

EFICÁCIA DA OZONIOTERAPIA NO TRATAMENTO DE MASTITE SUBCLÍNICA DE VACAS EM LACTAÇÃO

Marco Túlio Carrijo Pereira¹, César Augusto Garcia²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do gás ozônio no tratamento de mastite subclínica, adotando como referência os resultados dos exames *California Mastitis Test* (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS). Para isto utilizou-se de 40 (quarenta) glândulas mamárias, com diagnóstico positivo para mastite subclínica, de 22 vacas mestiças, em lactação, com idades e pesos variados. Os animais foram submetidos à ozonioterapia, com aplicação intramamária do gás, para o tratamento da enfermidade. Uma vez que os testes estatísticos revelaram diferenças significativas para os valores dos resultados dos testes CMT e CCS, dos animais tratados pela ozonioterapia, pode-se afirmar, que dentro das condições em que foi realizada a presente pesquisa, a terapia foi eficaz na redução da intensidade da infecção.

Palavras-chave: Gás ozônio, ozonioterapia, mastite bovina, *california mastitis test*, contagem de células somáticas.

INTRODUÇÃO

A mastite bovina é uma das doenças mais disseminadas em áreas de pecuária no mundo, sendo também, uma das que mais acarretam prejuízos para o produtor (SARGEANT et al., 2001). O impacto econômico causado pela enfermidade prejudica toda a cadeia produtiva do leite (NIELEN et al., 1992). De acordo com Milner et al. (1996) essas perdas são atribuídas a gastos com tratamentos dos animais, leite descartado, comprometimento da lactação futura, dentre outros. A enfermidade também é considerada o maior desa-

fió para as indústrias lácteas devido à perda de qualidade do produto (BRADLEY, 2002); apesar de inúmeras medidas profiláticas serem desenvolvidas para seu controle (PYORALA, 2002).

Novas alternativas estão sendo pesquisadas para o tratamento da mastite. Alguns exemplos seriam a utilização da homeopatia e do ozônio no tratamento desta infecção.

O ozônio, de fórmula química O_3 é uma forma alotrópica e triatômica do oxigênio (MARUSI, et al., 1999), sendo formado quando o oxigênio, puro ou do ar é exposto à radiação de raios ultravioletas ou também a descargas elétricas de alta densidade, como ocorre quando a luz solar penetra na atmosfera da Terra, criando a camada de ozônio. O gás é produzido por meio de uma ruptura na molécula de oxigênio que pode se combinar a outras moléculas, também de oxigênio, como na reação: $O_2 \ll 2(O) + 2O_2 \ll 2O_3$. Forma-se assim, a molécula do gás, O_3 .

De acordo com Sunnen (2003), a molécula apresenta ação fungicida, viricida e bactericida podendo ser usada no tratamento de diversas enfermidades. O gás é instável e altamente reativo (LEI-KAUF et al., 1998), além de possuir um odor característico e ter ação oxidante, o que lhe dá o poder de inativação e eliminação de microorganismos (FOEGEDING, 1985).

O objetivo deste estudo foi verificar a eficácia do gás ozônio no tratamento da mastite subclínica, adotando como referência os resultados dos exames *California Mastitis Test* e a Contagem de Células Somáticas.

MATERIAL E MÉTODOS

Na realização da presente pesquisa utilizou-se de 40 (quarenta) glândulas mamárias, com

¹ Médico Veterinário. Professor Mestre. Universidade de Uberaba (UNIUBE). Av. João Pinheiro 695 apto 400 – Centro. Uberlândia-MG. (34) 9119-8608. marcotulicarrijo@hotmail.com

² Médico Veterinário. Professor Doutor Associado da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Uberlândia-MG.

diagnóstico positivo para mastite subclínica, através dos testes *California Mastitis Test* e Contagem de Células Somáticas, de 22 vacas mestiças, em lactação, com idades e pesos variados. Os animais pertencentes ao rebanho da Fazenda do Glória, da Universidade Federal de Uberlândia utilizados rotineiramente para a produção leiteira.

Os testes CMT eram realizados na propriedade, em momento anterior à ordenha da tarde sendo classificados em (-) (negativo), (T) (traço), (+) (uma cruz), (++) (duas cruzes) ou (+++) (três cruzes). Consideraram-se positivos para mastite subclínica os quartos classificados em (++) e (+++).

Outro teste utilizado foi a CCS. Neste caso avaliou-se por meio deste teste os mesmos quartos glandulares dos animais testados pelo CMT. As amostras de leite eram colhidas em frascos esterilizados fornecidos por laboratório especializado, os quais continham pastilhas do conservante azidiol. Após a colheita, os frascos eram acondicionados

em caixa de papelão e enviados, via correio, para o laboratório de Fisiologia da Lactação (Clínica do Leite), do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite, do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agronomia Luís de Queiróz (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba-SP, onde realizou-se as contagens de células somáticas e enviados relatórios com os resultados das análises. Para esse teste considerou-se positivas para mastite subclínica as amostras que apresentavam contagem acima de 1200 células por mL de leite, seguindo o padrão descrito por Fonseca; Santos (2000).

Uma vez realizados os testes CMT e CCS, identificaram-se os 40 quartos glandulares positivos para a doença. Os quartos foram divididos em dois grupos de 20 quartos cada um, sendo que um dos tratamentos consistia na ozonioterapia e outro, testemunha, onde nenhum tipo de procedimento foi realizado.

Quadro 1. Interpretação do Teste do CMT, de acordo com o tipo de reação.

Símbolo	Significado	Número de células/ml (X1000)
(-)	Negativo	Até 200
(T)	Traços	200-350
(+)	Positiva Fraca	350-1200
(++)	Positiva	1200-2200
(+++)	Positiva Forte	> 2200

Fonte: FONSECA; SANTOS (2000).

Selecionadas as vacas e estabelecida a divisão dos grupos testemunha e tratamento deram-se início aos tratamentos utilizando o gás ozônio. Para isto utilizou-se de um gerador portátil do gás, Aquaway, modelo G-10®, conectado a um cilindro de oxigênio, White Martins®, com capacidade de 3,5 metros cúbicos de O₂. Este cilindro possuía uma torneira para dosagem do fluxo de oxigênio a ser liberado. O aparelho gerador de ozônio tem a capacidade de transformar o gás oxigênio (O₂) em gás ozônio (O₃). Dessa forma, o cilindro de O₂ fornece o gás para o interior do gerador que, através do uso de eletricidade converte-o para a forma de ozônio (O₃). O gerador em questão produzia a quantidade de 7,2 gramas de ozônio por hora, ou 2 (dois) miligramas do gás por segundo. Do lado oposto do gerador, por onde era liberado o gás ozônio conectou-se uma mangueira atóxica, de

silicone, com 3 metros de comprimento. No extremo dessa mangueira acoplou-se uma cânula plástica, esterilizada, para o tratamento intramamário da mastite.

Antes do tratamento propriamente dito deu-se início ao monitoramento dos animais a serem tratados, bem como do grupo testemunha. Tanto o teste CMT, como a CCS eram feitos um dia antes do início dos tratamentos, (dia zero). Os procedimentos para a realização dos testes e colheita do material foram idênticos aos descritos anteriormente. Esses testes receberam a denominação de CMT 1 e CCS 1.

No dia seguinte, estipulado como dia 1 (um) deu-se início aos tratamentos. Estipulou-se, para a realização dos tratamentos, a quantia de 30 miligramas do gás, por quarto tratado, por dia de tratamento, durante 5 (cinco) dias. Essa dosagem ba-

seu-se no experimento desenvolvido por Ogata; Nagahata (2000), que utilizaram entre 6 e 30 miligramas do gás para tratamento semelhante, em dose única. As terapias foram praticadas sempre no período imediatamente após a ordenha da tarde. À medida que os animais a serem tratados terminavam de ser ordenhados desenvolvia-se a terapia. O quarto selecionado foi preparado, manejado e posicionado manualmente, utilizando-se para isso luvas de procedimento. As cânulas eram conectadas à mangueira de silicone. Uma vez realizadas essas manobras, liberava-se o gás oxigênio do cilindro e ligava-se o aparelho gerador de ozônio na corrente elétrica. Instantaneamente, o aparelho produzia o gás ozônio e o liberava. Logo após, foi introduzida a cânula no interior do seio lactífero-papilar e dessa forma, o gás ozônio se direcionava para seu interior e infundia-se na glândula mamária. Cada tratamento levava 15 segundos, o tempo necessário para ser produzido 30 miligramas do ozônio, uma vez que produzia-se 2 miligramas do gás por segundo. Esse tempo era contado a partir do momento da introdução da cânula. Após os 15 segundos a mesma foi retirada.

De acordo com o protocolo repetiu-se a terapia por mais quatro dias, os quais foram denominados dias 2 (dois), 3 (três), 4 (quatro) e 5 (cinco). Obedeceu-se o mesmo procedimento para todos os 20 quartos glandulares a serem tratados. As glândulas testemunha permaneceram sem qualquer tipo de intervenção externa, durante todo o período de tratamento.

Terminados os tratamentos iniciou-se um período de monitoramento dos animais, sendo avaliados pelos testes CMT e CCS. Os testes e as colheitas eram feitos da mesma maneira como os anteriormente descritos. As amostras eram enviadas ao laboratório. Os testes se deram a cada sete dias, por seis vezes, do dia 0 até o dia 35, para avaliar a situação posterior à realização dos tratamentos (pós-tratamento). Realizou-se o segundo teste no dia 7 o qual se denominou CMT 2 e CCS 2, o terceiro no dia 14 (CMT 3 e CCS 3), o quarto no dia 21 (CMT 4 e CCS 4), o quinto no dia 28 (CMT 5 e CCS 5) e por fim, o sexto teste no dia 35 (CMT 6 e CCS 6).

Para comparar os resultados, entre os grupos testemunha e tratamento utilizou-se a Análise de Variância em Delineamento Inteiramente Casualizado (DIC) em esquema fatorial. Para comparação das médias dos grupos e épocas utilizou-se do Teste t-Student a 5%. Os cálculos foram processados com a utilização do software SISVAR. Versão 4.3 (Build 43)[®] (FERREIRA, 2003).

Para os cálculos das médias dos resultados do CMT adotou-se valores numéricos, onde eram denominados: negativo (-) como 1, Traço (T) como 2, uma cruz (+) como 3, duas cruzes (++) como 4 e três cruzes (+++) como 5. Já para os testes de CCS utilizou-se dos valores numéricos dos próprios resultados. A Diferença Mínima Significativa (DMS) determinou se houve diferença significativa ao se comparar as médias dos resultados. Para verificar a associação entre CMT e CCS utilizou-se o teste Qui-quadrado e coeficiente de correlação ($p < 0,05$) (STATISTICA[®], 1995).

RESULTADOS

Os resultados referentes aos testes de CMT e CCS realizados foram relacionados conforme as tabelas 1, 2, 3 e 4.

A tabela 1 comparou as médias dos tratamentos CMT 1, CMT 2, CMT 3, CMT 4, CMT 5 e CMT 6 do grupo testemunha e a tabela 2 as médias dos tratamentos CMT 1, CMT 2, CMT 3, CMT 4, CMT 5 e CMT 6 do grupo tratamento.

A tabela 3 comparou as médias dos testes CCS 1, CCS 2, CCS 3, CCS 4, CCS 5 e CCS 6 do grupo testemunha e a tabela 4 as médias dos tratamentos CCS 1, CCS 2, CCS 3, CCS 4, CCS 5 e CCS 6 do grupo tratamento.

Com relação ao teste de correlação entre CMT e CCS, os testes apresentaram correlação positiva baixa de 0,426 ou 18,1% ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

A associação dos testes CCS e CMT foi de grande valia para maximizar o diagnóstico da mastite subclínica, o que reforça a afirmação de Barbosa et al. (2002).

Comparando-se os resultados individuais das glândulas mamárias submetidas à ozonioterapia (grupo tratamento), com àquelas do grupo testemunha nota-se uma grande variação nos valores revelados pelos testes CMT e CCS. Constata-se que alguns animais apresentaram valores decrescentes da CCS ao longo dos exames (CCS 1 a CCS 6). Outros, de ambos os grupos apresentaram variações crescentes e decrescentes nos valores da CCS ao longo dos exames. Fatos semelhantes ocorreram com os valores dos testes CMT, sendo que alguns animais melhoraram ou pioraram esses índices ao longo dos testes (CMT 1 a CMT 6) e alguns mantiveram estes valores constantes durante o mesmo período.

Na presente investigação, o período total

de realização dos testes CMT e CCS foi de 35 dias, onde, entre cada teste houve um intervalo de sete dias, porque após a realização de uma terapia para o tratamento da mastite, pode ser necessário até mais de 30 dias para que ocorra uma redução significativa dos valores da CCS, o que indica a cura da doença. Isto depende do agente etiológico, do tratamento realizado e da manifestação clínica da doença (clínica/subclínica) (comunicação verbal)¹. No presente estudo houve diferença significativa, entre os grupos, quando comparadas às médias dos testes de CCS, o mesmo ocorreu quando o teste analisado foi o CMT.

Algumas particularidades observadas neste estudo foram semelhantes àquelas observadas por Ogata; Nagahata (2000). Em ambas as investigações ocorreram ausência de necrose ou efeito irritativo nas glândulas mamárias, ou tetos dos animais submetidos aos tratamentos, bem como pequenas variações na quantidade de leite produzido. Outro fato semelhante foi a constatação da presença de grumos no leite ordenhado dos animais, num período posterior ao tratamento. A maioria dos animais tratados no presente experimento apresentou grumos por um período de um a três dias pós-tratamento. Segundo àqueles autores, esse fato não é elucidado, embora se explore a possibilidade destes grumos estarem relacionados com um aumento da leucocitose. Outra explicação que poderia ser dada é que o gás ozônio provoca um aumento de descamação do epitélio glandular, devido o fato da terapia ter sido conduzida de maneira excessiva e repetitiva. A partir daí, essas células de descamação seriam liberadas em forma de grumos (comunicação verbal)². Este poderia ser um dos efeitos tóxicos do ozônio, pois segundo Leikauf et al. (1998), a alta reatividade do gás e seu efeito oxidativo poderiam lesar o epitélio.

O aumento na quantidade de células de descamação associado a uma leucocitose, levam a um aumento da CCS (FONSECA; SANTOS, 2000). Isso poderia explicar em parte o fato de, neste experimento terem ocorrido variações individuais nos resultados dos testes de CCS e, também no teste CMT, o qual se baseia na reação de um detergente com os leucócitos presentes no leite, podem ocorrer variações. Observaram-se diferença estatística significativa, entre as médias dos resultados de CMT dos grupos tratamento e testemunha (CMT 1 a CMT 6). Fato semelhante observa-se

quando comparados os resultados da CCS (CCS 1 a CCS 6), para os grupos tratamento e testemunha. Com variações como essas em ambos os testes pode-se suspeitar de um fenômeno de tolerância individual, que explicaria o fato de alguns indivíduos não responderem aos tratamentos, apesar de seus mecanismos não serem totalmente elucidados (KIRSCHVINK et al., 2002). Estes resultados coincidem com os obtidos por Ogata; Nagahata (2000), que após realizarem ozonioterapia constataram diminuição da CCS, com diferença significativa, ao longo do período de observação. Todavia, não houve cura clínica de todos os animais tratados. De acordo com esses autores a ozonioterapia aplicada ao tratamento da mastite bovina requer um curto período de contato, entre o gás e as bactérias causadoras da enfermidade. Uma vez, na concentração e volume adequados e, infundido diretamente na glândula mamária, o ozônio pode esterilizar a mesma, matando os patógenos causadores de enfermidades. A estrutura anatômica do úbere favorece a terapia, pois, quando o gás é infundido, o mesmo pode atingir as camadas mais profundas do tecido glandular e ser eliminado, já na forma de oxigênio, através de seu ducto papilar. Os investigadores realizaram este tratamento utilizando uma quantidade de 5 a 30 miligramas do gás ozônio. No presente estudo a quantidade utilizada foi de 30 miligramas para todos os tratamentos. Outro ponto de concordância entre os autores foi uma diminuição da contagem de células somáticas. Entretanto, não há relatos de pesquisadores que utilizaram quantidades maiores do ozônio para esse tipo de tratamento, o que poderia determinar se seria possível curar totalmente a enfermidade.

Segundo Ducusin et al. (2003), a maioria das pesquisas com o uso do ozônio para o tratamento de doenças está voltada para a medicina humana, sendo que para sua utilização na medicina veterinária são necessários maiores esclarecimentos e explicações. Além das particularidades individuais dos animais existe uma característica do gás que, quando na forma livre converte-se rapidamente em oxigênio. Isto poderia explicar o porquê, de neste estudo algumas glândulas tratadas apresentarem pouca ou nenhuma variação nos resultados do CMT e CCS. Além disso, segundo Korol (1995), quando o ozônio é utilizado para a inativação de bactérias e há presença de matéria orgânica no meio, ela torna-se protetora dessas bactérias. Isto se dá pelo

¹ João Eustáquio Cabral de Miranda – Médico Veterinário. Pesquisador da Embrapa de Leite. 2003. Comunicação via e-mail.

² Inivaldo Correia – Médico Veterinário. Microbiologista e Imunologista. Ribeirão Preto – SP. 2004. Comunicação pessoal.

fato de que os radicais livres formados pelo gás reagem com essas substâncias antes de alcançarem os microorganismos. Este fator poderia ocorrer em uma terapia intramamária, devido a presença de leite residual no interior do aparelho mamário, bem como as secreções oriundas da inflamação, que dificultaria a penetração do gás até níveis mais profundos da glândula.

Quanto aos animais tratados que apresentaram aumento dos valores da CCS, o fato do gás possuir propriedades de promover leucocitose poderia explicar esse aumento, o que foi constatado por Terasaki et al. (2001), quando da realização de experimentos com a técnica da auto-hemoterapia de sangue ozonizado. Os investigadores afirmaram ainda que, esse tipo de terapia poderia aumentar o efeito e a atividade bactericida dos leucócitos, pelo estímulo da produção de citocinas por estas células. Ocorreria também um acréscimo na produção de imunoglobulinas pelo sistema imune (BOCCI, 2000).

Outra hipótese referente à leucocitose de alguns indivíduos tratados com ozônio seria a possibilidade dessas células de defesa aproveitarem para seu metabolismo, a disponibilidade de oxigênio gerado pelo ozônio. Dessa forma, um maior número de leucócitos seria liberado no leite acarretando um aumento dos valores da CCS (DUCUSIN et al., 2003). Entretanto, esses autores relataram que esse efeito (leucocitose) estaria associado ao estado de saúde do paciente, podendo acontecer ou não, na dependência do estado de saúde ou doença.

Apesar de não ter sido realizada identificação do agente etiológico no presente estudo, o tipo de bactéria causadora da mastite também pode comprometer o sucesso da terapia, fato constatado por Ogata; Nagahata (2000). Na presente pesquisa, seria possível hipotetizar que, os indivíduos tratados, e que não manifestaram cura frente aos testes CMT e CCS poderiam ser portadores de algum patógeno resistente à ação deste gás. Porém, para ambos os testes observaram-se diferença mínima significativa, quando foram comparadas as médias dos resultados dos animais submetidos à ozonioterapia.

Fazem-se necessários novos estudos com utilização da ozonioterapia para o tratamento da mastite bovina e outras importantes enfermidades na medicina veterinária. Essa terapia aparenta ser inócua do ponto de vista dos efeitos colaterais, de baixo custo para realização e com potencial para ser bem sucedida após maiores estudos. Além disso, o leite ordenhado de vacas tratadas por esta técnica, não altera os padrões de densidade, gordura e acidez, não sendo, portanto, detectado

e condenado nas plataformas de laticínios (GARCIA et al., 1999), que minimiza prejuízos financeiros. Além disso, por ser um tratamento alternativo, não há o problema da presença de resíduos de antibiótico no leite, o que atualmente é muito discutido e cobrado por parte das indústrias lácteas, devido sua importância quanto a saúde pública.

Sabe-se que a eficácia dessa terapia no tratamento da mastite bovina está intimamente relacionada com uma importante questão, que é a qualidade do leite.

CONCLUSÃO

Uma vez que os tratamentos estatísticos revelaram diferença significativa para os resultados dos testes CMT e CCS, dos animais tratados pela ozonioterapia pode-se concluir que, dentro das condições em que foi realizada a presente pesquisa, a terapia foi eficaz na redução da intensidade da infecção mamária.

Ozonotherapy effectiveness for subclinical mastitis treatment in milk cows

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the ozone gas effectiveness for sub clinical mastitis treatment using California Mastitis Test and somatic cell count results as reference. For this, 40 (forty) mammary glands, sub clinical mastitis positive diagnose, from 22 healthy milk cows, age and weight variable, were used. The cows were submitted to ozone therapy intramamary application of gas, for disease treatment. Statistics tests have showed significant difference for CMT and SCC tests results, for treated cows. In this investigation conditions the therapy was effective to reduce infection intensity.

Keywords: Ozone gas, ozone therapy, bovine mastitis, *california mastitis test*, somatic cell count.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; RIBEIRO, S. C. A.; GUIMARÃES, E. C. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do "california mastitis test" (CMT) no diagnóstico de mastite bovina. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 18, n. 1, p. 93-102, 2002.

BOCCI, V. **Ossigeno-ozonoterapia: comprensione dei meccanismi di azione e possibilità terapeutiche**. Milano: Casa Editrice Ambrosiana, 2000. 322 p.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **Veterinary Journal**, London, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

DUCUSIN, R. J. T.; NISHIMURA, M.; SARASHINA, T.; UZUKA, Y.; TANABE, S.; OTANI, M. Phagocytosis of bovine blood and milk polymorph nuclear leukocytes after ozone gas administration *in vitro*. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 65, n. 4, p. 535-539, 2003.

FERREIRA, D. F. SISVAR Versão 4.3 (Build 43). 2003. 1 CD-ROM.

FOEGEDING, P. M. Ozone inactivation of *Bacillus* and *Clostridium* spore population and the importance of spore coat to resistance. **Food Microbiology**, London, v. 2, p. 123-134, 1985.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Editorial e Gráficos, 2000. 175 p.

GARCIA, C. A.; LUQUETTI, B. C.; MARTINS, I. P.; SILVA, R. T. Avaliação da influência do ozônio sobre a microbiota do leite *in natura*. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 47, 1999.

KIRSCHVINK, N.; FIEVEZ, L.; BUREAU, F.; DEGAND, G.; MAUGHUIN-ROGISTER SMITH, N.; ART, T.; LEKEUX, P. Adaptation to multiday ozone exposure is associated with a sustained increase of bronchoalveolar uric acid. **Free Radical Research**, Lausanne, v. 36, n. 1, p. 23-32, 2002.

KOROL, S. Desinfección de la agua: acción comparativa del ozono y cloro sobre un amplio espectro bacteriano. **Revista Argentina de Microbiología**, Buenos Aires, v. 27, n. 4, p. 175-183, 1995.

LEIKAUF, G. D.; DRISCOLL, K. E.; WEY, H. E. Ozone-induced argumentation of eicosanoid metabolism in epithelial cell from bovine trachea. **America Review of Respiratory Disease**, New York, v. 137, n. 2, p. 435-442, 1998.

MARUSI, A.; ALLEGRI, M.; MARASI, G.; ORSI, G.; UBALDI, A. Lipoidroperossidi nella profilassi e terapia della metrite e nel miglioramento della fertilità nella bovina da latte. **Atta della Società Italiana di Buiaatria**, Bologna, v. 31, p. 219-225, 1999.

MILNER, P.; PAGE, K. L.; WALTON, A. W.; HILLERTON, J. E. Detection of clinical mastitis by changes in electrical conductivity of foremilk before visible changes in milk. **Journal of Dairy Science**, Lawrence, v. 79, p. 79-83, 1996.

NIELEN, M.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H.; BRAND, A. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers and meta analysis of mastitis detection performance. **Journal of Dairy Science**, Lawrence, v. 75, p. 606-614, 1992.

OGATA, A.; NAGAHATA, H. Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 62, n. 7, p. 681-686, 2000.

PYORALA, S. New strategies to prevent mastitis. **Reproduction in Domestic Animals**, Berlin, v. 37, n. 4, p. 211-216, 2002.

SARGEANT, J. M.; LESLIE, K. E.; SHIRLEY, J. E.; PULKRABEK, B. J.; LIM, G. H. Sensitivity and specificity of somatic cell count and california mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. **Journal of Dairy Science**, Lawrence, v. 84, n. 9, p. 2018-2024, 2001.

SUNNEN, G. V. **Ozone in medicine**: overview and future directions. Disponível em: <<http://www.ozone.service.com>>. Acesso em: 02 out. 2003.

STATISTICA for Windows. Release 5. Copyright Stat Soft, 1984-1995. 1 CD-Rom

TEIXEIRA, S. R. Qualidade do leite em tanques de expansão. **Balde Branco**, São Paulo, v. 34, n. 422, p. 30, 1999.

TERASAKI, N.; OGATA, A.; OHTSUKA, H.; TAMURA, K.; HOSHI, F.; KOIWA, M.; KAWAMURA, S. Changes of immunological responses after experimentally ozonated autohemoadministration in calves. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 63, n. 12, p. 1327-1330, 2001.

Tabela 1. Comparação entre as médias dos tratamentos CMT 1, CMT 2, CMT 3, CMT 4, CMT 5 e CMT 6 do grupo testemunha em vacas mestiças em lactação, realizados na Fazenda Experimental do Glória, no município de Uberlândia-MG, no período de novembro de 2003.

CMT	Médias #
6	3.500000 a1
1	3.500000 a1
5	3.700000 a1 a2
2	3.950000 a1 a2
4	4.200000 a1 a2
3	4.450000 a2

As médias seguidas por a1 não são significativamente diferentes. Teste t-Student a 5%. DMS: 0,78.

Tabela 2. Comparação entre as médias dos tratamentos CMT 1, CMT 2, CMT 3, CMT 4, CMT 5 e CMT 6 do grupo tratamento em vacas mestiças em lactação, realizados na Fazenda Experimental do Glória, no município de Uberlândia-MG, no período de novembro de 2003.

CMT	Médias #
6	3.900000 a1
2	3.950000 a1
5	4.000000 a1
4	4.050000 a1
3	4.250000 a1 a2
1	5.000000 a2

As médias seguidas por a1 não são significativamente diferentes. Teste t-Student a 5%. DMS: 0,78.

Tabela 3. Comparação entre as médias dos testes CCS 1, CCS 2, CCS 3, CCS 4, CCS 5 e CCS 6 do grupo testemunha em vacas mestiças em lactação, realizados no Laboratório de Fisiologia da Lactação (Clínica do Leite), do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de leite, do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), município de Piracicaba-SP, no período de novembro de 2003.

CCS	Médias #
5	2570.050000 a1
6	2969.550000 a1
1	3018.000000 a1
3	3473.800000 a1 a2
4	3957.650000 a1 a2
2	4748.950000 a2

As médias seguidas por a1 não são significativamente diferentes. Teste t-Student a 5%. DMS: 1583,00.

Tabela 4. Comparação entre as médias dos tratamentos CCS 1, CCS 2, CCS 3, CCS 4, CCS 5 e CCS 6 do grupo tratamento em vacas mestiças em lactação, realizados no Laboratório de Fisiologia da Lactação (Clínica do Leite), do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de leite, do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agronomia Luiz de Queiroz (ESALQ) da Universidade de São Paulo (USP), município de Piracicaba-SP, no período de novembro de 2003.

CCS	Médias #
1	2991.600000 a1
3	4083.850000 a1 a2
6	4087.300000 a1 a2
5	4263.800000 a1 a2
4	4669.850000 a1 a2
2	5144.150000 a2

As médias seguidas por a1 não são significativamente diferentes. Teste t-Student a 5%. DMS: 1583,00.