite contagiosa seriam *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Mycoplasma bovis*; e os causadores de mastite ambiental seriam *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, *E. coli*, *Klebsiella spp.* e *Enterobacter spp.*. Os patógenos menores seriam *Staphylococcus coagulase negativa* e *Corynebacterium bovis*.

Philpot & Nickerson (2000) consideram como causadores da mastite contagiosa as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* e, menos frequentemente, *Mycoplasma bovis*. Já em relação à mastite ambiental, além daqueles citados por Radostits et. al (2007) também relatam *Enterococcus spp.*

Os patógenos menos comuns incluem: *Nocardia spp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella multocida*, *Campylobacter jejuni*, *B. cereus*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.* e alguns fungos como *Aspergillus spp.* e *Candida spp.* (Radostits et. al, 2007; Philpot & Nickerson, 2000).

2.1.3.2 Situação Brasileira

Ladeira (2007) divide os agentes infecciosos causadores da mastite bovina em grupos: cocos gram positivos (*Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp.), bastonetes gram negativos, corinebactérias e outros como *Nocardia* spp. e também leveduras.

Müller (1978) já isolava, na época do estudo, agentes como *Staphylococcus aureus* (18,3%), *Streptococcus* sp. (12,8%), *Corynebacterium pyogenes* (1,3%) e *Escherichia coli* (0,8%) após examinar 235 vacas em lactação provenientes da região de Londrina, no Paraná.

Moreira et. al (1997), ao avaliarem amostras de leite de 231 vacas da bacia leiteira de Goiânia, isolaram, principalmente, *Staphylococcus* coagulase positiva (32,90%), *Streptococcus* sp. (22,07%), *Pseudomonas* sp. (12,12%), *Enterobacter* sp. (10,38%), *Corynebacterium* sp. (8,65%), *E. coli* (8,22%), *Bacillus* sp. (8,22%), *Proteus* sp. (6,49%), *Klebsiella* sp. (4,32%) e *Staphylococcus* coagulase negativa (3,46%).

Brito et. al (1999), ao realizar exames microbiológicos de 6315 amostras de leite obtidas de todos os quartos mamários de 1609 vacas em lactação, originárias de 48 rebanhos localizados na Zona da Mata e Campo das Vertentes do Estado de Minas Gerais, isolaram 3919 micro-organismos, sendo 3637 de quartos mamários com infecção por um único agente e 283 de infecção mista. As porcentagens dos agentes isolados foram: *Staphylococcus aureus*, 19,2%, *Staphylococcus* sp. coagulase negativos, 12,4%, *Streptococcus agalactiae*, 6,9%, *Streptococcus* sp. esculina positivos, 4,0%, *Streptococcus* sp. esculina negativos, 2,1%, *Corynebacterium* sp., 55,2%, leveduras, 0,1% e *Pseudomonas* sp., 0,1%.

Ribeiro et. al (2009) relataram que, em um levantamento com 74 vacas com mastite, *Staphylococcus aureus* (25,7%), *Streptococcus* spp. (21,4%), *Corynebacterium bovis* (12,9%), *Streptococcus agalactiae* (4,3%) e *Staphylococcus* spp. (4,3%) foram os micro-organismos mais frequentemente isolados nos animais.

Em um levantamento recente com 935 quartos mamários avaliados, Oliveira et. al (2011) isolaram em casos de mastite clínica *Staphylococcus* coagulase negativa (25%), *Staphylococcus aureus* (16,7%), *Streptococcus* spp. (8,3%) e *Corynebacterium* spp. (8,3%). Na mastite subclínica foram isolados *Staphylococcus* coagulase negativa (32,3%), *Staphylococcus aureus* (17,7%), *Staphylococcus intermedius* (1,6%), *Streptococcus* spp. (4,8%) e *Corynebacterium* spp. (4,8%).

2.1.3.3 Caracterização dos gêneros bacterianos

De acordo com Quinn et. al (2005), *Staphylococcus* spp. são cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis, catalase positivos, formam colônias de tamanho médio, brancas ou douradas, crescem em meios não enriquecidos e a produção de coagulase se relaciona à patogenicidade. Algumas espécies, como *S. aureus* e *S. intermedius* produzem hemólise dupla. São comensais de membranas mucosas e da pele, relativamente estáveis no meio ambiente e causam infecções piogênicas. Dentre as espécies, *S. aureus* é a mais frequente em infecções da glândula mamária. A mastite estafilocócica é, mundialmente, a forma mais comum de mastite bovina (Quinn et. al, 2005).

Streptococcus spp. são cocos gram-positivos, anaeróbios facultativos, geralmente imóveis, catalase negativos, formam colônias pequenas, translúcidas, geralmente hemolíticas e requerem meios enriquecidos para crescer. São comensais em membranas mucosas, sensíveis à dessecação e causam infecções piogênicas. A mastite estreptocócica bovina é uma infecção específica importante. *S. agalactiae* é, em geral, causador de mastite crônica nos bovinos, principalmente pelo fato da bactéria habitar o conduto galactóforo, o que facilita também a sua erradicação do rebanho (Ladeira, 2007). Já *S. dysgalactiae* pode ser responsável por causar mastite aguda nos bovinos, sendo habitante natural da cavidade oral, vagina e do meio ambiente. *S. uberis* também é relatado como causador de mastite aguda e habita pele, vagina e tonsilas (Quinn et. al, 2005).

Corynebacterium é um gênero de micro-organismos pleomórficos gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis, catalase positivos, oxidase negativos, formam colônias muito pequenas bastante fastidiosas, pois requerem meios

enriquecidos para crescer. A maioria é comensal em membranas mucosas e também causam infecções piogênicas. Podem causar mastite subclínica em bovinos uma vez que habitam naturalmente a cisterna do teto (Quinn et. al, 2005; Ladeira, 2007).

Enterobactérias são bastonetes gram-negativos, anaeróbios facultativos, muitos são móveis pela presença de flagelos, catalase positivos, oxidase negativos, por serem bactérias entéricas toleram sais biliares no ágar MacConkey e crescem em meios não enriquecidos. São fermentadores de glicose, reduzem nitrato a nitrito e causam uma série de infecções clínicas. Entre seus principais representantes associados à mastite estão *Escherichia coli*, espécies de *Proteus*, de *Enterobacter*, de *Klebsiella*, além de *Pseudomonas* spp. e *Pasteurella* spp. (Quinn et. al, 2005; Ladeira, 2007). Habitam o trato intestinal de animais e humanos e contaminam a vegetação, o solo, a água entre diversos outros ambientes e objetos. A infecção da glândula mamária de vacas por membros da família *Enterobacteriaceae* ocorre de forma oportunista proveniente, principalmente, de contaminação fecal (Quinn et. al, 2005).

Pseudomonas spp. são bastonetes gram-negativos, aeróbios obrigatórios, móveis, sendo a maioria catalase positiva e oxidase positiva. Crescem bem em ágar MacConkey e são produtoras de pigmentos. São micro-organismos ambientais também encontrados na pele, membranas mucosas e fezes. *Pseudomonas aeruginosa* é relatada como causadora oportunista de mastite em bovinos e está frequentemente associada ao uso de tubos intramamários contaminados (Quinn et. al, 2005).

2.1.4 Diagnóstico

2.1.4.1 Diagnóstico da mastite clínica

A sintomatologia da mastite clínica, como os sinais de inflamação do úbere, secreção láctea com grumos, sangue, pus ou de aspecto aquoso, pode auxiliar no diagnóstico da doença clínica, apesar de alguns autores considerarem um método

ultrapassado, uma vez que já existem métodos mais precisos para detecção da doença (Schalm et. al, 1971; Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000; Dias, 2007).

O método que auxilia na visualização do aspecto do leite é a utilização da caneca de fundo preto nos primeiros jatos antes da ordenha. Este teste permite não só a detecção de anormalidades no leite, como grumos, pus e sangue, mas também auxilia no estímulo da descida do leite e diminui a contagem de bactérias no leite após a ordenha uma vez que a maior parte delas está presente nos primeiros jatos (Schalm et. al, 1971).

Com relação aos sinais clínicos da glândula mamária, o ideal é realizar o exame físico após a ordenha e proceder não só a detecção de sinais agudos como calor, rubor, dor, edema, mas também a procura por áreas com fibrose, as quais nesse caso indicariam os danos permanentes resultantes de uma inflamação crônica (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000).

2.1.4.2 Diagnóstico da mastite subclínica

Quando se pretende diagnosticar a mastite subclínica é necessária a utilização de exames complementares baseados no conteúdo celular do leite. A contagem de células somáticas (CCS) é um deles e pode ser realizada por método microscópico ou por equipamentos eletrônicos automáticos. A CCS em uma glândula mamária lactante não infectada geralmente é menor que 10^5 células somáticas/ml, estando entre 20.000 e 50.000. Os tipos celulares incluem os macrófagos, linfócitos e neutrófilos e um pequeno número de células epiteliais. Em casos de mastite clínica, podem estar presentes em milhões de células por ml (Philpot & Nickerson, 2000). De acordo com Ladeira (2007), valores superiores a 2×10^5 células/ml são indicativos de mastite subclínica. Radostits et. al (2007) preconizam que contagens acima de 3×10^5 células/ml em tanque de leite servem como indicador para se proceder a avaliação individual de cada animal.

Porém, deve-se lembrar de que não só a mastite causa aumento de células somáticas no leite. Outros fatores como época do ano, raça, estágio de lactação, número de lactações, estresse causado por deficiências no manejo, problemas

nutricionais e doenças intercorrentes também podem causar (Philpot & Nickerson, 2000; Noro et. al, 2006; Ladeira, 2007).

Sendo assim, a CCS no leite de animais individuais ou de tanque é uma valiosa ferramenta na avaliação do nível de mastite subclínica no rebanho, na estimativa das perdas quantitativas e qualitativas de produção do leite e derivados, como indicativo da qualidade do leite produzido na propriedade e para estabelecer medidas de prevenção e controle (Philpot & Nickerson, 2000).

Há, no entanto, métodos mais simples que podem ser realizados a campo e que, apesar de sua subjetividade, conseguem estimar o número de células somáticas presentes no leite. Um deles é o CMT (*California Mastitis Test*), que é um dos testes mais populares e práticos para o diagnóstico de mastite, principalmente, a subclínica. O CMT é um teste qualitativo que estima a contagem de células somáticas presentes no leite em função do grau de gelatinização ou viscosidade da mistura de partes iguais de leite e do reagente, verificado em uma bandeja apropriada para realização do mesmo. Os resultados são dados em uma escala de 1 a 5 (negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo). O CMT ainda estima o pH da mistura. A verificação da coloração arroxeadas quer dizer que o leite está alcalino, podendo indicar a presença de um processo inflamatório (Schalm et. al, 1971).

2.1.4.3 Outros métodos

A coleta e cultura de amostras de leite provenientes de vacas com mastite clínica ou daquelas que apresentam altas contagens de células somáticas (CCS) é a melhor maneira para se determinar quais micro-organismos são responsáveis pela mastite daquele rebanho, já que a maioria dos patógenos causadores da doença pode ser facilmente isolada mediante métodos rotineiros de cultura. Dessa forma, a cultura e isolamento dos agentes etiológicos envolvidos também se faz importante para orientar na escolha do melhor método de tratamento e das estratégias de controle e profilaxia mais adequados (Philpot & Nickerson, 2000). Radostits et. al (2007) ressaltam a importância da cultura bacteriológica do leite antes da escolha e implementação do tratamento, uma vez que somente a avaliação clínica não é

suficiente para determinar qual tipo de patógeno está envolvido no processo infeccioso.

Outros métodos de diagnóstico da mastite incluem: exames de sangue, ultrassonografia da glândula mamária e biópsia do tecido mamário (Radostits et. al, 2007).

2.1.5 Tratamento

Agentes antimicrobianos são intensivamente usados no tratamento da mastite bovina podendo ser administrados por via parenteral, intramamária, ou intramuscular. O esvaziamento frequente da glândula mamária afetada também é recomendado no tratamento de mastites uma vez que a ação do fluxo do leite ao longo da glândula age removendo os micro-organismos, as endotoxinas e os mediadores inflamatórios, bem como os neutrófilos e os macrófagos, cujos produtos estimulam a inflamação (Rebhun, 2000).

Segundo Radostits et. al (2007), a estratégia de tratamento depende do tipo de mastite, se clínica ou subclínica, da identificação correta dos agentes envolvidos, da severidade da resposta inflamatória, da duração da infecção, da quantidade de quartos afetados, do estágio de lactação, da idade do animal e da presença ou não de gravidez. Em vacas em lactação, a mastite clínica sem alterações visíveis da glândula mamária pode não requerer tratamento. Por outro lado, a mastite clínica com alterações da glândula mamária ou sinais sistêmicos deve ser tratada com antimicrobianos por via intramamária e, em alguns casos, por via parenteral. Pode ser necessário terapia de suporte e administração de anti-inflamatórios não esteroidais em casos de mastite aguda e hiperaguda.

Os antibióticos do grupo dos β-lactânicos, como a penicilina G, as cefalosporinas e a ampicilina, são os mais utilizados para tratamento de doenças em rebanhos leiteiros, sendo assim os mais frequentemente detectados no leite (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000). Outros como a gentamicina, as tetraciclinas e os macrolídeos são citadas por Quinn et. al (2005) como antibióticos comumente usados contra patógenos causadores de mastite bovina.

Reis et. al (2003) avaliaram a eficiência da antibioticoterapia para controle de mastite subclínica em 31 vacas de lactação e relataram que o tratamento durante a lactação não foi efetivo para o controle das mastites subclínicas, mesmo em animais que apresentaram alta contagem de células somáticas. Zafalon et. al (2007) avaliaram o custo benefício da antibioticoterapia no tratamento de mastite subclínica bovina causada por *Staphylococcus aureus* e, considerando uma prevalência de *S. aureus* de 5%, os gastos com medicamento, descarte do leite, antibiograma e mão-de-obra, os autores concluíram que o tratamento mostrou-se economicamente inviável.

2.1.5.1 Resistência microbiana

A resistência de micro-organismos aos antibióticos convencionais é um dos principais obstáculos ao tratamento da mastite em bovinos leiteiros. Ribeiro et. al (2009), ao avaliarem o perfil de resistência antimicrobiana de bactérias isoladas de 148 vacas no período médio de lactação, das quais 2 com mastite clínica, 72 com mastite subclínica e 74 sem mastite (controles), provenientes de quatro pequenas propriedades do interior do Estado de São Paulo certificadas como orgânicas, verificou que as maiores taxas de resistência das linhagens encontradas foram constatadas para penicilina (53,5%), ampicilina (41,6%) e neomicina (38,6%). Multirresistência a três ou mais fármacos foi encontrada em 40 (39,6%) linhagens.

Fernandes et. al (2009) verificaram multirresistência de 19 isolados de *Pseudomonas aeruginosa* para ampicilina, cefalexina, gentamicina, tetraciclina, penicilina/novobiocina e cloxacilina. Segundo os autores, estes antimicrobianos não efetivos frente aos isolados compõem os principais princípios ativos utilizados na terapia intramamária de vacas no Brasil, na lactação e no período seco, fato que dificulta a instituição da terapia intramamária contra *P. aeruginosa*. Além disso, o perfil de sensibilidade microbiana das 19 linhagens mostrou que somente enrofloxacin (73,7%) e danofloxacin (73,7%) foram os antimicrobianos mais efetivos frente aos micro-organismos isolados.

2.1.5.2 Resíduos no leite

Outro grande problema do tratamento da mastite é a possibilidade da presença de resíduos de antibióticos no leite, o qual pode produzir efeitos adversos tanto para a saúde pública quanto para a indústria de laticínios. Pontes Netto et. al (2005), como fase inicial do Programa de Controle de Drogas Veterinárias em Produtos de Origem Animal (PAMvet-PR), realizaram levantamento sobre os medicamentos veterinários utilizados nas principais patologias do rebanho leiteiro do Estado do Paraná. Os resultados evidenciaram que os antimicrobianos foram citados 3507 vezes (48%) quando se consideraram os princípios ativos mais utilizados nas principais patologias do rebanho leiteiro, entre elas a mastite. Neste trabalho, as penicilinas foram os antimicrobianos com o maior número de citações (n=1431) seguidas dos aminoglicosídeos (n=943) e das tetraciclinas (n=577).

Ribeiro et. al (2009) verificaram a presença de resíduos de antimicrobianos no leite de 2,7% dos animais amostrados, ressaltando que a avaliação foi feita em propriedade orgânica, onde a presença de resíduos antimicrobianos não é permitida.

Sousa et. al (2010) verificaram que, de trinta amostras de leites pasteurizados, provenientes de trinta municípios do Estado do Ceará, havia presença de resíduos de antibióticos em vinte três (76,67%). Em um estudo realizado com 210 amostras de leite cru, coletadas em quatro regiões produtoras de leite no Brasil, resíduos de antibióticos foram detectados em 11,4% das amostras (Nero et. al, 2007). Nascimento et. al (2001), ao analisarem 96 amostras de leite pasteurizado adquiridas em estabelecimentos comerciais de Piracicaba, São Paulo, constataram a presença de resíduos de antibióticos em 50% das amostras e destas, 34,8% apresentaram resíduos de antibióticos β -lactâmicos. Esses resultados são preocupantes já que há a possibilidade de ingestão desses produtos por pessoas que apresentam sensibilidade à penicilina, uma vez que os antibióticos resistem aos processos térmicos utilizados pela indústria de laticínios, podendo gerar graves danos à saúde do consumidor.

2.1.6 Prevenção e controle

Os programas de prevenção e controle da mastite têm por objetivo limitar a prevalência das infecções e por consequência diminuir os impactos econômicos na atividade leiteira. Um bom programa de controle deve ter como metas principais, erradicar as mastites contagiosas por *Streptococcus agalactiae*, controlar as por *Staphylococcus aureus*, manter baixos os índices de mastites ambientais, contagens de células somáticas abaixo de 200.000/ml, menos de 2% de episódios clínicos ao mês e 85% das vacas livres de mastite subclínica. Para alcançar estas metas é necessário atuar sobre a fonte de infecção, detectando corretamente as vacas com mastite clínica e subclínica, tratando-as corretamente e eliminar os animais com infecções crônicas. Em relação aos animais susceptíveis, procurar a seleção de vacas naturalmente mais resistentes e propiciar o fornecimento de alimentação equilibrada aos animais. Deve-se atuar ainda sobre as vias de transmissão da mastite, implantando um correto manejo e higiene de ordenha e manter as vacas em ambiente seco e limpo (Müller, 2002).

Antes de tudo, para o estabelecimento de um programa eficiente de controle de mastite é essencial o treinamento de pessoal, principalmente dos ordenhadores, sobre princípios de higiene, fisiologia da lactação, funcionamento e manutenção do equipamento de ordenha (Müller, 2002).

As medidas de controle preconizadas por Laranja & Machado (1994), Philpot & Nickerson (2000) e Radostits et. al (2007) são: tratamento de vacas secas, tratamento das mastites clínicas, bom manejo da ordenha, bom funcionamento do equipamento de ordenha, descarte/segregação de vacas com mastite crônica e higiene e conforto na área de permanência dos animais.

2.1.6.1 Higiene e conforto para os animais

A higiene e o conforto na área de permanência dos animais reduz, consequentemente, o número de patógenos ambientais, influenciando diretamente na ocorrência de mastite ambiental e, indiretamente, tendo reflexo também nos índices de mastite contagiosa (Ladeira, 2007, Müller, 2002). Animais com úberes

sujos exigem maiores cuidados por ocasião da ordenha. Deve ser dada atenção especial às instalações para vacas secas, novilhas e vacas em lactação como piquetes, sombreamento, dimensão correta das instalações nos diferentes sistemas de confinamento, natureza da cama e baias ou piquetes de parião (Müller, 2002). Outro fator é a alimentação dos animais após a ordenha. Estando o animal levantando durante mais tempo, o esfíncter do teto também tem mais tempo para se fechar, evitando que, ao se deitar, o animal entre em contato com patógenos ambientais que podem, assim, entrar no teto.

Além destas medidas deve ser dada atenção especial à dieta dos animais, tanto em lactação como no período seco. Deficiências de vitaminas e minerais podem aumentar a suscetibilidade a infecções e em especial à mastite. A vitamina A e E, selênio, cobre e β-carotenos afetam vários mecanismos de defesa como o transporte de anticorpos para o leite, a manutenção da saúde do tecido mamário e da função das células somáticas (Philpot & Nickerson, 2000; Müller, 2002).

2.1.6.2 Tratamento das vacas secas e mastites clínicas

O tratamento das vacas secas e das mastites clínicas é importante no controle da mastite contagiosa, pois elimina os reservatórios da infecção. Além disso, o tratamento das vacas no dia da secagem tem por finalidade a cura de infecções subclínica e a prevenção de novas infecções no período seco (Philpot & Nickerson, 2000; Müller, 2002).

2.1.6.3 Bom manejo da ordenha

O bom manejo da ordenha também inclui a higienização correta das mãos do ordenhador, as quais servem como um veículo de transmissão entre vacas. Além disso, vacas sabidamente com mastite, subclínica ou clínica, devem ser ordenhadas por último. A sequência mais apropriada seria: novilhas, vacas que nunca tiveram mastite, vacas curadas e vacas com mastite subclínica. As vacas com mastite subclínica devem ser ordenhadas manualmente em último lugar. Em casos de mastite crônica sem sucesso no tratamento recomenda-se o descarte (Philpot & Nickerson, 2000; Müller, 2002, Ladeira, 2007; Radostitis et. al, 2007).

A ordenha deve ser realizada por pessoas treinadas, com tranquilidade, obedecendo a uma rotina pré-estabelecida (Müller, 2002). O bom funcionamento da ordenhadeira reduz o risco de introdução de patógenos no canal do teto advindo de flutuações do vácuo e de gradientes de pressão anormais dentro dos tetos (Radostits et. al, 2007).

As seguintes etapas são essenciais para uma ordenha correta: realização do teste da caneca, limpeza dos tetos com água clorada, imersão dos tetos em solução antisséptica por 30 segundos, secagem dos tetos com papel toalha descartável, colocação das teteiras, retirada dos insufladores, imersão dos tetos em solução antisséptica e desinfecção das teteiras (Philpot & Nickerson, 2000; Müller, 2002).

A desinfecção das teteiras entre a ordenha de uma vaca e outra deve ser realizada pela imersão das mesmas em solução sanificante, que deve ser trocada com frequência. As quatro teteiras não devem ser imersas ao mesmo tempo. O procedimento mais correto seria imergir duas teteiras por vez. Nos equipamentos modernos, esta etapa de higienização é automatizada. A limpeza do equipamento é tão importante quanto o manejo e higiene da ordenha, sendo fundamental para a qualidade do leite. As principais etapas de limpeza do equipamento constituem-se de enxágue com água morna (32 a 41°C), enxágue com água e detergente alcalino clorado (71 a 74°C), enxágue ácido e santificação pós ordenha (Müller, 2002).

As medidas de higiene incluem ainda, além da lavagem e desinfecção completa da ordenhadeira entre cada vaca ordenhada, o uso de solução desinfetante para limpar os tetos antes e após a ordenha (pré e pós *dipping*) (Philpot & Nickerson, 2000; Ladeira, 2007).

A prática do pré *dipping* foi desenvolvida como medida de prevenção para as mastites ambientais. Esta etapa é de extrema importância já que associada à lavagem pode reduzir em 50 a 85% os índices de novas infecções. Quando da utilização do pré *dipping* os tetos devem ser secos com papel toalha visando à retirada do antisséptico para evitar resíduos no leite (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000).

Este conjunto de procedimentos, além de propiciar a higienização dos tetos é de fundamental importância para uma ordenha mais rápida e completa. Associado a outros estímulos eleva os níveis de ocitocina que propiciam a “descida” mais rápida do leite e intumescimento dos tetos, o que por sua vez permite a colocação correta dos insufladores, diminuindo os riscos de deslizamento das mesmas (Müller, 2002).

O pós *dipping* é uma medida de controle extremamente importante para a mastite contagiosa. A imersão dos tetos deve ocorrer imediatamente após a retirada dos insufladores e deve ser total, utilizando-se frascos de imersão, não permitindo o retorno do produto. Este procedimento, associado ao tratamento de vacas secas, é responsável por uma diminuição significativa nas mastites contagiosas (Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000; Müller, 2002).

Ribeiro et.al (2009) preconiza a necessidade de adequação das práticas voltadas à ordenha higiênica, especialmente direcionada aos micro-organismos contagiosos, com vistas a assegurar melhor qualidade do leite comercializado, ou mesmo da matéria prima utilizada na elaboração de derivados lácteos por propriedades orgânicas.

2.1.6.3.1 Desinfetantes

Os desinfetantes utilizados para higienização dos tetos não podem ser irritantes nem tóxicos, devem permanecer ativos na presença de matéria orgânica, como o leite, e não devem ser absorvidos pelos tecidos nem deixar resíduos no leite (Quinn et. al, 2005). Iodo, amônia quaternária, clorexidina e hipoclorito de sódio são alguns dos germicidas mais utilizados (Rebhun, 2000; Radostits et. al, 2007).

Segundo Medeiros et. al (2009), os princípios ativos mais utilizados para desinfecção dos tetos são o iodo, clorexidina, ácido sulfônico, cloro, peróxidos, lauricidina e ácido cloroso. Ao avaliarem a sensibilidade in vitro de 60 isolados de *Staphylococcus* spp. de glândulas mamárias de vacas com mastite subclínica frente ao cloro 2,5%, iodo 0,57%, clorexidina 2,0%, amônia quaternária 4,0% e ácido lático 2,0% em quatro tempos distintos (15", 30", 60" e 300"), observaram que a maior

atividade desinfetante foi verificada para o iodo, a clorexidina e o ácido lático e que, por outro lado, praticamente 100% dos isolados foram resistentes ao cloro.

A resistência de micro-organismos aos desinfetantes assemelha-se àquela que ocorre com drogas antimicrobianas terapêuticas. A resistência ao cloro de micro-organismos associados à mastite também foi verificada em estudos conduzidos por Amaral et. al (2004) e Pedrini & Margatho (2003). A utilização do cloro como agente desinfetante nas propriedades produtoras de leite é uma prática muito comum no Brasil, uma vez que o produto é considerado um bom agente desinfetante, além de apresentar baixo custo; entretanto, tem se mostrado ineficiente em processos de higienização quando utilizado na concentração de 150ppm (Amaral et. al, 2004).

Fagan et. al (2005) preconizam a utilização de cloro a 750ppm como sendo a forma mais eficaz e com menos resíduos no leite. Concentrações abaixo disso são ineficientes e acima deixam resíduos. Recomendam também que os tetos sejam lavados, pois sua ação é reduzida na presença de matéria orgânica.

Pedrini & Margatho (2003) ao avaliarem a atividade *in vitro* de diluições sucessivas de diferentes agentes desinfetantes no combate a micro-organismos causadores de mastites contagiosa e ambiental, demonstraram que as soluções de iodo a 2% e a 1% apresentaram melhor desempenho contra todos os micro-organismos testados, mas que, quando utilizado nessas concentrações, o iodo pode deixar resíduos no leite. Este estudo também demonstrou que o hipoclorito de sódio a 0,5% não foi efetivo, e que o cloreto de benzalcônio a 1% apresentou-se ativo apenas contra agentes gram positivos. A clorexidina obteve papel de destaque, tendo demonstrado efetividade contra micro-organismos causadores de mastites contagiosa e ambiental, podendo ser utilizada, segundo os autores, na concentração de 0,5%. Neste estudo, foram comparadas cepas padrão de *Staphylococcus aureus* ATCC e *Escherichia coli* ATCC com amostras de *Staphylococcus* sp., *Streptococcus* sp., *Corynebacterium* sp. e *Escherichia coli* isoladas de casos de mastite bovina clínica.

A clorexidina é, provavelmente, o biocida mais utilizado em produtos antissépticos, principalmente para higienização das mãos, antissépticos orais e como desinfetante. Possui largo espectro de ação e é pouco irritante para a pele (McDonnel & Russell, 1999).

Tabela 1. Mecanismos de ação antimicrobiana da clorexidina. Fonte: adaptado de McDONNEL & RUSSELL, 1999.

Micro-organismo	Ação
Esporos bacterianos	Não esporicida, mas previne seu desenvolvimento, inibindo seu crescimento mas não sua germinação.
Micobactérias	Micobacteriostático, mas não micobactericida.
Outras bactérias não esporuladas	Agente ativo de membrana causando sua lise; altas concentrações causam precipitação de proteínas e ácidos nucléicos.
Leveduras	Agente ativo de membrana causando sua lise; altas concentrações causam coagulação intracelular.

Entretanto, a atividade da clorexidina é reduzida pela presença de matéria orgânica e é mais ativo sob valores de pH alcalinos. É mais eficaz contra bactérias gram-positivas e algumas gram-negativas e tem atividade fungicida limitada (Quinn et. al, 2005).

Os compostos halogênicos incluem os compostos de cloro e de iodo, amplamente usados como desinfetantes e antissépticos. Segundo Quinn et. al (2005), os hipocloritos são virucidas potentes, bem como micobactericidas e esporicidas. O hipoclorito de sódio é de ação rápida e não colorífico, porém, possui efeito corrosivo e relativa instabilidade frente à presença de matéria orgânica e substâncias alcalinas. Já os compostos iodados são mais ativos na presença de matéria orgânica; todavia, podem tingir e irritar a pele. Os iodóforos têm um amplo espectro de ação sendo bactericidas, fungicidas e virucidas e, em muitos países, são os mais comumente usados para imersão de tetos.

A escolha correta do desinfetante é, portanto, fundamental para o sucesso de um programa de controle e prevenção de mastite. Para que haja ótima atividade os

desinfetantes devem ser usados na concentração correta durante tempo de contato suficiente para sua atuação. Além disso, custo, disponibilidade, inativação por matéria orgânica, toxicidade e instabilidade são alguns dos fatores que devem ser levados em conta quanto ao uso de desinfetantes em uma propriedade, uma vez que estes são indispensáveis para o êxito de um programa de erradicação de uma doença.

2.2 Plantas medicinais como antimicrobianos

Diversas plantas medicinais apresentam potencial antimicrobiano. Carvalho et. al (2005) analisaram a atividade antibacteriana de 32 plantas com indicativo etnográfico condimentar da região metropolitana de Porto Alegre/RS frente a *Escherichia coli* (ATCC 11229), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Salmonella Enteritidis* (ATCC 11076) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 19433). Extratos¹ de 12 plantas apresentaram capacidade de inibição e/ou de inativação seletiva sobre os inóculos padrões, sendo que as plantas que melhor se destacaram foram sálvia (*Salvia officinalis* L.), alho porró (*Allium porrum* L.), alho nirá (*Allium tuberosum Rottl.*) e pimentas do tipo jardim (*Capsicum annuum* L.), malagueta (*Capsicum frutescens* L.), calabresa (“pool” de *Capsicum* sp.) e dedo-de-moça (*Capsicum baccatum* L.).

Souza & Wiest (2007) buscaram identificar e comparar a atividade antibacteriana dos extratos alcoólico, hidroalcoólico e decocto de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc., também chamada de erva-santa ou garupá, com base na indicação popular de seu uso, frente a bactérias de importância em saúde pública e em produção animal como *Staphylococcus aureus* (25923) e *Escherichia coli* (11229) (inóculos padronizados American Type Culture Collection (ATCC)). Utilizou-se para avaliação da atividade antibacteriana a técnica do Sistema de Tubos Múltiplos e todos os três extratos vegetais utilizados apresentaram capacidade de inativação e/ou inibição seletiva sobre os inóculos bacterianos, sendo que o extrato alcoólico, de planta fresca, apresentou os melhores resultados. Dentre as bactérias, *Staphylococcus aureus* apresentou maior resistência.

1 - Segundo a Farmacopeia Brasileira (1959), os extratos são preparações concentradas obtidas de drogas vegetais ou animais, frescas ou secas, por meio de um dissolvente apropriado, seguido de sua evaporação total ou parcial e ajustagem do concentrado aos padrões previamente estabelecidos. Os extratos fluidos são descritos como aqueles que se apresentam na forma líquida, manipuladas de maneira que cada cm³ contém os princípios ativos solúveis de 1 g da droga respectiva, devidamente dessecada ao ar. Os processos para sua obtenção podem incluir o uso de água fervente (decocto), uma mistura de álcool e água (extrato hidroalcoólico) ou somente álcool (extrato alcoólico).

Em outro estudo, desenvolvido na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, foram avaliados um extrato de romã, um extrato composto de mel, própolis e gengibre, outro composto por mel, própolis e gengibre e romã, além dos extratos de alho (*Allium sativum L.*), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia Mart.*), da folha da goiabeira (*Psidium guajava L.*) e o óleo de copaíba (*Copaifera officinalis L.*), frente a cepas padrão de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Streptococcus mitis* (ATCC 903), *Streptococcus oralis* (ATCC 10557) e *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); e também frente a *Streptococcus oralis* e *Streptococcus mitis* isolados da cavidade oral de cães. Os resultados se mostraram bastante variáveis, onde os extratos de alho, espinheira santa, goiabeira e o óleo de copaíba inibiram o crescimento bacteriano frente às cepas testadas, enquanto que os extratos contendo mel, própolis, gengibre e romã não foram capazes de inibir o crescimento bacteriano (Menezes et. al, 2004).

2.2.1 Plantas no controle e prevenção da mastite

O uso de plantas como desinfetantes naturais para prevenção e controle da mastite vem sendo amplamente pesquisado. Avancini et. al (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana *in vitro* de plantas citadas por uso popular como sendo utilizadas na prevenção e controle da mastite bovina no Sul do Brasil, e verificaram que os extratos vegetais de penicilina (*Alternanthera brasiliiana L.*), mil-em-rama (*Achillea millefolium L.*), carqueja (*Baccharis trimera Less.*) e lanceta (*Solidago chilensis Meyer*) foram ativos contra *S. aureus*, enquanto que os de confrei (*Sympythum officinale L.*), sabugueiro (*Sambucus nigra L.*), menta (*Mentha sp.*), alfavaca (*Ocimum basilicum L.*), angico-vermelho (*Parapiptadenia rígida Benth.*) e sete-sangrias (*Cuphea carthagenensis Jacq.*) foram ativos tanto para *S. aureus* quanto para *Salmonella choleraesuis*.

De acordo com o Regulamento Técnico para Produtos com Ação Antimicrobiana, esses dois micro-organismos são definidos pela ANVISA como

sendo micro-organismos que devem ser obrigatoriamente testados para avaliação da eficácia antimicrobiana de um desinfetante de uso geral (Brasil, 2007).

Pinto et. al (2001) avaliaram a sensibilidade *in vitro* de amostras de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp. coagulase negativos, *Streptococcus agalactiae* e bactérias do grupo dos coliformes, isoladas do leite de vacas com mastite, a diferentes extratos de própolis, na concentração de 100 mg/ml, pela técnica do antibiograma em discos de papel de filtro. Os resultados mostraram que o extrato etanólico de própolis comercial inibiu o crescimento das amostras de bactérias Gram-positivas, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp. coagulase negativos e *Streptococcus agalactiae*. Os extratos obtidos através da água não inibiram nenhuma amostra bacteriana, assim como os veículos etanol e metanol puros utilizados como controle. A bactéria gram-negativa testada, do tipo coliforme, não apresentou sensibilidade a nenhum dos extratos. Nas amostras de *Streptococcus agalactiae*, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento bacteriano ao redor do disco foram maiores que aqueles observados para as amostras de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* sp. coagulase negativos. Verificou ainda que amostras diferentes, de uma mesma espécie bacteriana, diferiram quanto à sensibilidade à própolis.

Andrade (2010) também investigou o potencial antibacteriano de um extrato hidrossolúvel de própolis sobre as cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 e 88 cepas de *S. aureus* isoladas de amostras de leite das vacas experimentais, e verificou que o extrato apresentou ação inibitória sobre as cepas de *S.aureus*, com halos de inibição com média e desvio padrão de 16 + 0,44 mm. Verificou também uma redução da contagem de mesófilos da superfície dos tetos da glândula mamária utilizando própolis no pré e pós *dipping*.

Schuch (2007) utilizou extratos hidroalcoólicos (EHA) e decoctos (DEC) das plantas carqueja (*Baccharis trimera* Less.), picão preto (*Bidens pilosa* L.), eucalipto (*Eucalyptus* sp.), erva-de-bicho (*Polygonum hydropiper* L.) e chichilho (*Tagetes minuta* L.) para avaliar suas atividades antibacterianas frente a micro-organismos causadores de mastite. Utilizou o método da microdiluição serial em placas e a

cinética de inativação e as soluções desinfetantes produzidas foram confrontadas com 25 amostras bacterianas, sendo nove *Staphylococcus* coagulase positiva, sete *Staphylococcus* coagulase negativa, oito *Streptococcus* spp. e uma *Pseudomonas aeruginosa*. O autor concluiu que:

“Todos os extratos avaliados apresentaram ação antibacteriana. O EHA de *Eucalyptus* foi o que apresentou maior atividade inibidora bacteriana no conjunto do experimento. Quanto à inativação, o EHA de *Eucalyptus*, o EHA *B. trimera* e o DEC *T. minuta* apresentaram os melhores resultados, inclusive atuando frente a *P. aeruginosa*, embora em concentração mais alta do que frente às outras bactérias ($p<0,05$). Os três EHA testados quanto a tempo de inativação tiveram bom desempenho frente a bactérias Gram positivas, com eficácia semelhante ao controle clorexidina a 0,18% ($p>0,05$) frente a *S. agalactiae*, com e sem a presença de matéria orgânica e, com exceção do EHA de *B. trimera*, frente a *S. aureus* sem matéria orgânica. Os decoctos tiveram desempenho inferior, apresentando bom desempenho somente frente a *S. agalactiae*. O desinfetante controle foi o mais eficaz quando confrontado com *P. aeruginosa*.

Silva et. al (2009) avaliaram a ação antimicrobiana *in vitro* de óleo essencial de Alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre o crescimento de 20 cepas de *S. aureus* isoladas de secreções do úbere, fossas nasais e do leite. Os resultados mostraram atividades antiestafilocócicas notadas por halos de inibição do crescimento bacteriano (11 a 26 mm). Segundo os autores o óleo essencial também apresentou eficácia na inibição da viabilidade de *S. aureus* em caldo durante vinte e quatro horas de interação, caracterizando efeito bacteriostático.

Bezerra et. al (2009) avaliaram a atividade antimicrobiana do extrato de jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* Willd.), pelo método da difusão em meio sólido, frente a 25 cepas de *S. aureus* isoladas de amostras de leite de vacas com histórico de mastite clínica e subclínica. Observou-se halos de inibição entre 6 e 25 mm de diâmetro. Segundo os autores, o estudo da *M. tenuiflora* Willd. sobre as amostras de *S. aureus* testadas demonstrou que a planta possui ação antimicrobiana.

Sperotto (2010) avaliou a atividade antibacteriana do decocto de *Achyrocline satureioides* Lam., a marcela, frente a 26 isolados bacterianos de leite bovino

mastístico: 14 *S. aureus*, 5 *Streptococcus dysgalactiae*, 1 *Streptococcus uberis*, 3 *Corynebacterium* spp., 1 *E. coli*, 1 *Klebsiella* sp. e 1 *Pseudomonas aeruginosa*. O autor demonstrou bons resultados sobre os efeitos de inibição e inativação do decocto da planta, apesar da leitura dessas atividades ter sido feita com 1 hora e 24 horas de contato da planta com os micro-organismos.

Nader et. al (2010) avaliaram o potencial de atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos de algumas plantas endêmicas do cerrado tais como a vassourinha (*Baccharis dracunculifolia* DC.), algodãozinho do campo (*Cochlospermum regium* Mart.), pé de perdiz (*Croton antisyphiliticus* Mart.), cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) e alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), frente ao agente *Staphylococcus aureus* isolado de leite mastítico, óstio do teto da vaca, equipamento de ordenhadeira, fossas nasais e garganta do ordenhador. Os extratos de *Baccharis dracunculifolia* DC., *Croton antisyphiliticus* Mart., seguido do extrato de *Lippia sidoides* Cham., apresentaram, respectivamente, melhor atividade inibitória sobre a multiplicação da bactéria *Staphylococcus aureus*. Os resultados obtidos demonstraram, ainda, que as estirpes isoladas do leite e das fossas nasais do ordenhador foram resistentes à gentamicina, princípio ativo muito utilizado no combate à mastite bovina, porém sensíveis aos extratos das plantas referidas, reforçando, segundo os autores, a importância das plantas medicinais como recurso terapêutico e sua aplicabilidade.

Schiavon (2011) avaliou a aplicação de um antisséptico obtido de extrato alcoólico de folhas de chinchilho (*Tagetes minuta* L.) e macerado de sementes de linhaça (*Linum usitatissimum* L.), ambos à 10%, na desinfecção de tetos pós-ordenha. Para efeito de comparação, também utilizou iodo comercial, só que nos quartos do lado direito. A autora não encontrou resultados estaticamente diferentes para os dois tratamentos ao avaliar a prevalência semanal de mastite subclínica pelo CMT e a incidência de novas infecções intramamárias.

2.3 *Schinus terebinthifolius* Raddi

2.3.1 Características gerais

Schinus terenbithifolius Raddi é uma planta pertencente à família Anacardiaceae conhecida popularmente como aroeira, aroeira-branca, aroeira-do-campo, aroeira-da-praia, aroeira-do-brejo, aroeira-mansa, aroeira-pimenteira, aroeira-vermelha, aroeira-precoce, bálsamo, cabuí, cambuí, coração-de-bugre, corneíba, fruto-de-raposa e fruto-de-sabiá (Lorenzi & Matos, 2008).

É uma árvore mediana com 5 a 10 metros de altura, perenifólia, de copa larga e tronco revestido de casca grossa. Os frutos são globóides, com cerca de 5 cm de diâmetro, aromáticos e adocicados, brilhantes e de coloração vermelha quando maduros (Figura 1). Ocorre ao longo da mata atlântica desde o Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul, podendo ser cultivada a partir de sementes ou por estacaia (Lorenzi & Matos, 2008). A Aroeira é, portanto, uma planta comum e fácil de ser encontrada e cultivada no Brasil. Além disso, por ser uma árvore de porte médio, o acesso a seus frutos, folhas e casca é facilitado.

Sua análise fitoquímica revela a presença de alto teor de tanino, biflavonóides e ácidos triterpênicos nas cascas e de até 5% de óleo essencial formado por mono e sequiterpenos nos frutos e nas folhas (Lorenzi & Matos, 2008).

Em todas as partes da planta foi identificada a presença de pequenas quantidades de alquil-fenóis, substâncias causadoras de dermatite alérgica em pessoas sensíveis (Lorenzi & Matos, 2008). Veiga Jr. et. al (2005) também relatam a Aroeira como causadora de dermatite alérgica.



Figura 1. Exemplar de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) localizada no município de Capão do Leão, Pelotas/RS. Fonte: Arquivo pessoal.

A Aroeira fornece madeira para murões, lenha e carvão, e é amplamente utilizada na arborização de ruas e praças (Lorenzi & Matos, 2008). Pertence ao grupo ecológico das plantas consideradas pioneiras (Carvalho et. al, 2006). Segundo o Centro Nacional de Referência em Biomassa (CENBIO), localizado em São Paulo, as plantas pioneiras têm crescimento rápido se desenvolvem muito bem a céu aberto. Por essas características elas formam uma camada de sombra que serve como proteção ao crescimento das plantas secundárias, sendo assim muito utilizadas nas atividades de reflorestamentos. Na floresta tropical apresentam-se em pequenas quantidades de espécies, mas em alto número de indivíduos.

Atualmente, a espécie vem se destacando cada vez mais pelo consumo de seus frutos (pimenta-rosa), cuja demanda tem aumentado muito, tanto no mercado nacional como no internacional, que os utiliza como condimento. O fruto apresenta um sabor suave e levemente apimentado, sendo empregado em várias preparações, na forma de grãos inteiros ou moído (Lenzi & Orth, 2004; Gomes et. al, 2004).

Em um estudo realizado no povoado Saúde, localizado às margens do Rio São Francisco, em 2004, a atividade extrativista da Aroeira propicia uma alternativa de renda às famílias dos coletores. A coleta é realizada de forma manual e, posteriormente, os frutos são levados para beneficiamento sendo entregues para um atacadista local a R\$1,00/kg. A procura pelo fruto no povoado vem ocorrendo há vários anos por compradores procedentes do estado do Espírito Santo, para o preparo do condimento pimenta-rosa (Gomes et. al, 2004).

2.3.2 Usos na medicina popular

As investigações etnofarmacológicas e etnobotânicas têm sido a principal abordagem reconhecida por cientistas de todo o mundo como uma estratégia de seleção de plantas medicinais. Nos últimos anos, no Brasil, várias pesquisas foram realizadas com contribuições relevantes sobre o assunto, não só quanto a aspectos fitoquímicos, mas também quanto à atividade biológica de plantas que ocorrem nos diferentes ecossistemas brasileiros (Albuquerque & Hanazaki, 2006).

Levantamentos sobre o uso popular da Aroeira vêm sendo realizados e demonstram sua utilização em vários estados do Brasil, inclusive no Distrito Federal. Em um estudo realizado por Pereira (2008) com 180 pacientes do Programa de Geriatria do Hospital Universitário de Brasília, foi constatado que 83,9% dos entrevistados afirmaram utilizar alguma planta medicinal e, dentre elas, as folhas maceradas da Aroeira foram citadas como protetor estomacal e contra problemas intestinais.

Levantamentos realizados nas diversas regiões do Brasil verificaram o uso da casca da Aroeira como cicatrizante de feridas em forma de banho, para tratamento da gripe com febre, feridas, bronquite e inflamações do útero, contra dor de dente, contra inflamações e úlceras, na forma de cozimento e contra ferimentos, hematomas e contusões, na forma de infusão ou pó macerado (Moreira et. al, 2002; Boscolo & Valle, 2008; Mazza et. al, 2000; Guerra et. al, 2010). O uso dos frutos também é citado no tratamento da gripe com febre, feridas, bronquite e inflamações do útero (Boscolo & Valle, 2008). Já a entrecasca da Aroeira é relatada como sendo utilizada contra úlceras e gastrite (Silva et. al, 2006).

Santos et. al (2009) , após levantamento etnográfico em João Pessoa, na Paraíba, com 20 raizeiros e 200 usuários, relatou que a Aroeira está entre as plantas de uso odontológico mais vendidas pelos raizeiros da região e seu uso foi indicado essencialmente como anti-inflamatório em forma de infusão via oral.

Segundo Lorenzi & Matos (2008), a literatura etnobotânica cita o uso das cascas, com base na tradição popular, na forma de cozimento (decocto), principalmente pelas mulheres, em forma de banhos de assento após o parto, como anti-inflamatório e cicatrizante, ou como medicação caseira para o tratamento de doenças do trato urinário ou respiratório, bem como nos casos de hemoptise e hemorragia uterina. As folhas e frutos, em geral, são utilizados para lavagem de feridas e úlceras.

O uso popular da Aroeira já se encontra tão difundido que o Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil lista a planta - *Schinus terenbithifolius* - em sua Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS, o RENISUS (Brasil, 2009). Essa relação é constituída de espécies vegetais com potencial de avançar nas etapas da cadeia produtiva e de gerar produtos de interesse ao SUS.

Suas principais utilizações estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Utilizações da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) relatadas pelo uso popular.

Parte da planta	Usos populares
Casca	Cicatrizante de feridas na forma de cozimento; Contra dor de dente, como anti-inflamatório oral em forma de infusão; Contra inflamações e úlceras na forma de cozimento; Contra ferimentos, hematomas e contusões na forma de infusão ou pó macerado; e Tratamento de doenças do trato urinário ou respiratório e nos casos de hemoptise e hemorragia uterina, na forma de cozimento.
Casca e frutos	Tratamento da gripe com febre, feridas, bronquite e inflamações do útero.
Entrecasca	Contra úlceras e gastrite.
Folhas	Protetor estomacal e contra problemas intestinais, na forma macerada.
Folhas e frutos	Lavagem de feridas e úlceras.

O amplo emprego dessa planta na medicina popular é motivo suficiente para sua escolha como tema de estudos farmacológicos e clínicos, visando sua validação como medicamento eficaz e seguro. Porém, o uso das preparações de Aroeira deve ser revestido de cautela devido à possibilidade do surgimento de fenômenos alérgicos na pele e nas mucosas de pessoas sensíveis (Lorenzi & Matos, 2008; Veiga Jr et. al, 2005).

2.3.3 Propriedades

A indústria farmacêutica vem, cada vez mais, pesquisando e desenvolvendo medicamentos a partir de substâncias extraídas desta espécie. Segundo Gomes et.al (2004), recentemente, um laboratório pernambucano lançou no mercado nacional um anti-inflamatório e cicatrizante natural para uso ginecológico, que tem como princípio ativo o tanino, substância extraída da casca da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi). O medicamento se chama Kronel® e é produzido pela indústria farmacêutica Hebron®.

Um dos estudos que relatam a eficácia e a segurança de um gel vaginal constituído por extrato hidroalcoólico de Aroeira foi realizado por Amorim & Santos (2003) a partir de um ensaio clínico randomizado incluindo 48 mulheres com diagnóstico de vaginose bacteriana, atendidas no Centro de Atenção à Mulher (CAM) do Instituto Materno-Infantil de Pernambuco, no período de junho de 2000 a junho de 2001.

Outra utilização bastante interessante pesquisada por Santos et. al (2010) trouxe a Aroeira como uma potencial fonte alternativa para reduzir o uso de agrotóxicos no controle de doenças e pragas que afetam a produção agrícola. O óleo essencial de *S. terebinthifolius* Raddi apresentou efeito fungicida *in vitro* mais pronunciado contra *Botrytis* spp., um dos fitopatógenos isolados no experimento.

Em dois estudos envolvendo testes em cobaias, realizados no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Fisiologia e Farmacologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, a Aroeira apresentou resultados variáveis em relação ao seu efeito cicatrizante.

No estudo realizado com 60 ratos, o qual avaliou a cicatrização de feridas abertas na região dorso-costal desses animais por meio de um extrato hidroalcoólico da entrecasca da planta, foi relatado um retardo na reepitelização das feridas em relação ao grupo controle, que recebeu aplicação de solução salina a 0,9% (Branco-Neto et. al, 2006). Por outro lado, no estudo realizado com 40 ratos, o uso de extrato hidroalcoólico da entrecasca mostrou efeito cicatrizante favorável nas cistotomias realizadas para o experimento. O grupo controle também recebeu solução salina a 0,9% (Lucena et. al, 2006). Isso demonstra a necessidade da realização de mais estudos in vivo para determinar e comprovar a utilização real, eficaz e segura dos extratos da Aroeira.

Lipinski (2008) avaliou o efeito cicatrizante da Aroeira em feridas na pele de bovinos e relatou que a planta apresentou efeito benéfico na cicatrização de feridas por segunda intenção. O autor também relatou a atividade antimicrobiana de extratos hidroalcoólico e alcoólico da casca de Aroeira sobre a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, pelo método da difusão em disco de papel.

Em um estudo realizado por Guerra et. al (2000), o extrato fluido (etanol a 80%) de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi apresentou atividade antimicrobiana em diferentes concentrações frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e à levadura *Candida albicans* mediante avaliação pelo método de difusão em ágar por perfuração.

Degáspari et. al (2005) avaliaram a atividade antimicrobiana de extratos aquoso e alcoólico obtidos de frutos maduros de *Schinus terebinthifolius* Raddi pelo método de difusão em disco de papel. O estudo demonstrou que o extrato alcoólico apresentou efeito inibitório sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, porém, o extrato aquoso não apresentou efeito inibitório sobre o crescimento dos micro-organismos testados. O autor também avaliou *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, porém esta não foi inibida por nenhum dos extratos.

Santos (2007) também avaliou a atividade antimicrobiana de extrato hidroalcoólico da casca da Aroeira, onde se verificou inibição no crescimento de *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* a partir do método de difusão em ágar por perfuração.

Uma aplicação de óleo essencial de Aroeira bastante interessante foi verificada em um estudo recente sobre o desempenho e a morfometria intestinal de pintos de 1 dia que receberam o óleo a diversas concentrações em sua dieta, demonstrando que sua utilização resultou em maior ganho de peso e peso final e maior altura de vilosidades no jejuno das aves quando comparadas com as aves que não receberam nenhum tipo de tratamento. O óleo de Aroeira melhorou, portanto, os índices de produção além de aumentar a superfície intestinal absorptiva (Silva et. al, 2010).

O uso de plantas medicinais como prevenção de eventuais problemas odontológicos foi avaliado por Soares et. al (2006) em um estudo sobre a atividade antimicrobiana de diversas tinturas, inclusive a de Aroeira, demonstrando susceptibilidade variada das bactérias testadas, sendo *Staphylococcus aureus* o micro-organismo mais sensível. Foi utilizado o método da difusão em ágar por perfuração e, dentre as tinturas, o Jucá, a Aroeira e a Própolis apresentaram uma significativa atividade antibacteriana sobre *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *L.casei*.

Outro estudo de cunho odontológico realizado pelos mesmos autores apresentou resultados favoráveis da tintura da casca de Aroeira a 20%, pelo método de difusão em ágar por perfuração, sobre *Staphylococcus mutans* contaminantes de escovas dentais. A tintura revelou atividade antibacteriana *in vitro* e foi eficaz na redução de contaminação das escovas por este micro-organismo (Soares et. al, 2007).

2.3.4 Considerações

As pesquisas com relação ao poder antimicrobiano da Aroeira têm avançado, entretanto, sua validade científica é questionável. Segundo Coutinho & Braga (2009), estudos que lidam com efeitos de pequena magnitude, ainda que relevantes, não costumam ter poder estatístico para detectar tais efeitos, pois necessitam de amostras muito grandes.

Em suma, pode-se notar que os diversos estudos realizados sobre a atividade antimicrobiana da Aroeira foram conduzidos em circunstâncias distintas. A maioria utilizou o método da difusão por meio da perfuração em ágar (Guerra et. al, 2000; Santos, 2007; Soares et. al, 2006; Soares et. al, 2007), outros da difusão em ágar por discos de papel (Lipinski, 2008; Degáspari et. al, 2005). Alguns avaliaram sua ação antimicrobiana frente a *S. aureus* (Lipinski, 2008; Guerra et. al, 2000; Degáspari et. al, 2005; Santos, 2007; Soares et.al, 2006;), *Pseudomonas aeruginosa* (Lipinski, 2008; Guerra et. al, 2000; Degáspari et. al; 2005; Santos, 2007), *E. coli* (Lipinski, 2008; Guerra et. al, 2000; Santos, 2007), outros frente a bactérias como *Bacillus cereus* (Degáspari et. al, 2005) e *S. mutans* (Soares et. al, 2006; Soares et. al, 2007) e ainda frente a fungos como *Candida albicans* (Guerra et. al, 2000).

Com relação às pesquisas desenvolvidas frente a bactérias relacionadas à mastite bovina, relacionam-se apenas cinco estudos (Tabela 3).

Tabela 3. Relação de estudos sobre a ação antibacteriana de *Schinus terebinthifolius* Raddi frente a bactérias relacionadas à mastite bovina.

Estudo	Parte da planta	Extratos	Métodos	Bactérias
Guerra et. al (2000)	Folhas	Alcoólico	Difusão por perfuração em ágar	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i>
Degáspari et. al (2005)	Frutos	Aquoso (decocito) e alcoólico	Difusão em ágar por disco de papel	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Bacillus cereus</i>
Soares et. al (2006)	-	Alcoólico	Difusão por perfuração em ágar	<i>S. aureus</i>
Santos (2007)	Casca	Hidroalcoólico	Difusão por perfuração em ágar	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i>
Lipinski (2008)	Casca	Aquoso (decocito), alcoólico e hidroalcoólico	Difusão em ágar por disco de papel	<i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>E. coli</i>

Estudos sobre a atividade antimicrobiana de extratos de Aroeira frente a *Corynebacterium* spp., *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase negativa, *Klebsiella* spp. e *Proteus* spp., bactérias consideradas causadoras de mastite (Moreira et. al, 1997; Brito et.al, 1999; Philpot & Nickerson, 2000; Rebhun, 2000; Quinn et. al, 2005; Ladeira, 2007; Radostits et. al, 2007; Ribeiro et. al, 2009; e Oliveira et. al, 2011), não foram encontrados.

A variabilidade das partes da Aroeira avaliadas como antimicrobiano também é grande, assim como o tipo de extrato utilizado. A casca foi pesquisada por Lipinski (2008), Santos (2007) e Soares et. al (2007); as folhas, por Guerra et. al (2000); e os frutos por Degáspari et. al (2005) e Silva et. al (2010).

A natureza do solvente e dos processos de extração e secagem afeta criticamente a composição interna do produto final. Compostos polares são solúveis em água, enquanto que constituintes lipofílicos são solúveis em álcool. Mesmo

quando solventes idênticos são usados a própria técnica de extração pode resultar em produtos com ações farmacológicas diferentes (Schulz et. al, 2002).

Os extratos mais pesquisados foram: decocto (Lipinski, 2008; Degáspari et. al, 2005), extrato alcoólico (Lipinski, 2008; Guerra et. al, 2000; Degáspari et. al, 2005) e extrato hidroalcoólico (Lipinski, 2008; Santos, 2007). O óleo essencial foi pesquisado por Souza et. al (2009) e Silva et. al (2010). A tintura foi avaliada por Soares et. al (2006) e Soares et. al (2007).

Schulz et. al (2002) explicam que além de seus ingredientes ativos principais, que determinam o tipo de ação produzida, os fitomedicamentos contêm componentes secundários que podem modificar o efeito dos ingredientes principais, por exemplo, influenciando sua estabilidade ou biodisponibilidade. As drogas vegetais também contêm impurezas destituídas de atividade farmacológica ou que podem, até mesmo, produzir efeitos indesejáveis. Isto explica porque fitomedicamentos com diferentes tipos de ação podem ser feitos a partir de uma mesma planta, dependendo da qualidade da droga vegetal, da parte da planta que é usada, do solvente utilizado e do processo de extração.

Os constituintes químicos das plantas medicinais também podem variar em razão de fatores genéticos, clima, qualidade do solo e outros fatores externos como poluição. Sendo assim, é importante saber qual local de origem da planta utilizada para o experimento e em que condições ambientais ela se encontrava. Lipinski, 2008 utilizou uma Aroeira localizada no município de Fazenda Rio Grande, no Paraná; Guerra et. al (2000), de Havana, em Cuba; Santos (2007) utilizou um exemplar da região da Mata Atlântica da Paraíba; e Degáspari et. al (2005), de Curitiba, no Paraná. Soares et. al (2006), Soares et. al (2007) e Silva et. al (2010) não citam o local de origem da planta utilizada no estudo.

Apesar de tudo, resultados inconsistentes entre diversos estudos, quando analisados de forma sistemática, podem fornecer pistas para compreender, por exemplo, a identificação de grupos populacionais nos quais o tratamento é mais eficaz (Coutinho & Braga, 2009).

Isso demonstra a necessidade da realização de estudos padronizados para se chegar a resultados mais concretos e mais favoráveis a fim de se evoluir para os testes *in vivo* e os testes de toxicidade requeridos pela ANVISA para regulamentação de produtos com propriedades antimicrobianas (Brasil, 2007).

Um teste de toxicidade envolvendo a planta foi conduzido por Paulo et. al (2009), a partir de ensaios clínicos toxicológicos realizados em pacientes humanos tratados com um fitoterápico composto por *Schinus terenbithifolius* Raddi, *Plectranthus amboinicus* Lour e *Eucalyptus globulus* Labill, revelando a baixa toxicidade do produto. O estudo foi realizado no Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, com 28 voluntários sadios que ingeriram, ininterruptamente, durante 8 semanas, 15 ml do produto, três vezes ao dia. Os pacientes não apresentaram alterações clínicas, laboratoriais e reações adversas significantes, apenas pequenas alterações foram detectadas no sangue através da aspartato transaminase (AST) e fosfatase alcalina. No entanto, estes valores permaneceram dentro da normalidade para indivíduos adultos (Paulo et. al, 2009).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) desinfetante é um produto que mata todos os micro-organismos patogênicos, mas não necessariamente todas as formas microbianas esporuladas em objetos e superfícies inanimadas. Já o sanitizante é um produto que reduz o número de bactérias a níveis seguros de acordo com as normas de saúde.

Após a análise das pesquisas com a Aroeira, seus extratos, às concentrações testadas, poderiam ser classificados como produtos sanitizantes, baseados na regulamentação da ANVISA, uma vez que os dois métodos mais testados (difusão por disco de papel e por perfuração em ágar) só permitem avaliar a presença ou não do efeito inibitório do extrato frente à bactéria testada (Ostrosky et. al, 2008).

Ainda de acordo com a RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007, o sufixo “cida” indica que a ação antimicrobiana é a morte dos micro-organismos a que se referem, e o sufixo “stático” ou o prefixo “anti” indicam que a ação antimicrobiana limita-se a

inibição do crescimento (multiplicação) do micro-organismo sem chegar necessariamente a produzir-se a morte do mesmo. Os extratos da Aroeira avaliados neste trabalho seriam então considerados bacteriostáticos ou antimicrobianos.

Sobre o registro e autorização de produtos com ação antimicrobiana, a RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007 preconiza que:

“Os produtos com ação antimicrobiana somente serão registrados e autorizados para seu uso mediante a comprovação de sua eficácia para os fins propostos, através de análises prévias realizadas com o produto final nas diluições e condições de uso indicadas.”

Alguns dos requisitos para registro de produtos com ação antimicrobiana incluem, entre outros, a fórmula completa indicando os princípios ativos e demais componentes relacionados pelos nomes técnicos ou químicos, prazo de validade proposto para o produto avaliado por dados de estabilidade, instruções de uso, características físico-químicas do produto e condições de armazenamento (Brasil, 2007).

Todos esses requisitos revelam a necessidade da realização de mais estudos com os extratos dessa planta. Estudos mais profundos sobre seus princípios ativos, análises de durabilidade de extratos e da manutenção de sua atividade antimicrobiana ao passar do tempo, estudos sobre as melhores formas de uso e as melhores condições de armazenamento.

Além disso, há também a necessidade da realização de diversos testes de toxicidade e sensibilidade (toxicidade aguda por via oral para ratos; toxicidade aguda por via dérmica para ratos; toxicidade aguda por via inalatória para ratos; teste de irritação dérmica e ocular; teste de sensibilidade dérmica em cobaias; teste para verificação de mutagenicidade in vitro e in vivo; teste para avaliação do metabolismo e excreção, em ratos; teste para verificação de efeitos teratogênicos em ratos e coelhos; teste para verificação de efeitos carcinogênicos em duas espécies sendo uma de preferência não roedora; teste para verificação de efeitos nocivos ao processo reprodutivo, em ratos, pelo mínimo, em duas gerações; teste de toxicidade

com doses repetidas diárias por via oral, dérmica e inalatória, em camundongos, coelhos e ratos; e teste de toxicidade subcrônica por via oral, dérmica e inalatória em camundongos, coelhos e ratos) (Brasil, 2007).

Tudo isso demonstra que ainda há muito a ser pesquisado e que o estudo das propriedades das plantas ainda tem muito a evoluir e, num país como um Brasil, uma oportunidade enorme para o desenvolvimento de pesquisas e, consequentemente, conhecimento técnico-científico.

Marinho et. al (2007) ainda destaca que o conhecimento sobre as vantagens do uso de fitoterápicos encontra-se em torno das principais características: natural, eficaz, saudável e de baixo custo. A utilização das plantas medicinais para o controle de doenças constitui um vasto campo de pesquisas que podem fornecer importantes subsídios geradores de mudança, reaproximação do homem com a natureza e a valorização e recuperação do saber popular.

3. CONCLUSÃO

A mastite bovina continua sendo um fator limitante da produção leiteira, mesmo no atual panorama da pecuária nacional, moderna e tecnificada. A pesquisa de novos agentes antimicrobianos se faz necessária não só devido ao surgimento de micro-organismos resistentes, mas também devido à necessidade de se validar cientificamente plantas já utilizadas na medicina popular, além de orientar sobre os riscos que elas podem causar à saúde. Outro aspecto importante a ser considerado é que antimicrobianos naturais auxiliam também na diminuição dos custos em contrapartida ao uso de antimicrobianos tradicionais.

Foi possível verificar que as pesquisas encontradas sobre a atividade antimicrobiana da Aroeira foram conduzidas em circunstâncias muito distintas. Utilizaram-se métodos, bactérias, partes das plantas e extratos totalmente diferentes. Isso demonstra a necessidade da realização de estudos padronizados para se chegar a resultados mais concretos quanto ao potencial antimicrobiano da planta e seu poder de uso na prevenção da mastite bovina.

Sendo assim, o estudo das propriedades das plantas ainda tem muito a evoluir para que possam contribuir, cada vez mais, no desenvolvimento do campo da saúde em nível mundial, encontrando substâncias mais eficazes e menos tóxicas na corrida contra a resistência e o surgimento de novos micro-organismos patogênicos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; HANAZAKI, N.. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. Revista Brasileira de Farmacognosia. Brazilian Journal of Pharmacognosy 16(Supl.): 678-689, Dez. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v16s0/a15v16s0.pdf>> Acesso em: 07 jun 2011.
- AMARAL, L. A; ROMANO, A. P. M.; NADER-FILHO, A.; ROSSI JR, O. D.. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesq. Vet. Bras.** 24(4):173- 177, out./dez. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v24n4/a01v24n4.pdf>> Acesso em: 12 jun 2011.
- AMORIM, M. M. R. & SANTOS, L. C. Tratamento da Vaginose Bacteriana com Gel Vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Ensaio Clínico Randomizado. **RBGO** - v. 25, nº 2, 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v25n2/v25n2a04.pdf>> Acesso em: 14 mar 2011.
- ANDRADE, U. V. C. **Potencial antibacteriano do extrato hidrossolúvel de própolis obtido por hidrólise alcalina para a inibição de cultivos de *Staphylococcus aureus* e higienização de pré e pós - imersão de tetos de vacas leiteiras.** Tese de doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1884/24310>> Acesso em: 30 jun 2011.
- AVANCINI, C.; Wiest, J. M.; DALL'AGNOL, R.; HAAS, J. S.; POSER, G. L. V. Antimicrobial Activity of Plants Used in the Prevention and Control of Bovine Mastitis in Southern Brazil. **Lat. Am. J. Pharm.** 27 (6): 894-9 (2008). Disponível em: <http://www.latamjpharm.org/trabajos/27/6/LAJOP_27_6_1_14_9SE099LH3C.pdf> Acesso em: 16 jun 2011.
- BEZERRA, D. A. C.; PEREIRA, A. V.; LÔBO, K. M. S.; RODRIGUES, O. G.; ATHAYDE, A. C. R.; MOTA, R. A.; MEDEIROS, E. S.; RODRIGUES, S. C. Atividade biológica da jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Wild) Poir.) sobre *Staphylococcus aureus* isolado de casos de mastite bovina. **Rev. Bras.**

Farmacogn.19(4): Out./Dez. 2009. Disponível em:
<http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v19n4/02.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

BOSCOLO, O. H. & VALLE, L. S. Plantas de uso medicinal em Quissamã, Rio de Janeiro, Brasil. **IHERINGIA, Sér. Bot.**, Porto Alegre, v. 63, n. 2, p. 263-277, jul./dez. 2008. Disponível em: <<http://www.fzb.rs.gov.br/publicacoes/iheringia-botanica/Ih63-2-p263-278.pdf>> Acesso em: 10 maio 2011.

BRANCO-NETO, M. L. C.; RIBAS-FILHO, J. M.; MALAFAIA, O.; OLIVEIRA-FILHO, M. A.; CZECZKO, N. G.; AOKI, S.; CUNHA, R., FONSECA, V.R.; TEIXEIRA, H. M.; AGUIAR, L. R. F. Avaliação do extrato hidroalcoólico de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) no processo de cicatrização de feridas em pele de ratos. **Acta Cir Bras.**, 2006; Suppl 2:17-22. Disponível em:
http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-86502006000900008&script=sci_arttext Acesso em: 01 maio 2011.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e do Abastecimento. Decreto nº 6.323, de 27 de Dezembro de 2007. Regulamenta a Lei nº 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, e dá outras providências. **Diário Oficial da União** de 27 de Dezembro de 2007, Seção 1, página 2, Brasília, DF. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2007-2010/2007/Decreto/D6323.htm Acesso em: 15 jun 2011.

_____, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 64, de 18 de dezembro de 2008. Aprova o Regulamento Técnico para os Sistemas Orgânicos de Produção Animal e Vegetal. **Diário Oficial da União** de 19 de Dezembro de 2008, Seção 1, Página 21, Brasília, DF. Disponível em: <http://www.agriculturaorganicaamericas.net/Documentos%20Oficiales%20CIAO/Instrucao%20Normativa%20N%C2%BA064.pdf> Acesso em: 16 jun 2011.

_____, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... **Diário Oficial da União**, Brasília, p.13, 21 set. 2002. Seção 1. Disponível em: <> Acesso em: 30 jun 2011.

_____, Ministério da Saúde. **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS.** Departamento de Assistência Farmacêutica, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Brasília – DF, fev. 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS_2010.pdf> Acesso em: 14 mar 2011.

_____, Ministério da Saúde. Portaria Nº 971/GM, de 3 de maio de 2006. Aprova a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no SUS. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 4 mai. 2006. Seção 1, p 20. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portariafito.pdf>> Acesso em: 07 jun 2011.

_____, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 14**, de 28 de fevereiro de 2007, Regulamento Técnico Para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana. Disponível em <http://www.saude.mg.gov.br/atos_normativos/legislacao-sanitaria/estabelecimentos-de-saude/produtos-para-a-saude/>. Acesso em: 15 jun 2011.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; VEIGA, V. M. O. Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.51, n.2, p.129-135, 1999. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09351999000200001> Acesso em: 13 jun 2011.

CARVALHO, L. R.; SILVA, E. A. A.; DAVID, A. C. Classificação de sementes florestais quanto ao comportamento no armazenamento. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 28, nº 2, p.15-25, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v28n2/a03v28n2.pdf>> Acesso em: 01 maio 2011.

CARVALHO, H. H. C.; CRUZ, F .T.; WIEST, J. M. Atividade antibacteriana em plantas com indicativo etnográfico condimentar em Porto Alegre, RS/Brasil. **REV. BRAS. PL. MED.**, Botucatu, v.7, n.3, p.25-32, 2005. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v7_n3_2005/artigo4_v7_n3.pdf> Acesso em: 12 jun 2011.

- CENBIO - Centro Nacional de Referência em Biomassa. **Banco de Biomassa: Plantas Pioneiras.** Disponível em: <<http://cenbio.iee.usp.br/saibamais/bancobiomassa/vegetaislenhosos/reforestamento/plantaspioneerias.htm>> Acesso em: 29 jun 2011.
- COUTINHO, E. S. F & BRAGA, J. U. Revisão Sistemática e Metanálise. Cap. 16, p289-299. In: MEDRONHO, R. A.; BLOCH, K. V.; LUIZ, R. R.; WERNEK, G. L. **Epidemiologia.** 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2009.
- CRUZ, C. E. F.; RAYMUNDO, D. L.; CERVA, C.; PAVARINI, S. P., DALTO, A. G. C.; CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D. Records of performance and sanitary status from a dairy cattle herd in southern Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 31(1):1-9, jan. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-736X2011000100001&script=sci_arttext> Acesso em: 30 jun 2011.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebenthifolius* Raddi. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v.29, n.3, p. 617-622, maio/jun., 2005. Disponível em: <http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/revista/29-3-2005_16.pdf> Acesso em: 01 maio 2011.
- DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasílica**, v.1, n.1, p.23-27, 2007. Disponível em: <<http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/download/255/95>> Acesso em: 14 jun 2011.
- FAGAN, E. P.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MÜLLER, E. E.; NERO, L. A.; SANTANA, E. H. W.; MAGNANI, D. F.; VACARELLI, E. R.; SILVA, L. C.; PEREIRA, M. S. Evaluation and implementation of good practices in main points of microbiological contamination in milk production. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 83-92, jan./mar. 2005. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_26_1_19_11.pdf> Acesso em: 29 jun 2011.
- FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959.

- FERNANDES, M.C.; RIBEIRO, M.G.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; LARA, G. H. B.; LISTONI, F. J. P. Surto de mastite bovina causada por linhagens de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes aos antimicrobianos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.61, n.3, p.745-748, 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352009000300031> Acesso em: 30 jun 2011.
- GOMES, M. D. G.; GÓIS, S. N.; SILVA, C. M.; GOMES, L. J. **Extrativismo e comercialização da aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na região do Baixo São Francisco.** 2004. Disponível em: <<http://www.sober.org.br/palestra/2/602.pdf>> Acesso em: 17 maio 2011.
- GUERRA, A. M. N. M.; PESSOA, M. F.; SOUZA, C. S. M.; MARACAJÁ, P. B. Utilização de plantas medicinais pela comunidade rural Moacir Lucena, Apodi – RN. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 3, p. 442-450, May/June 2010. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/7091/4859>> Acesso em: 10 maio 2011.
- GUERRA, M^a. J. M.; BARREIRO, M. L.; RODRIGUEZ, Z. M.; RUBALCADA, Y. Actividad antimicrobiana de un extracto fluido al 80% de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Inst. Superior de Ciencias Médicas de La Habana. **Revista Cubana Plant. Med.**, v.5, n.1, p. 5-23, 2000. Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962000000100006> Acesso em: 14 mar 2011.
- HOLANDA-JÚNIOR, E. V.; MIRANDA, W. M.; MADALENA, F. E.; HOLANDA, E. D.; SOUZA, M. R. **Impacto econômico da mastite em seis fazendas de Araxá, Minas Gerais.** 1998. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA/24754/1/OPB978.pdf>> Acesso em: 30 jun 2011.
- LADEIRA, S. L. R. **Mastite bovina.** In: Riet-Correa, F.; Schild, A. L.; Lemos, R. A. A.; Borges, J. R. J. Doenças de ruminantes e equídeos. 3 ed. Santa Maria: Pallotti, 2007. v.1, p. 359-372.

LARANJA, L. F.; MACHADO, P. F. Avaliação da efetividade de um programa de controle de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B do Estado de São Paulo. **Sci. Agric.**, Piracicaba, 51(2):569:577, set./dez. 1994. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v51n3/31.pdf>> Acesso em: 12 jun 2011.

LENZI, M. & ORTH, A. I. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da Aroeira Vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 2, p. 198-201, Agosto 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v26n2/21805.pdf>> Acesso em: 14 mar 2011.

LIPINSKI, L. C. **Comparação da atividade cicatrizante na pele bovina entre fitoterápicos de uso tópico**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/1884/24103>> Acesso em: 10 maio 2011.

LORENZI, H. & MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. Ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. 560 p.

LUCENA, P. L. H.; RIBAS-FILHO, J. M.; NASCIMENTO, M. M.; CZECZKO, N. G.; DIETZ, U. A.; CORREA-NETO, M. A.; HENRIQUES, G. S.; SANTOS, O. J.; CESCHIN, A. P.; THIELE, E. S. Avaliação da ação da Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi) na cicatrização de feridas cirúrgicas em bexiga de ratos. **Acta Cir Bras.**, vol. 21, 2006; Suppl 2: 46-51. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/acb/v21s2/32162.pdf>> Acesso em: 14 mar 2011.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RODRIGUES, M. L. C.; ROTONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAYDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.3, p.64-69, 2007. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v9_n3_2007/artigo9_v9_n3.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

MARTINS, R. P.; SILVA, J. A. G.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; ALMEIDA-FILHO, E. S. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ci. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 1, p. 181-187, jan./mar. 2010. Disponível em:

<<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/viewArticle/5085>> Acesso em: 30 jun 2011.

MAZZA, M. C. M.; RODIGHERI, H. R.; NAKASHIMA, T.; ZILLER, S. R.; MAZZA, C. A. S.; CONTO, A. J.; SOARES, A. O.; BAGGIO, A. J. Potencial de aproveitamento medicinal de espécies do sub-bosque dos bracatingais da região de Curitiba, PR. Colombo: **Embrapa Florestas**, 2000. 27p. (Embrapa Florestas. Documentos, 43). Disponível em: <<http://www.cnpf.embrapa.br/publica/seriedoc/edicoes/doc43.pdf>> Acesso em: 10 maio 2011.

McDONNELL, G. & RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clinic. Microbiol. Reviews**, Wahington, v. 12, p. 147-179. 1999. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC88911/>> Acesso em: 13 jun 2011.

MEDEIROS, E. S.; SANTOS, M. V.; PINHEIRO-JR, J. W.; FARIA, E. B.; WANDERLEY, G. G.; TELES, J. A. A.; MOTA, R. A. Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesq. Vet. Bras.** 29(1):71-75, janeiro 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n1/a11v29n1.pdf>> Acesso em: 11 jun 2011.

MENEZES, M. C.; SOUZA, M. M. S.; BOTELHO, R. P. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos de plantas brasileiras sobre bactérias isoladas da cavidade de cães. **Rev. Univ. Rural**, Sér. Ci. Vida. Seropédica, RJ, EDUR, v. 24, n.2, Jul.-Dez., p.141-144, 2004. Disponível em: <<http://www.editora.ufrj.br/rcv2/vida24-2/19.pdf>> Acesso em: 16 jun 2011.

MOREIRA, P. C.; SILVA, L. A. F.; MESQUITA, A. J. Etiologia da mastite clínica bovina na bacia leiteira de Goiânia. **Anais Esc. Agron. e Vet.** 27(2):69-74, 1997. Disponível em: <<http://www.revistas.ufg.br/index.php/pat/article/viewFile/2971/3017>> Acesso em: 12 jun 2011.

MOREIRA, R. C. T.; COSTA, L. C. B.; COSTA, R. C. S.; ROCHA, E. A. Abordagem Etnobotânica acerca do Uso de Plantas Medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farm. Bonaerense** 21 (3): 205-11 (2002). Disponível em:

<http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/3/LAJOP_21_3_3_1_L8H8YN8M78.pdf>
Acesso em: 10 maio 2011.

MÜLLER, E. E. Estudo da prevalência de mastite bovina. **Semina:** Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v.1, n.1., p.47-48, abr./jun. 1978. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semexatas/article/viewArticle/5836>> Acesso em: 16 jul 2011.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. **Anais do II Sul- Leite:** Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil – Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002. Toledo – PR, 29 e 30/08/2002. p 206-217. Disponível em: <<http://people.ufpr.br/~freitasjaf/artigos/qualidadeleitem.pdf>> Acesso em: 30 jun 2011.

NADER, T. T.; COPPEDE, J. S.; AMARAL, L. A.; FACCHIN, A. L.; PEREIRA, A. M. S.; FERREIRA, L. M. Avaliação in vitro da eficácia de extratos de plantas medicinais do cerrado frente *Staphylococcus aureus* isolado de diferentes fontes de propriedades leiteiras. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.3, p.429-433, jul./set., 2010. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_3/nader.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Rev. Nutr.**, Campinas, 14(2): 119-124, maio/ago., 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rn/v14n2/7560.pdf>> Acesso em: 14 jun 2011.

NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V., BARROS, M. A. F.; FRANCO, B. D. G. M. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 27(2): 391-393, abr.-jun. 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n2/30.pdf>> Acesso em: 12 jun 2011.

NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V., BARROS, M. A. F.; FRANCO, B. D. G. M, PINTO, J. P. A. N.; ANDRADE, N. J.; SILVA, W. P. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas,

25(1): 191-195, jan.-mar. 2005. Disponível em:
<http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n1/a30v25n1.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

NORO, G.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **R. Bras. Zootec.**, v.35, n.3, p.1129-1135, 2006 (supl.). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbz/v35n3s0/30727.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

OLIVEIRA, C. M. C.; SOUSA, M. G. S.; SILVA, N. S.; MENDONÇA, C. L.; SILVEIRA, J. A. S.; OAIGEN, R. P.; ANDRADE, S. J. T.; BARBOSA, J. D. Prevalência e etiologia da mastite bovina em rebanhos leiteiros na região de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 31(2):104-110, fev. 2011. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v31n2/02.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. Bras. de Farmacogn.** 18(2): 301-307, Abr./Jun. 2008. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-695X2008000200026 Acesso em: 07 jun 2011.

PAULO, P. T. C.; DINIZ, M. F. F. M.; MEDEIROS, I. A.; MORAIS, L. C. S. L., ANDRADE, F. B.; SANTOS, H. B. Ensaios clínicos toxicológicos, fase I, de um fitoterápico composto (*Schinus terebinthifolius* Raddi, *Plectranthus amboinicus* Lour e *Eucalyptus globulus* Labill). **Rev. Bras. Farmacognosia**, 19(1A): Jan./Mar. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbfar/v19n1a/15.pdf> Acesso em: 01 maio 2011.

PEDRINI, S. C. B.; MARGATHO, L. F. F.. Sensibilidade de microrganismos patogênicos isolados de casos de mastite clínica em bovinos frente a diferentes tipos de desinfetantes. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.70, n.4, p.391-395, 2003. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70_4/pedrini.pdf Acesso em: 12 jun 2011.

PEREIRA, I. G. R. **Prevalência do uso de fitoterapia em paciente do Programa de Geriatria do Hospital Universitário de Brasília – HUB.** Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, 2008. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10482/1937>> Acesso em: 10 maio 2011.

PHILPOT, W. N. & NICKERSON, S. C. **Winning the Fight Against Mastitis.** Naperville, IL: Westfalia-Surge, 2000. 188p.

PINTO, M. S.; FARIA, J. E.; MESSAGE, D.; CASSINI, S. T. A.; PEREIRA, C. S.; GIOSO, M. M. Efeito de extratos de própolis verde sobre bactérias patogênicas isoladas do leite de vacas com mastite. **Braz. J. vet. Res. anim. Sci.** São Paulo, v. 38, n. 6, p. 278-283, 2001. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v38n6/9662.pdf>> Acesso em: 30 jun 2011.

PONTES NETTO, D.; LOPES, M. O.; OLIVEIRA, M. C. S.; NUNES, M. P. N.; MACHINSKI-JÚNIOR, M.; BOSQUIROLI, S. L.; BENATTO, A.; BENINI, A.; BOMBARDELLI, A. L. C.; VEDOVELLO-FILHO, D.; MACHADO, E.; BELMONTE, I. L.; ALBERTON, M.; PEDROSO, P. P.; SCUCATO, E. S. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, Maringá, v. 27, no. 1, p. 145-151, Jan./March, 2005. Disponível em: <<http://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAnimSci/article/view/1260/692>> Acesso em: 16 jul 2011.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas.** 1 ed. Porto Alegre: ArtMed, 2005. 512p.

REIS, S. R.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.55, n.6, p.651-658, 2003. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000600001> Acesso em: 30 jun 2011.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W.; CONSTABLE, P. D. **Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses.** 10 ed. Oxford: Saunders, 2007. 2065p.

RIBEIRO, M. G.; GERALDO, J. S.; LANGONI, H.; LARA, G. H. B.; SIQUEIRA, A. K.; SALERNO, T.; FERNANDES, M. C. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesq. Vet. Bras.** 29(1):52-58, janeiro 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/pvb/v29n1/a08v29n1.pdf>> Acesso em: 15 jun 2011.

SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L. B.; SARTORI, V. C.; DEALLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Rev. Bras. Farmacogn.** 20(2): Abr./Mai. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2010000200003&script=sci_arttext> Acesso em: 14 maio 2011.

SANTOS, A. L. R. **Avaliação do sistema conservante em formulação com extrato hidroalcóolico de *Schinus terebinthifolius* Raddi – Anacardiaceae.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2007. Disponível em: <http://bdtd.bczm.ufrn.br/tedesimplificado/tde_arquivos/33/TDE-2010-04-29T012041Z-2584/Publico/AnalRS.pdf> Acesso em: 10 maio 2011.

SANTOS, E. B.; DANTAS, G. S.; SANTOS, H. B.; DINIZ, M. F. F. M.; SAMPAIO, F. C. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Rev. Bras. Farmacognosia,** 19(1B): Jan./Mar. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-695X2009000200024&script=sci_arttext> Acesso em: 01 maio 2011.

SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Physical and Chemical Tests for Detection of Mastitis.** In: Bovine Mastitis. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971.

SCHIAVON, D. B. A. **Aplicação de um fitoterápico na anti-sepsia de tetos de vacas pós-ordenha.** 36f. Dissertação (Mestrado) – Programa de pós-graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2011.

SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V. E. **Fitoterapia Racional:** Um guia de fitoterapia para as ciências da saúde. 4 ed. São Paulo: Manole, 2002. 386p.

SCHUCH, L. F. D. **Plantas Medicinais em Atenção Básica Veterinária: Atividade Antimicrobiana frente a Bactérias Relacionadas com Mastite Bovina e a Dermatófitos.** Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SILVA, M^a. A.; PESSOTTI, B. M. S.; ZANINI, S. F.; COLNAGO, G. L.; NUNES, L. C.; RODRIGUES, M. R. A.; FERREIRA, L.. Uso de óleo de aroeira-vermelha sobre o desempenho e a morfometria intestinal de frangos de corte. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.10, p.2151-2156, out, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/2010nahead/a732cr3585.pdf>> Acesso em: 14 mar 2011.

SILVA, M^a. S.; ANTONIOLLI, A. R.; BATISTA, J. S.; MOTA, C. N. Plantas medicinais usadas nos distúrbios do trato gastrintestinal no povoado Colônia Treze, Lagarto, SE, Brasil. **Acta bot. bras.** 20(4): 815-829. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v20n4/07.pdf>> Acesso em: 10 maio 2011.

SILVA, V. A.; FREITAS, A. F. R.; PEREIRA, Ma. S. V.; PEREIRA, A. V. Avaliação da atividade antimicrobiana *in vitro* da *Lippia sidoides* Cham sobre *Staphylococcus aureus* de origem bovina. **ACSA - Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v.05, 52-56, 2009. Disponível em: <<http://150.165.111.246/ojs-patos/index.php/ACSA/article/view/56>> Acesso em: 30 jun 2011.

SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C. B.; LEAL, C.; DRUMOND, M. R. S.; PADILHA, W. W. N. Susceptibilidade *in vitro* de bactérias bucais a tinturas fitoterápicas. **Fac. Odonto/PUCRS**, v. 21, n. 53, jul./set. 2006. Disponível em: <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/fo/ojs/index.php/fo/article/viewArticle/1101>> Acesso em: 14 mar 2011.

SOARES, D. G. S.; OLIVEIRA, C. B.; LEAL, C.; DRUMOND, M. R. S.; PADILHA, W. W. N. Atividade antibacteriana *in vitro* da tintura de aroeira (*Schinus terebinthifolius*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans*. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.**, João Pessoa 7(3):253-257, set./dez. 2007. Disponível em:

<<http://revista.uepb.edu.br/index.php/pboci/article/viewFile/171/118>> Acesso em: 14 mar 2011.

SOUZA, F. C.; OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C.; SILVA, E. F. M. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leites pasteurizados comercializados no Estado do Ceará – Brasil. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.5, n.4, p. 10 - 14 outubro/dezembro de 2010. Disponível em: <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/viewFile/346/pdf_1> Acesso em: 12 jun 2011.

SOUZA, A.A.1; Wiest, J.M. Atividade anti-bacteriana de *Aloysia gratissima* (Gill et Hook) Tronc. (garupá, ervasanta), usada na medicina tradicional no Rio Grande do Sul – Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.9, n.3, p.23-29, 2007. Disponível em: <http://www.ibb.unesp.br/servicos/publicacoes/rbpm/pdf_v9_n3_2007/artigo3_v9_n3.pdf> Acesso em: 30 jun 2011.

SPEROTTO, V. R. Atividade antibacteriana *in vitro* d decocto de Achyrocline satureioides (Lam.) D.C. – Asteracea – (“macela”) sobre bactérias isoladas de mastite bovina. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/10183/25000>> Acesso em: 30 jun 2011.

VEIGA JR., V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M^a A. M. Plantas Medicinais: Cura Segura? **Quim. Nova**, Vol. 28, No. 3, 519-528, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-40422005000300026&script=sci_arttext> Acesso em: 10 maio 2011.

ZAFALON, L. F.; NADER-FILHO, A.; OLIVEIRA, J. V.; RESENDE, F. D. Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.3, p.577-585, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352007000300005> Acesso em: 30 jun 2011.