

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

GRACIELI ALVES FERREIRA

USO DE ANTIMICROBIANO OU DE SELANTE INTRAMAMÁRIO COMO MEDIDA  
PREVENTIVA CONTRA MASTITE BOVINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

PALOTINA

2015

GRACIELI ALVES FERREIRA

USO DE ANTIMICROBIANO OU DE SELANTE INTRAMAMÁRIO COMO MEDIDA  
PREVENTIVA CONTRA MASTITE BOVINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, área de concentração em Saúde Animal, linha de pesquisa em Patologia Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Erica Cristina Bueno do Prado Guirro.

PALOTINA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F383      Ferreira, Gracieli Alves  
            Uso de antimicrobiano ou de selante intramamário como  
            medida preventiva contra mastite bovina no período de transição.  
            Orientador, Érica Cristina Bueno do Prado Guirro. - Palotina, PR,  
            2015.  
            54p.

            Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do  
            Paraná, Setor Palotina, PR – Programa de Pós-  
            Graduação em Ciência Animal, 2015.

            1. Antimicrobianos 2. Glândula mamária. 3. Mastite. I. Érica  
            Cristina Bueno do Prado.  
            II. Universidade Federal do Paraná. Programa de Pós-  
            Graduação em Ciência Animal. III. Título

CDU 636.2:616

Ficha catalográfica elaborada por Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Setor Palotina

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

TERMO DE APROVAÇÃO

GRACIELI ALVES FERREIRA

**"USO DE ANTIMICROBIANO OU DE SELANTE INTRAMAMÁRIO COMO MEDIDA PREVENTIVA  
CONTRA MASTITE BOVINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO."**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Área de Concentração em Saúde Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

Professora Dra. Erica Cristina Bueno do Prado Guirro  
Presidente/Orientador: Universidade Federal do Paraná

Professora Dra. Maiara Garcia Blagitz-Azevedo  
Membro: Universidade Federal da Fronteira Sul

Professora Dra. Marilene Machado Silva  
Membro: Universidade Federal do Paraná

Palotina, 09 de junho de 2015

## DADOS CURRICULARES DO AUTOR

**GRACIELI ALVES FERREIRA-** nasceu em Palmas/ PR, em 23 de novembro de 1986, filha de Nelson Ferreira e Marli Marlene Alves. Em 2007 ingressou na Universidade Estadual do Paraná- Unicentro, Campus Guarapuava, no curso de Medicina Veterinária. No período de 2009 a 2011 participou do projeto de extensão vinculado ao Programa Universidade Sem Fronteira: “Assistência técnica nos assentamentos de Goioxim, Cantagalo e Marquinho, utilizando sistemas Agrossilvipastoris, com implantação de carvão utilizando bracatinga e melhoria na produção e manejo de gado leiteiro. Em 2011 foi monitora da disciplina de “Bovinocultura”. Gradou-se Médica Veterinária em dezembro de 2011. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Paraná-UFPR, Setor Palotina em Fevereiro de 2013.

*“Ainda que eu fale a língua dos homens e dos anjos [...] e conheça todos os mistérios de toda a ciência [...] se não tiver amor, nada serei.”*

*I Coríntios, 13, 1-2.*

Ao meu esposo Valdecir, companheiro de todos os momentos. Obrigada por todo amor, cumplicidade e a imensa dedicação.

Aos meus pais, Nelson e Marli, que sempre me apoiaram e acreditaram em mim, guiando-me em todos os momentos da minha vida e por terem me presenteado com o maior bem que alguém pode transmitir: a educação.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me deu vida. Obrigada por colocar em minha trajetória pessoas que me ensinaram a crescer. Por me dar força para chegar até aqui, superando vários obstáculos e não me deixando desistir, sempre guiando meus passos pelos incertos caminhos e, sobretudo superando as dificuldades.

Aos meus pais, obrigada pela lição de amor que ensinaram durante toda a minha vida. E por me possibilitarem uma ótima formação educacional, pois sem ela não teria conseguido alcançar mais esta etapa. Agradeço por tudo, mas principalmente pela construção do meu caráter. Muito obrigada por terem acreditado em mim. Amo muito vocês.

Ao meu querido esposo Valdecir, que faz parte da minha vida. Obrigada por todo amor, por tudo que você tem feito e pela compreensão nos momentos de minha ausência.

Ao meu filho Antônio, que mesmo ainda dentro de meu ventre já é muito amado e me traz muita alegria e inspiração. Estamos ansiosos esperando a sua chegada!

Aos meus irmãos, Sandra, Daiane, Marlison e Marlon, obrigada pelo carinho, vocês também integram esse momento.

A minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Erica Cristina do Prado Bueno Guirro, quero agradecer do fundo do coração a amizade, extrema dedicação e enorme confiança em mim depositada durante todo esse tempo de preparação. Não esquecerei jamais o que me foi feito. Sua postura profissional e o amor pelo ensino e pesquisa são um grande exemplo e incentivo para mim. Essa vitória não é apenas minha e divido com você a satisfação desta conquista.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maiara Garcia Blagitz, muito obrigada pela amizade e por todo carinho dedicado a esta pesquisa, por todas as suas considerações fundamentais

para a elaboração desta dissertação. Sem sua colaboração nada disso seria possível.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade da realização do mestrado.

A Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Alice Maria Melville Paiva Della Libera, pela viabilização dessa pesquisa.

A amiga Thuanny Lúcia Pereira, muito obrigada pelo carinho e apoio, por estar sempre presente em minha vida mesmo distante.

Aos produtores, por confiar em nossa pesquisa e tão bem nos acolherem em suas propriedades. Agradeço gentilmente por disponibilizarem seus animais para a execução deste trabalho.

Ao colega de mestrado e técnico do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da UFPR – Setor Palotina Pedro Argel Zadinelo Moreira, muito obrigada pela amizade e dedicação a esta pesquisa, por ceder o laboratório para realização das análises e principalmente por todos os ensinamentos e incentivo durante esta caminhada.

A equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Veterinário da UFPR – Setor Palotina: Lindomar Fernandes Pessoa, Jéssica Caroline Marochi, Maria de Fátima Andregueti, Alessandro Ferrarini, muito obrigada pela amizade, convívio e por toda ajuda na colheita e no processamento laboratorial das amostras desta dissertação, em especial a Marla Schneider, muito obrigada pelo acolhimento, carinho e sua total disposição em ajudar. Por estar presente nos momentos felizes e difíceis tornando esta etapa mais fácil, e sem dúvida, mais divertida. Adorei todo o nosso convívio!

A todos que me ajudaram diretamente ou indiretamente para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

## USO DE ANTIMICROBIANO OU DE SELANTE INTRAMAMÁRIO COMO MEDIDA PREVENTIVA CONTRA MASTITE BOVINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

### RESUMO

As vacas leiteiras apresentam maior susceptibilidade à mastite no início do período seco e no começo da lactação subsequente, tratamentos como o uso de antimicrobianos intramamários e de selantes internos de tetos tem sido avaliados. Portanto, 24 vacas multíparas da raça Holandesa, foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais com oito vacas: animais que não receberam nenhum tratamento (controle – G1); animais tratados com antimicrobiano intramamário a base de cefalônio anidro (G2) e animais que receberam selante interno de tetos a base de subnitrito de bismuto (G3). Houve coleta de leite no dia da secagem (M1), até 12 horas após o parto (M2), sete dias pós-parto (M3), 15 dias após o parto (M4) e 21 dias após o parto (M5) para avaliação do teste da caneca de fundo escuro; exame dos constituintes do leite; quantificação automática de células somáticas; contagem microscópica de células somáticas; *California Mastitis Test* (CMT) e exame microbiológico. As variáveis foram submetidas à análise de variância (ANOVA), seguida por Tukey ( $p < 0,05$ ). O tratamento do G2 mostrou ser o mais eficiente na redução da contagem de células somáticas na lactação subsequente. O G3 apresentou maior teor nos níveis de gordura no leite que G2. O percentual de mamas com isolamento bacteriano no retorno à lactação foi maior em G2 que em G3. O G2 apresentou melhores resultados no CMT que G1 e G3. Com relação ao teste da caneca de fundo escuro não foram observadas diferenças significativas entre os grupos no pós-parto. Assim, de forma geral, o uso de selante intramamário a base de subnitrito de bismuto mostrou-se mais efetivo no controle da mastite.

**Palavras-chave:** antimicrobiano intramamário, mastite, período seco, selante, tratamento

## ANTIMICROBIAL USE OR SEALANT INTRAMAMMARY AS PREVENTIVE MEASURE AGAINST BOVINE MASTITIS IN TRANSITION PERIOD

### ABSTRACT

Dairy cows are more susceptible to mastitis in the early dry period and early lactation subsequent, treatments such as intramammary use of antimicrobials and internal sealants ceilings have been evaluated. Therefore, 24 multiparous Holstein were divided into into three experimental groups of eight cows: animals that received no treatment (control group - G1); animals treated with antimicrobial intramammary the base of anhydrous Cefalonium (G2); animals receiving sealant ceilings bismuth subnitrate base (G3). There was milk collection on drying day (M1), until 12 hours after calving (M2), seven days after calving (M3), 15 days after calving (M4) and 21 days after calving (M5) to evaluate the test dark background mug; examination of milk constituents; automatic quantification of somatic cells; microscopic counting of somatic cells; *California Mastitis Test* (CMT) and microbiological examination. The variables were subjected to analysis of variance (ANOVA), followed by Tukey ( $p < 0,05$ ). Treatment G2 proved to be the most effective in reducing somatic cell counts in the subsequent lactation. The G3 showed the highest content of fat levels in milk G2. The percentage of breasts with bacterial isolation in return to lactation was higher in G2 than in G3. The G2 presented better results on CMT that G1 and G3. Regarding the test of dark background mug were no significant differences between groups in the postpartum. Thus, in general, the sealant intramammary use the basic bismuth subnitrate was more effective in the control of mastitis.

**Keywords:** antimicrobial intrammary, mastitis, dry period, sealant, treatment

**LISTA DE ABREVIATURAS**

%	Porcentagem
AUT	Automática
ATB	Antibiótico
BEN	balanço energético negativo
°C	grau Celsius
cél/ml	células por mililitro de leite
CCS	contagem de células somáticas
cm <sup>2</sup>	centímetro quadrado
CMS	consumo de matéria seca
CMT	<i>California Mastitis Test</i>
g	Gramma
kg	Quilograma
l	Litro
microlitro	µL
MICRO	Microscópica
ml	Mililitro
mono	Mononuclear
n	Número
polimorfo	Polimorfonuclear
trat	tratamento
UFPR	Universidade Federal do Paraná

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela</b>	<b>Página</b>
1 Exame físico da glândula mamária de vacas leiteiras do grupo controle (G1), tratado com antimicrobiano (G2) ou com selante (G3) intramamário em diferentes momentos durante o período de transição .....	26
2 Proteína, sólidos, lactose, gordura e uréia (média ± erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição nos animais do grupo controle (G1) , do grupo tratado com antimicrobiano (G2) e do grupo tratado com selante (G3) .....	27
3 Contagem de células somáticas (CCS) automática e microscópica (média ± erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição em animais do grupo controle, do grupo tratado com antimicrobiano e do grupo tratado com selante .....	28
4 Contagem diferencial em células mononucleares e polimorfonucleares (média ± erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição em animais do grupo controle, do grupo tratado com antimicrobiano e do grupo tratado com selante .....	29
5 Valores do CMT ( <i>California Mastitis Test</i> ) (média ± erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição nos animais do grupo controle, do grupo tratado com antimicrobiano e do grupo tratado com selante .....	30

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura</b>		<b>Página</b>
1	Frequência (%) de vacas positivos no teste da caneca de fundo escuro apresentados por vacas sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem .....	25
1	Frequência (%) de vacas positivos no teste da caneca de fundo escuro apresentados por vacas sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem .....	45
2	Frequência (%) de ocorrência de animais positivos para o teste <i>California Mastitis Test</i> (CMT) apresentado por vacas dos grupos sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem .....	46
3	Frequência (%) de ocorrência de animais positivos para a cultura microbiológica apresentados por vacas nos grupos sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem .....	46

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
INTRODUÇÃO .....	1
REVISÃO DE LITERATURA .....	4
OBJETIVOS .....	10
REFERÊNCIAS .....	11
CAPÍTULO 1- ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LEITE EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDAS A DIFERENTES TIPOS DE TRATAMENTOS PARA MASTITE NO PERÍODO SECO .....	17
RESUMO .....	17
ABSTRACT.....	18
INTRODUÇÃO.....	19
MATERIAL E MÉTODOS .....	22
A. Tratamento dos animais .....	22
B. Avaliação da glândula mamária .....	22
C. Avaliação do leite .....	23
C.1. Teste da caneca de fundo escuro e <i>California Mastitis Test</i> (CMT)...	23
C.2. Contagem de células somáticas microscópica .....	23
C.3. Determinação dos constituintes do leite e CCS automática .....	24
D. Análise estatística .....	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
CONCLUSÕES .....	31
REFERÊNCIAS .....	31
CAPÍTULO 2- DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DA MASTITE BOVINA EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDAS A DOIS TIPOS DE TRATAMENTOS INTRAMAMÁRIOS DURANTE O PERÍODO SECO.....	37
RESUMO .....	37
ABSTRACT .....	38
INTRODUÇÃO .....	39
MATERIAL E MÉTODOS .....	42
A. Grupos Experimentais .....	42

B. Amostras e avaliações .....	43
B.1. Avaliação da glândula mamária .....	43
B.2. Avaliação do colostro/leite .....	43
B.2.1. Teste da caneca de fundo escuro e <i>California Mastitis Test</i> ...	43
B.2.2. Isolamento bacteriano .....	44
C. Análise estatística .....	44
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	44
CONCLUSÕES .....	48
REFERÊNCIAS .....	48
APÊNDICES .....	52
Apêndice A- Determinação dos efeitos referentes aos momentos de colheita, aos diferentes tratamentos e a respectiva interação entre os dois efeitos (tratamento X tempo), na celularidade do leite .....	53
Apêndice B- Determinação dos efeitos referentes aos momentos de colheita, aos diferentes tratamentos e a respectiva interação entre os dois efeitos (tratamento X tempo), nos componentes físico-químicos do leite.....	54

## **USO DE ANTIMICROBIANO OU DE SELANTE INTRAMAMÁRIO COMO MEDIDA PREVENTIVA CONTRA MASTITE BOVINA NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO**

### **INTRODUÇÃO**

A pecuária leiteira é uma das atividades mais tradicionais do meio rural brasileiro e de acordo com o último censo agropecuário existem no Brasil aproximadamente 5,2 milhões de estabelecimentos rurais dos quais 25% (aproximadamente 1,35 milhões) produzem leite, envolvendo cerca de cinco milhões de pessoas (IBGE, 2006; ZOOCAL et al., 2008). O valor bruto da produção de leite em 2013 foi de R\$ 22,9 bilhões e contribuiu para movimentar a economia das pequenas e médias cidades brasileiras (BRASIL, 2014).

Apesar da produção de leite no país superar 32 bilhões de litros por ano, a produtividade do rebanho nacional é baixa, cerca de 1.471 litros/vaca/ano (IBGE, 2013). As estatísticas sociais apontam que, atualmente, no Brasil 8,5% dos estabelecimentos de produção (cerca de 115.000 produtores) são responsáveis por 53,1% do leite produzido no país. Ou seja, a grande maioria dos produtores de leite (91,5%) possuem rebanhos que produzem apenas 46,9% do leite brasileiro (IBGE, 2011). As principais razões para essa baixa produtividade incluem a utilização de animais sem aptidão para produção de leite ou com potencial genético inadequado; manejo alimentar, reprodutivo e sanitário inadequado; falta de assistência técnica; e baixo nível de instrução dos produtores (57% dos produtores tem pouca instrução) o que dificulta a utilização adequada do estoque de tecnologias disponíveis (IBGE, 2006; BELOTI et al., 2010; CARVALHO et al., 2010).

Dentre os principais problemas sanitários que ocorrem na bovinocultura leiteira, as doenças associadas com falhas no manejo dos animais são talvez as mais importantes. Mastites, doenças da reprodução e dos dígitos são os principais exemplos desses problemas (VAZ et al, 2001; RIBEIRO et al. 2003).

Apesar do desenvolvimento de diversas estratégias de controle e prevenção, a mastite continua sendo a doença mais prejudicial à atividade leiteira, pois além dos animais, afeta também os produtores, indústria e o consumidor final (HUIJPS et al., 2008). A mastite caracteriza-se por uma inflamação da glândula mamária,

geralmente de caráter infeccioso e pode ser classificada como clínica ou subclínica. A mastite clínica implica na existência de manifestações evidentes de inflamação na glândula mamária e alterações macroscópicas no leite. Além das modificações no aspecto normal do leite, pode ocorrer comprometimento sistêmico como febre elevada, alteração na frequência cardíaca e respiratória, ausência de movimentos ruminais (HARMON, 1994; FONSECA e SANTOS, 2000).

Na forma subclínica, também conhecida como inaparente, não se observam manifestações visíveis de inflamação do úbere, mas há alterações na composição e na celularidade do leite (CULLOR et al., 1994; HARMON, 1994; SANTOS e FONSECA, 2007).

A doença implica em gastos representados principalmente por 70% de perda devido à redução na produção dos quartos com mastite subclínica; 8% pela perda do leite descartado por alterações e/ou pela presença de resíduos após tratamento; 8% pelos gastos com tratamentos; 14% por morte ou descarte animal ou ainda pela desvalorização comercial do animal, por quartos afuncionais ou atrofiados (COSTA, 1998).

Grandes mudanças adaptativas ocorrem durante a fase final da gestação e o início da lactação. Esta fase é conhecida como período de transição e é constituído por dois estágios, sendo o primeiro formado pelas três últimas semanas que antecedem o parto e o segundo pelas três primeiras semanas pós-parto (GRUMMER, 1995; MOTA et al., 2006). Neste período ocorrem mudanças no estado fisiológico da vaca a fim de preparar a vaca para o parto e lactogênese. O principal desafio enfrentado pelas vacas é o aumento expressivo na demanda de nutrientes para produção de leite associado ao baixo consumo de matéria seca (CMS) (LAGO et al., 2004).

Essa transição metabólica ocorre gradualmente e envolve alterações no fígado, tecido adiposo, músculo esquelético, secreções e ação de muitos hormônios, envolvidos no parto e lactação, passando assim de um período seco para um produtivo (HEAD e GULAY, 2001).

A incapacidade de ingestão de nutrientes da dieta para suprir as exigências no início da lactação até o pico de produção é conhecido como balanço energético negativo (BEN). O tempo médio de duração do BEN é de aproximadamente cinco semanas, mas a duração deste período é evidentemente afetada por inúmeros fatores, particularmente o volume de leite produzido (LAGO et al., 2004). A rápida

adaptação da vaca ao BEN durante o início da lactação proporciona saúde e produtividade, enquanto que a baixa adaptação pode favorecer o surgimento de doenças como a cetose, deslocamento de abomaso, e retenção de placenta, incluindo a diminuição da produção leiteira (DRACKLEY, 1999).

Para realizar a transição entre lactações é realizado o período seco entre duas lactações. No período seco, a vaca sofre completa involução da glândula mamária e a suspensão temporária da atividade leiteira. A produção de leite será posteriormente retomada com a influência hormonal do final da gestação e do parto (SANTOS, 2003).

Os medicamentos utilizados para tratamento de vacas no período seco são conhecidos por sua eficácia na secagem da glândula mamária e por sua ação contra o agente infeccioso (SHEPHARD et al., 2004; BANSAL et al., 2005). Entretanto essa eficácia não necessariamente está relacionada à forma como esses agentes atuam na atividade das células de defesa da glândula (NICKERSON, 1994), ainda mais quando se considera a diversidade do período seco (HURLEY, 1989; SANTOS, 2003). Apesar de a cura da mastite depender da associação de fatores inerentes ao animal, ao patógeno e ao medicamento (COSTA, 2006), ainda é incomum que o conjunto seja avaliado, principalmente quanto ao hospedeiro (CRISPIE et al., 2004; BARKEMA et al., 2006).

Desta forma, a melhor compreensão dos mecanismos que levam a maior susceptibilidade a infecções intramamárias, assim como a escolha correta de medidas preventivas para o controle da mastite, pode levar a redução dos custos relacionados a esta enfermidade (JAVORSKI e LUZ, 2011).

## REVISÃO DE LITERATURA

Atualmente, considera-se que a glândula mamária bovina produz mais leite que o necessário para a cria, devido à pressão de seleção para animais de alta produção e aos avanços tecnológicos no manejo de produção e ordenha. Tais interferências que por outro lado, levaram à maior demanda metabólica, especialmente no final da gestação e início da lactação, resultando no aparecimento de desordens metabólicas e alterações nos principais mecanismos de defesa da glândula mamária, que podem levar ao aumento da incidência da mastite nesta fase (SORDILLO et al., 1997; SORDILLO e STREICHER, 2002).

A mastite é o processo inflamatório da glândula mamária que afeta, qualitativa e quantitativamente, a produção de leite (HUIJPS et al., 2008). Observa-se redução no teor de lactose, caseína, gordura, cálcio e fósforo e aumento nas imunoglobulinas, cloretos e lipases, sendo a última responsável pela rancificação do leite, desenvolvimento de altos níveis de ácidos graxos livres devido a lipólise e transmissão de sabor rançoso nos produtos lácteos, tornando-os sensorialmente inaceitáveis (SANTOS, 2003). Com estas alterações, o leite pode tornar-se impróprio para o consumo e para a produção de derivados (MARQUES, 2003; CASSOL, 2010).

Os dados dos laboratórios que compõem a Rede Brasileira de Laboratórios de Análise da Qualidade do Leite (RBQL) têm demonstrado que a contagem de células somáticas (CCS) continua elevada no leite produzido em diferentes regiões do país (ESTEVEZ et al., 2010). O termo células somáticas do leite é utilizado para designar todas as células presentes no mesmo, incluindo macrófagos, linfócitos e neutrófilos e as células de descamação do epitélio glandular secretor (PAAPE, 1963). No entanto, em uma glândula mamária infectada, as células de defesa correspondem a 99% das células encontradas no leite (JORGE et al, 2005). Desse modo, a contagem de células somáticas (CCS) atua como indicador inflamatório da presença de infecção intramamária em bovinos (MACHADO et al., 2000; DELLA LIBERA et al., 2011).

Para o produtor, altas CCS significam menor retorno econômico, em decorrência da redução na produção, dos gastos com medicamentos e também das penalidades aplicadas pelos laticínios. Para a indústria, significam problemas no

processamento do leite e redução no rendimento, em razão dos teores inferiores de caseína, gordura e lactose, que resultam em produtos de baixa qualidade e estabilidade na mesa do consumidor (FONSECA e SANTOS, 2000; SANTOS, 2002; COLDEBELLA et al., 2004).

A redução na produção de leite durante as mastites da intensidade do processo inflamatório e do estágio de lactação em que ocorre a infecção, podendo alcançar perdas de 10 a 20% do total da produção (MARQUES, 2003; CANI e FRANGILO, 2008).

As principais perdas decorrentes das mastites (70 a 80%) são causadas pelas mastites subclínicas que, embora não apresentem sinais evidentes de inflamação, diminuem a síntese do leite. Os casos clínicos provocam o restante das perdas (WALCHER, 2011). Rebanhos que apresentem contagem de células somáticas (CSS) entre 200 e 500 mil/ml de leite podem perder até 8% do seu potencial de produção leiteiro em decorrência das mastites. Contagens superiores a 500 mil células/ml de leite podem acarretar perdas da ordem de 25% (COLDEBELLA et al., 2004).

Além desses prejuízos a mastite representa risco em potencial à saúde do consumidor. A possibilidade de desencadear fenômenos alérgicos em indivíduos sensíveis, os efeitos tóxicos decorrentes das alterações no leite por alterações no equilíbrio da microbiota intestinal e pela seleção de bactérias resistentes no trato digestório decorrentes do uso de antibióticos são outros riscos, aos quais os consumidores são expostos se consumirem leite oriundo de animais acometidos por essa enfermidade (CASSOL, 2010). Outro fator importante para a saúde pública é o fato de que mais de 25% do leite produzido no Brasil não é industrializado em estabelecimentos sob algum tipo de fiscalização oficial, podendo ser consumido sem nenhum tratamento térmico ou controle laboratorial (PANETTA, 2000). O comércio informal de leite é uma grande ameaça à saúde pública visto que, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), dezesseis doenças bacterianas e sete viróticas são veiculadas pelo produto, dentre elas a tuberculose, a brucelose e gastroenterites, sendo esta uma grave consequência da baixa qualidade do leite proveniente do mercado informal (MENDES et al., 2010).

Nos bovinos leiteiros existe a necessidade da glândula mamária ser submetida a um período de descanso entre duas lactações, pois, sem este período, há uma sensível redução da produção na lactação seguinte (FOLEY et al., 1972;

OLIVER e SORDILLO,1988). Sendo considerada uma fase preparatória, quando o animal é induzido a cessar sua produção para assegurar o desenvolvimento do feto, promover a síntese de colostro e regenerar os tecidos da glândula mamária para a próxima lactação (DINGWELL et al., 2003). O procedimento para a secagem dos animais consiste no fornecimento de dietas menos energéticas seguida da suspensão da ordenha por algumas semanas antes do parto (BIRGEL et al., 2009). A não retirada do leite produzido pela glândula mamária desencadeia o processo fisiológico de sua involução, com drástica redução da produção de leite e sua reabsorção evidenciada por alterações nas características físico-químicas e celulares da secreção (SMITH e TODHUNTER, 1982).

Durante o período seco a vaca sofre completa involução da glândula mamária, que, posteriormente, sob influência hormonal do final da gestação e do parto, reinicia a síntese de leite. Esta fase representa também uma excelente oportunidade para o tratamento de infecções intramamárias existentes e para a prevenção de novas infecções que afetam negativamente a produção leiteira da lactação subsequente (SANTOS, 2003).

Esse período é dividido em três fases: período de involução ativa, período de involução constante e período de lactogênese ou colostrogênese. O período de involução ativa se inicia logo após a última ordenha, dura cerca de trinta dias e tem por principais fatores desencadeantes a interrupção da ordenha e o aumento da pressão intramamária. Essas alterações tornam a glândula mais susceptível à instalação de infecções. Quartos infectados na secagem ou durante o período seco apresentam maiores contagens de células somáticas do que quartos não infectados (SMITH e TODHUNTER, 1982; HURLEY, 1989).

Após este período, inicia-se a fase de involução constante, que não apresenta limites de duração, depende apenas da extensão do período seco e corresponde ao estágio em que a glândula está completamente involuída. Entre os três períodos, este apresenta menor incidência de infecção (NICKERSON, 1994).

A fase de colostrogênese ou lactogênese ocorre ao final da gestação, por influência hormonal, com início de quinze a vinte dias pré-parto. Ao contrário do estágio de involução ativa, este período caracteriza-se pela regeneração e diferenciação das células epiteliais secretoras e pelo transporte seletivo e acúmulo de imunoglobulinas para a formação do colostro, diminuição da concentração da

lactoferrina e leucócitos. Assim, cresce a susceptibilidade a novas infecções intramamárias (HURLEY, 1989).

Em virtude do aumento da susceptibilidade a infecções no início do período seco e no começo da lactação subsequente, alguns protocolos de tratamento para esse período têm sido estudados. Esta fase representa também uma excelente oportunidade para o tratamento de infecções intramamárias existentes e para a prevenção de novas infecções que afetam negativamente a produção leiteira da lactação futura (BATISTA et al., 2009).

A terapia da vaca seca no final da lactação é uma das medidas mais importantes e recomendadas para prevenção de novas infecções intramamárias (IMI) durante o período seco (SANTOS, 2003). Essa prática consiste na aplicação de antibiótico intramamário de longa ação em cada teto no dia da secagem da vaca (BIRGEL et al., 2009). A ocorrência de mastite durante este período está ligada a outros fatores como nível de produção de leite no momento da secagem, condição dos tetos e nível de contaminação ambiental dos tetos (BHUTTO et al., 2011).

Com o uso de antibióticos na terapia da vaca seca, o objetivo é alcançar altas concentrações de antibiótico no úbere, resultando em uma rápida eliminação de patógenos existentes, seguido por um período prolongado de liberação do antibiótico para prevenir novas infecções intramamárias (GREEN et al., 2002). As formulações para vacas secas, usando doses mais elevadas de antibióticos em meios mais oleosos ou em veículos de depósito, são projetados para a produção de intervalos prolongados de concentrações antibióticas efetivas (SMITH e HOGAN, 1993).

A função primária da terapia da vaca seca era o tratamento de infecções intramamárias existentes, entretanto mais recentemente passou a ser a prevenção de novas infecções intramamárias (HASSAN et al., 1999; LESLIE, 2004), assim como cresceu a preocupação quanto ao desenvolvimento de estratégias mais voltadas para a prevenção das infecções adquiridas no pré-parto, período em que esta terapia não tem se mostrado eficaz. Como os antibióticos atualmente disponíveis para uso em vacas secas não persistem completamente por todo o período seco (DINGWEL et al., 2003), a terapia com antibióticos à secagem não é efetiva na prevenção de novas infecções intramamárias que ocorrem próximo ao parto e tratamentos múltiplos de antibióticos para vacas não-lactantes durante o período seco não aumentam a efetividade do tratamento (NICKERSON, 1998).

A ação das células envolvidas no período de secagem tem fundamental importância para a involução da glândula mamária e seu restabelecimento para a lactação subsequente. O êxito do tratamento não depende somente da sensibilidade do agente infeccioso ao antimicrobiano, mas também da interação hospedeiro-parasita, das condições do hospedeiro e correspondente mecanismo de defesa (BENESI et al., 2010). Desta forma, dentre as medidas preventivas no controle desta enfermidade neste período, a terapia de vaca seca é adotada como uma estratégia para o controle da mastite (BRADLEY et al., 2009), que objetiva diminuir o número de quartos mamários contaminados na lactação subsequente, eliminar infecções intramamárias existentes e impedir novas infecções durante o período em que a vaca permanecer seca (SANTOS, 2002).

Uma ferramenta alternativa, para a prevenção da mastite no período de secagem de vacas leiteiras é o uso de selante interno de teto, consiste em um sal inorgânico pesado à base de subnitrato de bismuto tendo a parafina como veículo (DINGWELL et al., 2003). O selante interno consiste em um sal inorgânico pesado, a base de subnitrato de bismuto em uma base de parafina, é um composto inerte e o bismuto já é correntemente utilizado em muitos processos industriais, farmacêuticos e cosméticos (EMEA, 1999). Atuam evitando o acesso físico das bactérias ambientais aos tetos das vacas durante o período seco, mimetizando a defesa natural do tampão de queratina (ERSKINE et al., 2003). Quando infundidos assepticamente logo após a última ordenha, bloqueiam imediatamente o canal do teto por se infiltrar nas fissuras do canal e da cisterna do teto, mantendo-o fechado por todo o período seco (O'ROURKE, 2005). O selante é uma substância insolúvel em leite, não tem propriedades antimicrobianas e não oferece riscos a segurança alimentar (BHUTTO et al., 2011).

A correta identificação das espécies bacterianas que causam a mastite bovina é de importância não apenas no aspecto clínico, mas também no biotecnológico, epidemiológicos e em estudos ambientais (REIS et al., 2003). O diagnóstico da mastite pode ser realizado a partir de testes individuais ou por meio de testes do leite do tanque, quando a finalidade é verificar o nível da doença no rebanho. Entre os testes individuais para detecção da mastite clínica tem-se o exame das características físicas do leite (RADOSTITS et al., 2002). Este método auxilia na visualização do aspecto do leite, por meio da utilização da caneca de fundo preto nos primeiros jatos de leite antes da ordenha (SANTOS e FONSECA, 2007). Este

teste além de permitir a detecção de anormalidades no leite como grumos, secreção purulenta e sangue, auxilia também 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 (RIBEIRO et al., 2003).

Quando se pretende diagnosticar a mastite subclínica é necessária a utilização de exames complementares baseados no conteúdo celular do leite. O método mais simples, conhecido como *California Mastitis Test* - CMT. É um teste prático, barato, pode ser realizado ao lado dos animais e fornece resultados imediatos para o diagnóstico da mastite subclínica. Seu princípio baseia-se na contagem de células somáticas no leite. O resultado do teste é avaliado em função do grau de gelatinização ou viscosidade da mistura de partes iguais de leite e reagente (DIAS, 2007). Outra alternativa para avaliação da mastite subclínica é a contagem de células somáticas (CCS), que pode ser realizada por método direto com o uso de microscópio ou contadores celulares eletrônicos (SILVA, 2003).

Segundo Santos e Fonseca (2007), o leite de um quarto não infectado apresenta CCS menor que 100.000 cél/mL, enquanto a CCS de um quarto infectado é geralmente superior a 200.000 cél/mL, o que indica a ocorrência de mastite subclínica ou que o quarto está se recuperando da infecção. Deve-se lembrar que não só a mastite causa aumento de células somáticas no leite, mas 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 este aumento (BROOM e FRASER, 2010).

O isolamento microbiológico do patógeno em amostra de leite é considerado o método diagnóstico padrão para a mastite, pois ao identificar o agente causador da mastite há mais sucesso na prescrição do tratamento ou na indicação de descarte. A coleta e cultura de amostras de leite provenientes de vacas acometidas de mastite é a melhor maneira para se determinar quais microrganismos estão causando a doença em determinado animal ou no rebanho (SANTOS e FONSECA, 2007).

## **OBJETIVOS**

O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência da mastite no período de transição, bem como avaliar a adoção de medidas de controle da mastite dada pela terapia de vaca seca e verificar a eficiência do uso de selantes internos de tetos na incidência da mastite no período pós-parto.

## REFERÊNCIAS

- BANSAL, B. K.; DHALIWAL, P. S.; BAJWA, N. S.; RANDHAWA, S. S. Role of selective dry cow therapy in prevention of mastitis in dairy herds with high disease prevalence. In: \_\_\_\_\_. **Mastitis dairy production: current knowledgran future solutions**. WageningenPers: Maastricht, 2005. p. 697-702.
- BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H.; ZADOKS, R. N. Invited review: the role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. **Journal of Dairy Science**, n. 89, p. 1877-1895, 2006.
- BATISTA, C. F.; BLAGITZ, M. G.; AZEDO, M. R.; STRICAGNOLO, C. R.; DELLA LIBERA, A. M. M. P. Efeito de medicamentos indicados para tratamento de mastite bovina no período seco sobre os índices de fagocitose. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 574-580, 2009.
- BELOTI, V.; MÁXIMO, R. A.; ARAÚJO, J. P. A.; MARTINS, V. S.; SHECAIRA, C. L.; YAMADA, A. K.; TAMANINI, R.; DIEKMANN, M.; SILVA, R. S. Qualidade microbiológica e contagem de células somáticas do leite de pequenos produtores da região de Ivaiporã/PR. IV Congresso Brasileiro de qualidade do leite, 2010. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2010.
- BENESI, A. Q.; HARTMAN, M.; AZEDO, M. R.; BATISTA, C. F.; BLAGITZ, M. G.; BENESI, F. J.; DELLA LIBERA, A. M. M. P. Efeito de medicamentos indicados para a prevenção da mastite bovina no período seco sobre a função fagocítica *in vitro* de leucócitos do leite de caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 385-388, 2010.
- BIRGEL, D. B.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; POGLIANI, F. C.; RAIMONDO, R. F. S.; BIRGEL, E. H.; ARAÚJO, W. P. Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça holandesa: Avaliação das características microbiológicas da secreção láctea durante o período seco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.517-522, out./dez., 2009.
- BRADLEY, A. J.; BREEN, J. E.; PAYNE, B.; WILLIAMS, P.; GREEN, M.J. The use of a cephalonium containing dry cow therapy and an internal teat sealant both alone and in combination. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1566-1577, 2009.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Assessoria de Gestão Estratégica**. Valor Bruto da Produção. 2014.
- BROOM, D. M.; FRASER, A. F. **Comportamento e bem-estar de animais domésticos**. 4ª ed. São Paulo: Manole, 2010. p. 438.
- BHUTTO, A. L., MURRAY, R. D., WOLDEHIWET, Z.; The effect of dry cow therapy and internal teat-sealant on intra-mammary infections during subsequent lactation. **Research in Veterinary Science**, p. 316-320, 2011.

CANI, P. C.; FRANGILO. R. F. **Como produzir leite de qualidade**. Vitória, ES: ACPLES/ Seag- ES, 2008. p. 36.

CARVALHO, G. L. O.; SILVA, J. A.; OLIVEIRA, E. F.; LOPES JÚNIOR, J. E. F.; FARIA, C. G., VICENTINI N. M.; SOUZA G. N. Avaliação dos componentes do leite e contagem de células somáticas de rebanhos bovinos localizados na microrregião de Ji- Paraná, Rondônia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2010. Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, SC, 2010.

CASSOL, D. M. S.; SANDOVAL, G. A. F.; PERICOLE, J. J.; GIL, P. C. N.; MARSON, F. A. Introdução agentes da mastite diagnóstico e tratamento. **A Hora Veterinária**, São Paulo, a. 29, n. 175, maio/jun. 2010.

COLDEBELLA, A.; MACHADO, P. F.; CLARICE, G. B.; DEMETRIO, C. G. B.; RIBEIRO JUNIOR, P. J.; MEYER, P. M.; CORASSIN, C. H.; LAERTE, D.; CASSOLI, L. D. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Revista brasileira de Zootecnia**. Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 623-234, 2004.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista da Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v. 1, p. 3-7, 1998.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 501-515.

CRISPIE, F; FLYNN, J; ROSS, R.P; HILL, C; MEANEY, W.J. Dry cow therapy with a non-antibiotic intramammary teat seal: a review. **Irish Veterinary Journal**, v. 57, n. 7, p. 412-418, 2004.

CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: \_\_\_\_\_ **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais**. São Paulo, v.2, p. 1041-1060, 1994.

DELLA LIBERA, A. M. M. P.; SOUZA, F. N.; BLAGITZ, M. G.; BATISTA, C. F. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico da mastite bovina. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n.2, p.297-300, 2011.

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinaria Brasilica**, Mossoró, v. 1, n. 1, p. 3-27, 2007.

DINGWELL, R. T.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Management of dry cow in control of peripartum disease and mastitis. **The Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 19, p. 235-265, 2003.

DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v. 82, p.2259-2273, 1999.

EMA – The European Agency for the Evaluation of Medical Products. Veterinary Medicines Evaluation Unit. **Bismuth Subnitrate. (Extension to intramammary administration)**. Summary Report (2). Oct. 1999.

ERSKINE, R. J.; WAGNER, S.; De GRAVES, F. J. Mastitis therapy and pharmacology. **The Veterinary Clinics Food Animal– Food Animal Practice**. v.19, n.1, p.109-138, 2003.

ESTEVES, E. G.; CARVALHO, E. C.; COELHO, F. S. Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite. Resultados analíticos. In: **IV CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, Florianópolis, 2010.

FOLEY, R.C.; BATH, D.L.; DICKINSON, F.N.; TUCKER, H.A. **Dairy Cattle: principles, practices, problems, profits**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1972. 693p.

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

GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; SCHUKKEN, Y.H.; BRADLEY, A. J. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 85, p. 2589-2599, 2002.

GRUMMER, R. R. Impact of changes organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v.77, n.7, p.2103-2113, 1994.

HASSAN, Z.; DANIEL, R. C. W.; O'BOYLE, D. O.; FROST, A. J. Effects of dry cow intramammary therapy on quarter infections in the dry period. **Vet. Rec**, v.145, p.634-639. 1999.

HEAD, H. H.; GULAY, M. S. Recentes avanços na nutrição de vacas no período de transição. In: Simpósio Internacional de Bovinocultura de Leite: Novos conceitos em nutrição, 2001, Lavras. **Anais...** Lavras, 2001.

HUIJPS, K.; LAM, T. J. G. M.; HOGVEEN, H. Costs of mastitis: facts and perception. **Journal of Dairy Research**, v.75, p.113-120, 2008.

HURLEY, W. L. Symposium: Mammary gland function during involution and the declining phase of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1637- 1646, 1989.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário 2006.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Tabulações especiais do censo Agropecuário 2006. Rio de Janeiro, RJ, 2011.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística Pesquisa Pecuária Municipal, 2013.

JAVORSKI, R. C.; LUZ, A. G. **Mastite Importância e Diagnóstico através de cultura e antibiograma do leite**. 39f. Monografia (Especialização em Produção de Leite)- Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde, Universidade Tuiuti do Paraná, Cascavel, 2011.

JORGE, M. A.; ANDRIGHETTO, C.; STRAZZA, B. R. M.; CORREA, C. R.; KASBURGO, G. D; PICCININ, A.; DOMINGUES, V. F. P. C. Correlação entre o *California Mastitis Test* (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2039-2045, 2005.

LAGO, P. A.; COSTA, D. P. A.; PIRES, V. A.; SUSIN, I.; FARIAS, P. V. Parâmetros metabólicos em vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 11, n. 1/2, p. 98-103, jan./ago. 2004.

LESLIE, K. E. New concepts on Bovine Mastitis Control. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v.29, n.6, p.1883-1886, 2000.

MARQUES, D.C. **Criação de bovinos**. Belo Horizonte: CVP Consultoria Veterinária e Publicações, 7° ed., p.586, 2003.

MENDES, G. C.; SAKAMOTO, M. S.; SILVA, A. B. J.; JÁCOME, M. G. C.; LEITE, I. A. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v. 11, n. 2, p. 349-356, abr./jun. 2010.

MOTA, M. F.; NETO A. P.; SANTOS, G. T.; FONSECA, J. F.; CIFFONI. E. M. G. Período de transição na vaca leiteira. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, Umuarama, v.9, n.1, p. 77-81, jan./jun., 2006.

NICKERSON, S.C. Bovine mammary gland: structure and function; relationship to milk production and immunity to mastitis. **Agri-Pratice**, v. 15, n .6, p. 8-18, 1994.

OLIVER, S.P.; SORDILLO, L. M. Udder health in the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 9, p.2584-2606, 1988.

O'ROURKE, D. Assessment of cows for use of a non antimicrobial dry cow product. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.1256-1260, 2005.

PAAPE, M.J., BANNERMAN, D.D., ZHAO, X., LEE, J.-L. The bovine neutrophil: structure and function. **Veterinary Research**, v.34, p.597-627, 2003.

PANETTA, J. C. Clandestinidade ameaça cadeia produtiva de alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, p. 3, 2000.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCUFF, K. W. **Clínica veterinária – Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

REIS, S. R.; SILVA, N.; BRESCIA, M. V. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 6, p. 651-658, 2003.

RIBEIRO, M. E. R.; PETRINE, L. A.; AITA, M. F.; BALBINOTTI, M.; STUMPF, JR. W.; GOMES, J. F.; SCHRAMM R. C.; MARTINS, P. R.; BARBOSA R. S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.9, n.3, p.287-290, jul./set. 2003.

SANTOS, M. V. Efeitos da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, p. 179-188, 2002.

SANTOS, M. V. Importância do período seco no controle da mastite. In: INTERLEITE – **Simpósio Internacional de Produção Intensiva de Leite**, n. 6, 2003. Piracicaba, SP. **Anais...** São Paulo: Piracicaba, v.1, p.136-148, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1º ed. Barueri: Manole, 2007, p.314.

SHEPHARD, R. W.; BURMAN, S.; MARCUN, P. A comparative field trial of cephalonium and cloxacillin for dry cow therapy for mastitis in Australian dairy cows. **Australian Veterinary Journal**, v. 82, n. 10 p. 624- 629, 2004.

SILVA, N. **Doença da glândula mamária**. In: MARQUES, D. C. Criação de Bovinos. 7º ed. Belo Horizonte: CVP – Consultoria Veterinária e Publicações, 2003. p. 435-451.

SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. Environmental mastitis. In: ANDERSON, K.L. Update on Bovine Mastitis. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v. 9, n. 3, p. 489-497, 1993.

SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A. The physiology of mammary glands during the dry period and the relationship to infection. In: \_\_\_\_\_ ANNUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 21, 1982, Louisville, Proceedings. Kentucky: N.M.C., 1982. p. 87-100.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Immunobiology of themammary gland. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.

SORDILLO, L.M.; STREICHER, K.L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.135-146, 2002.

VAZ, A. K., PATERNO, M. R.; MARCA, A. Avaliação de uma vacina estafilocócica como auxílio à antibioticoterapia de mastite subclínica durante o período de lactação. **A hora Veterinária**, Porto Alegre, n124. p. 68-70, Nov. 2001.

WALCHER, U. **Mastite bovina revisão de literatura**- Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Faculdade de Medicina Veterinária- Porto Alegre, 2011. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/handle/10183/72423>>. Acesso em 17/03/2015.

ZOCCAL, R.; CARNEIRO, A. V.; JUNQUEIRA, R. ZAMAGNO, M. A nova pecuária leiteira brasileira. In: **III CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DE LEITE**. Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, v.1, p.85-95.

## CAPÍTULO 1 - ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LEITE EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDAS A DIFERENTES TIPOS DE TRATAMENTOS PARA MASTITE NO PERÍODO SECO

### RESUMO

No período seco ocorrem mudanças anatômicas, fisiológicas e metabólicas para muitos sistemas do organismo da vaca, incluindo a glândula mamária. A maior susceptibilidade à infecções intramamárias no início do período seco e no começo da lactação subsequente tem levado ao desenvolvimento de protocolos de tratamentos. Para avaliar a adoção de medidas de controle da mastite, por meio do uso da terapia de vaca seca e do uso de selante interno de tetos durante o período seco, bem como determinar fatores importantes relacionados às alterações que a presença desta infecção pode causar na composição físico-química do leite, 24 vacas multíparas da raça Holandesa, foram divididas em G1 (animais que não receberam nenhum tratamento), G2 (animais que receberam terapia de secagem com antimicrobiano a base de cefalônio anidro) e G3 (animais que receberam selante de tetos a base de subnitrato de bismuto). Houve coleta de leite no dia da secagem (M1), até 12 horas após o parto (M2), sete dias pós-parto (M3), 15 dias após o parto (M4) e 21 dias após o parto (M5) para avaliação de exame dos constituintes do leite- proteínas, lactose, gordura, uréia e sólidos totais; quantificação automática de células somáticas; contagem microscópica de células somáticas e *California Mastitis Test* (CMT). Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a comparação de médias foi feita pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). O tratamento com antibiótico intramamário foi mais eficiente na redução da contagem de células somáticas na lactação subsequente, enquanto o grupo tratado com selante interno de tetos apresentou maior teor nos níveis de gordura no leite.

**Palavras-chave:** antimicrobiano intramamário, glândula mamária, vacas leiteiras, mastite, período de transição, selante

## CHAPTER 1 - ANALYSIS OF PHYSICAL AND CHEMICAL AND MILK SOMATIC CELL COUNT IN DUTCH COWS RACE UNDER DIFFERENT TYPES OF TREATMENT FOR MASTITIS FEATURES IN DRY PERIOD

### ABSTRACT

In the dry period occur anatomical changes, physiological and metabolic for many of the cow's body systems, including the mammary gland. The greater susceptibility to mammary infections in the beginning of the dry period and the beginning of the subsequent lactation has led to the development of treatment protocols. To evaluate the adoption of mastitis control measures, by using dry cow therapy and the use of internal sealing of teats during the dry period, as well as to determine important factors related to the changes that the presence of this infection can cause the physical and chemical composition of milk, 24 multiparous Holstein cows, were divided into G1 (animals that received no treatment) G2 (animals that received antimicrobial therapy drying with anhydrous basis cefalonium) and G3 (animals receiving sealant ceilings bismuth subnitrate base). There was milk collection on drying day (M1) until 12 hours after calving (M2) seven days after calving (M3) 15 days after calving (M4) and 21 days after calving (M5) for examination evaluation of the milk-protein constituents, lactose, fat, urea and total solids; automatic quantification of somatic cells, microscopic counting of somatic cells and *California Mastitis Test* (CMT). The results were submitted to analysis of variance (ANOVA) and the mean comparison was made by Tukey test ( $p < 0,05$ ). The treatment with intramammary antibiotic was more effective in reducing somatic cell counts in the subsequent lactation, while the inner sealant treated group showed higher ceilings content of fats in the milk.

**Keywords:** antimicrobial intrammary, mammary gland, dairy cows, mastitis, transition period, sealant

## INTRODUÇÃO

O leite é um fluido composto por uma série de nutrientes sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores derivados da alimentação e do metabolismo e constitui um alimento rico sob o ponto de vista nutritivo para o homem (SOUZA et al., 1995; BRITO e DIAS, 1998; GONZÁLEZ et al., 2001).

É uma mistura complexa, nutritiva e estável em gordura, proteínas e outros elementos sólidos, que se encontram suspensos na água. A presença e os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a sua qualidade, que por sua vez, é influenciada pela alimentação, genética e a raça do animal (BRITO e DIAS, 1998). Fatores ligados a cada animal, como o período de lactação, o escore corporal ou situação de estresse também devem ser levados em consideração (SOUZA et al., 1995; BRITO e DIAS, 1998; MARQUES et al., 2005). A composição do leite ainda pode variar quanto ao nível de produção, ordem de parto, idade, temperatura ambiental, estação do ano, fatores fisiológicos, patológicos, manejo da ordenha e sanidade (OLIVEIRA, 1986; GONZÁLES et al., 2001).

A qualidade nutricional do leite está estreitamente relacionada com as suas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas. As análises físico-químicas visam avaliar o valor alimentar ou rendimento industrial e ainda detectar possíveis fraudes (GONZÁLES et al., 2001; MARTINS et al., 2006; MUJICA et al., 2006). A quantificação dos teores de gordura, proteína, lactose e sólidos desengordurados permitem avaliar a qualidade nutricional e integridade dos componentes do leite e seus derivados (SANTOS et al., 2001).

Parâmetros relacionados com a qualidade microbiológica do leite são utilizados como critério mínimo para aceitação da matéria-prima por parte da indústria (COSTA, 1991; CABRAL et al, 2012). A implantação de programas de pagamento do leite de acordo com sua qualidade exige a verificação dos parâmetros de normalidade destes constituintes lácteos, que podem estar alterados em vacas com mastite. A mastite compreende uma inflamação na glândula mamária, que pode ter origem infecciosa, geralmente com o envolvimento de agentes bacterianos, que provocam diminuição na qualidade do leite (COSTA, 1991). Esta enfermidade pode se manifestar na forma clínica a qual é caracterizada por alterações visíveis no

quarto mamário e/ou no leite (HARMON, 1994; FONSECA e SANTOS, 2000; PEREIRA et al., 2001), e na forma subclínica onde são necessários exames específicos para a sua identificação, por não ocorrerem mudanças visíveis no aspecto do leite ou úbere (CULLOR et al., 1994; FONSECA e SANTOS, 2000; SANTOS e FONSECA, 2007).

Na mastite subclínica ocorre o aumento do número de células somáticas no leite pela maior passagem de leucócitos do sangue para a glândula mamária, com maior descamação do epitélio lesado (FONSECA e SANTOS, 2000). Adicionalmente durante a mastite ocorre aumento da permeabilidade vascular, que resulta no acréscimo do influxo de componentes do sangue para dentro do leite que origina alterações na composição do leite, principalmente no teor de lactose, gordura e proteína, as lesões nas células epiteliais secretoras da glândula mamária levam a diminuição na secreção de leite (WELLS et al., 1998; FONSECA e SANTOS, 2000; SANTOS, 2003; AIRES, 2010).

Diversos são os fatores que afetam a contagem de células somáticas (CCS), entre eles, o nível de infecção da glândula mamária, o método de amostragem durante a ordenha, a época do ano, o estágio da lactação, idade da vaca e processos irritativos devido às falhas no equipamento e no manejo de ordenha (HARMON, 1994; RANGEL et al., 2009).

A CSS tem o propósito de fazer a avaliação indireta da saúde da glândula mamária, utilizando-se como referência, o aumento na concentração das células de defesa no leite, constituindo-se uma estimativa precisa do nível de infecção do úbere (FONSECA e SANTOS, 2000; MACHADO et al., 2000; SANTOS e FONSECA, 2007). O aumento na CCS é a principal característica utilizada para o diagnóstico da mastite subclínica. Dessa forma, existem vários testes que avaliam o teor de células somáticas do leite, e entre esses testes destaca-se o *Califórnia Mastitis Test* (CMT). O CMT é um dos testes mais populares e práticos para o diagnóstico da mastite subclínica, seu princípio baseia-se na estimativa da contagem de células somáticas no leite. O resultado do teste é avaliado em função do grau de gelatinização ou viscosidade da mistura de partes iguais de leite e reagente, sendo o teste realizado em bandeja apropriada. Os resultados são expressos em escores os quais apresentam correlação com a contagem de células somáticas (BRITO et al., 1997; FONSECA e SANTOS, 2000; DIAS, 2007).

O aumento da CCS está diretamente ligada à perdas econômicas causadas por mastite, mudanças nas propriedades físicas, químicas e organolépticas do leite, propriedade de coagulação, valores de pH e higiene do produto (BARROS e LEITÃO, 1992; SANTOS, 2002; BUENO et al., 2005; SANTOS e FONSECA, 2007).

Devido à complexidade de fatores que afetam a composição natural do leite, foram desenvolvidos vários métodos para avaliar direta e indiretamente a quantidade de células somáticas do leite. Dentre os métodos diretos, tem-se a contagem de células somáticas automática/ eletrônica e microscopia direta, enquanto que a metodologia indireta é realizada através do teste *Califórnia Mastitis Test* (CARDOZO, 1996; GOMES et al., 2006).

A observação de maior susceptibilidade a infecções no início do período seco e no começo da lactação subsequente tem levado ao desenvolvimento de protocolos de tratamento para esse período (BERRY e HILLERTON, 2002). O controle de mastite neste período objetiva diminuir o número de tetos acometidos na lactação subsequente, eliminando infecções intramamárias existentes e impedindo novas infecções durante o período em que a vaca permanecer seca (SANTOS, 2003; CRISPIE et al., 2004; BATISTA, et al., 2009).

Com o objetivo de eliminar microrganismos presentes em quartos mamários no momento da interrupção da ordenha, prevenir novas infecções no período seco e diminuir a prevalência de infecções no retorno da lactação, se recomenda a terapia da vaca seca, utilizando diversas formulações antibióticas de longo espectro e de longo período de atividade (EBERHART, 1986; HASSAN et al., 1999; BERRY e HILLERTON, 2002; BIRGEL, 2009).

Alguns autores indicam o uso de selantes externos de tetos na redução de novas infecções intramamárias no período seco (LESLIE et al., 1999; TIMMS, 2000). Quando aplicados, estes produtos atuam formando um envoltório de látex, acrílico ou outro filme baseado em polímeros, que recobre o teto evitando a penetração de bactérias no canal do teto, mantendo-o fechado por todo o período seco (DINGWELL et al., 2003; ERSKINE, 2003; O'ROURKE, 2005).

Diante do exposto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a contagem de células somáticas e os teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais e uréia presentes no leite bovino em vacas submetidas a diferentes tipos de tratamento para mastite no momento da secagem.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 24 vacas múltiparas da raça Holandesa preto e branca, criadas em sistema semi-intensivo, submetidas à produção de leite do tipo B, com produção média aproximada de 17Kg de leite/vaca/ordenha. Estas foram submetidas a coletas de amostras de leite para a contagem microscópica e automática de células somáticas, *California Mastitis Test* (CMT) e análise das características físico-químicas do leite.

### A. Tratamento dos animais

Aproximadamente 60 dias antes do parto, as vacas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais:

- G1 (grupo controle, n = 8 vacas / 32 quartos mamários): os animais não receberam nenhum tipo de tratamento de secagem;
- G2 (grupo antimicrobiano intramamário, n = 8 vacas / 32 quartos mamários): após a última ordenha antes da secagem, cada animal recebeu uma bisnaga de antimicrobiano intramamário para vaca seca a base de 0,25g de cefalônio anidro em cada quarto mamário;
- G3 (grupo selante, n = 8 vacas / 32 quartos mamários): após a última ordenha antes da secagem, cada animal recebeu 2,6g de selante intramamário a base de subnitrito de bismuto em cada quarto mamário.

Os animais e o leite foram avaliados em cinco momentos: no dia da secagem (M1), até 12 horas após o parto (M2), sete dias após o parto (M3), 15 dias após o parto (M4) e 21 dias após o parto (M5).

### B. Avaliação da glândula mamária

As glândulas mamárias foram examinadas, conforme preconizado por Birgel (2008), seguindo os tradicionais métodos da semiologia, onde foram observados durante a inspeção o formato da glândula mamária e tetos, simetria, aumento ou diminuição do volume do úbere, número de tetos, lesões cutâneas na glândula mamária e tetos. Durante a palpação da glândula mamária, realizada imediatamente

após a ordenha avaliou-se a temperatura, sensibilidade, consistência do úbere e tetos, bem como a palpação da cisterna da glândula (DIRKSEN et al., 1993).

## C. Avaliação do leite

### C. 1. Teste da caneca de fundo escuro e *California Mastitis Test* (CMT)

Foram colhidos os primeiros jatos de leite antes da ordenha para o teste da caneca de fundo escuro. Na sequência, realizou-se o CMT, uma amostra de 2mL de leite de cada quarto foi colocada em uma raquete contendo quatro cavidades, nas quais foram adicionados 2mL de reagente específico para o teste, constituído de hidróxido de sódio (13,5g), púrpura de bromocresol (0,4g), alquil-aril-sulfonato de sódio (1,9g) e água como q.s.p. até 3,8L (BIRGEL, 2008). De acordo com a quantidade de células somáticas do leite, formou-se um gel, de espessura variada. Foram classificados como negativos as amostras de leite que não formaram gel, ou seja, a quantidade de células somáticas foi baixa. De acordo com a espessura do gel, os resultados foram dados em escores, que variaram de traço (leve formação de gel), a + (fracamente positivo), ++ (reação positiva) e +++ (reação fortemente positiva) (SCHALM e NOORLANDER, 1957).

### C.2. Contagem de células somáticas microscópica

A CCS microscópica foi realizada conforme o método descrito por Prescott e Breed (1910) no M1, M2 e M3. Nos momentos restantes foram feitas modificações na técnica de contagem microscópica de células somáticas como realizado por Gomes et al. (2011). Para isso, 10µl de colostro foram diluídos na proporção de 1:1 em PBS em tubos tipo Falcon com capacidade de 5mL e, posteriormente, distribuído em uma área de 1cm<sup>2</sup>, em lâmina de vidro para microscopia, previamente limpa e desengordurada, estas foram confeccionadas em duplicatas. Para as amostras de leite foram realizados os mesmos procedimentos com exceção da diluição em PBS. Após 24 horas de secagem em temperatura ambiente, as lâminas foram imersas em metanol por 15 minutos para fixação e, a seguir, foram coradas pelo corante Panótipo (DELLA LIBERA et al., 2004). Para a avaliação do número de células, os esfregaços de leite corados foram examinados em microscopia de campo claro. A

leitura das lâminas teve o objetivo de realizar a contagem total e diferencial em células mononucleares e em células polimorfonucleares.

### C.3. Determinação dos constituintes do leite e CCS automática

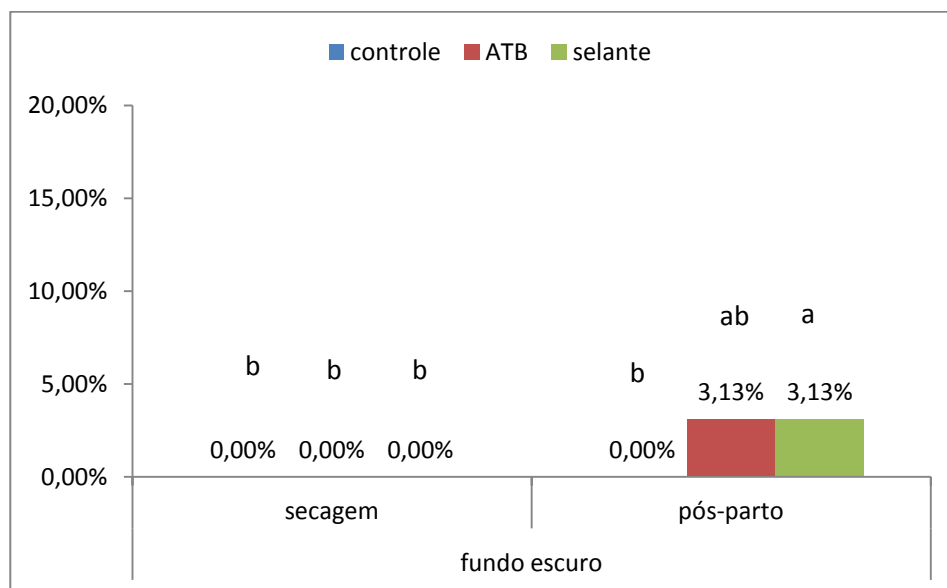
Uma amostra de 50 mL de leite por quarto mamário foi coletada e acondicionada em frascos contendo 2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol. As amostras foram mantidas refrigeradas até o momento de transporte ao Laboratório de Análise de Qualidade de Leite da Rede de Laboratórios de Controle de Qualidade de Leite (RBQL) credenciado ao Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), localizado em Curitiba, para a quantificação automática de células somáticas, gordura, lactose, sólidos totais, proteínas e uréia. Cada amostra foi enviada até, no máximo, 5 dias após a coleta.

### D. Análise estatística

As variáveis contínuas (composição físico-química do leite, CMT, CCS microscópica e automática) foram apresentadas como média  $\pm$  erro padrão da média (média  $\pm$  EPM) e porcentagem (%) para frequência de ocorrência nas variáveis binomiais. A comparação entre as variáveis de acordo com os tratamentos foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA), usando o programa SAS<sup>®</sup> versão 9.3 (SAS/STAT, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). As variáveis-resposta contínuas foram submetidas aos testes de normalidade de resíduos e homogeneidade de variâncias. As variáveis que não obedeceram aos pressupostos foram transformadas em conformidade, de acordo as transformações sugeridas pelo próprio programa. Os 24 animais foram distribuídos entre os três tratamentos de forma inteiramente casualizada. A comparação entre as médias dos grupos dentro de cada tempo (trat/tempo) foi realizada por meio do teste de médias Tukey, por meio do comando *LSMeans* (Least Square Means) do SAS. Para todos os testes realizados foi utilizado o nível de significância de 5%. Os resultados obtidos no exame físico da glândula foram submetidos à análise descritiva.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O edema de úbere no pós-parto é uma situação que pode ser observada em vacas multíparas, este distúrbio da glândula mamária é caracterizado pelo acúmulo excessivo de fluido nos espaços teciduais intercelulares (MARÇAL e VAN WESTERING, 2002). O fato do G1 não ter manifestado alterações no teste da caneca de fundo escuro no pós-parto (Figura 1), embora este grupo tenha apresentado aumento de volume generalizado da glândula mamária durante a palpação no M2 e M4 (Tabela 1) pode ser justificado pelo aparecimento desta alteração fisiológica que em muitos casos ocorre próximo ao parto, podendo persistir por duas a três semanas pós-parto, corroborando com as afirmações de Marçal (2006).



**Figura 1-** Frequência (%) de vacas positivas no teste da caneca de fundo escuro apresentados por vacas sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem.

O aumento de volume generalizado e a maior sensibilidade observada no G2 durante o exame físico da glândula mamária corroboram as informações relatadas por Bradley (2002), visto que este grupo apresentou resultado positivo no teste da caneca de fundo escuro, sendo estas manifestações esperadas em casos de mastite clínica. No entanto o G3 que apresentou resultados positivos no teste da caneca de fundo escuro no pós-parto, não apresentou alterações no exame físico da glândula mamária neste período. Segundo Fonseca e Santos (2000), a forma clínica da mastite é caracterizada por alterações visíveis no leite e/ou úbere, embora em

alguns casos as alterações na glândula mamária possam ou não aparecer dependendo do grau de evolução da doença.

Durante a palpação da glândula mamária e dos tetos observou-se a presença de papilomas no G2 e tetos supranumerários no G2 e G3, sendo estas condições frequentemente encontradas em rebanhos leiteiros (CORRÊA e CORRÊA, 1992).

Tabela 1 - Exame físico da glândula mamária de vacas leiteiras do grupo controle (G1), tratado com antimicrobiano (G2) ou com selante (G3) intramamário em diferentes momentos durante o período de transição:

	G1					G2					G3				
	M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5	M1	M2	M3	M4	M5
Palpação cisterna	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Lesões cutâneas	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Temperatura	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Consistência	2	1	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Formato	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Simetria	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Volume	1	2	1	2	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1
Sensibilidade	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1
Lesões cutâneas	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Temperatura	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Sensibilidade	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Volume	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Número	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Papilomas	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
Tetos supranumerários	2	2	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Sendo: M1- no dia da secagem; M2- até 12 horas após o parto; M3- sete dias pós-parto; M4- 15 dias após o parto; M5- 21 dias após o parto; palpação cisterna: 1- normal, 2- alterado; lesões cutâneas: 1- presente, 2- ausente; temperatura: 1- normal, 2- diminuída, 3- aumentada; consistência: 1- pastosa, 2- firme, 3- dura; Formato: 1- dentro dos padrões de normalidade, 2- fora dos padrões de normalidade; simetria: 1- simétrico, 2- assimétrico; volume: 1- inalterado, 2- pouco alterado, 3- severamente alterado; sensibilidade: 1- normal, 2- aumentada.; lesões cutâneas: 1- presente, 2- ausente; temperatura: 1- normal, 2- diminuída, 3- aumentada; sensibilidade: 1- normal, 2- aumentada; volume: 1- inalterado, 2- pouco alterado, 3- severamente alterado; número: 1- quatro tetos, 2- menos que quatro tetos; papilomas: 1- presente, 2- ausente; tetos supranumerários: 1- presente, 2- ausente.

A média de CCS das amostras de leite coletadas nos momentos 2 e 4 (Apêndice A) foram significativamente elevadas no G1 em comparação com o G2. Em uma pesquisa desenvolvida por Woolford et al. (1998) foram encontrados resultados semelhantes em relação ao grupo controle e o grupo que recebeu antibiótico intramamário, sendo que tais autores utilizaram cloxacilina como antibiótico intramamário.

A glândula mamária é altamente suscetível a novas infecções durante a transição entre lactação - involução da glândula - colostrogênese (BURTON e

ERSKINE, 2003), pois na colostrogênese há elevação da relação citrato:lactoferrina e o citrato serve de substrato para o crescimento bacteriano. Ademais, a capacidade fagocitária está deprimida devido à grande quantidade de gordura que inibe a ação dos leucócitos (FAGUNDES, 2003; BRADLEY e GREEN, 2004).

Dingwell et al. (2003) afirmam que com a aproximação do parto, a secreção de colostro é iniciada e a pressão intramamária aumenta. Ocorre então dilatação do canal do teto, perda do tampão de queratina e extravasamento da secreção, justificando a maior susceptibilidade da glândula nesse período. Além disso, uma série de fatores imunológicos está alterada na vaca no período peri-parto. As defesas celulares são importantes em combater agentes que por ventura ultrapassem as defesas estruturais da glândula mamária, e nesse período, as funções de defesa dos neutrófilos, macrófagos e linfócitos se encontram modificadas (SORDILLO e STREICHER, 2002). Os efeitos do estresse associados à gestação e ao parto mediados via síntese de hormônios estressores como os corticosteróides podem explicar parte da inabilidade imunológica nesse período (WALLER, 2000).

As CCS obtidas no M2 foram maiores no G3 do que no G2 (Tabela 2), estes resultados corroboram os relatos de Huxley et al. (2004), que verificaram que a CCS no pós-parto imediato foi maior nas vacas que receberam o selante. Resultado diferente foi observado por Sanford et al. (2004), que relataram CCS menor que os quartos tratados com antibiótico.

**Tabela 2** – Contagem de células somáticas (CCS) automática e microscópica (média  $\pm$  erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição em animais do grupo controle, do grupo tratado com antimicrobiano e do grupo tratado com selante.

Tempo	CSS AUTOM.			CCS MICRO.		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3
M1	5,69 $\pm$ 0,16 a	5,70 $\pm$ 0,14 a	5,41 $\pm$ 0,17 a	5,88 $\pm$ 0,16 a	5,49 $\pm$ 0,15 a	5,59 $\pm$ 0,13 a
M2	6,01 $\pm$ 0,16 ac	4,82 $\pm$ 0,10 b	5,59 $\pm$ 0,15 c	6,16 $\pm$ 0,13 ac	4,64 $\pm$ 0,12 b	6,05 $\pm$ 0,17 c
M3	5,48 $\pm$ 0,15 ac	4,49 $\pm$ 0,15 b	5,40 $\pm$ 0,15 c	4,77 $\pm$ 0,19 a	3,95 $\pm$ 0,10 b	4,62 $\pm$ 0,15 cb
M4	5,41 $\pm$ 0,16 ac	4,19 $\pm$ 0,12 b	4,98 $\pm$ 0,16 c	4,76 $\pm$ 0,21 a	3,97 $\pm$ 0,14 b	4,41 $\pm$ 0,17 ab
M5	5,27 $\pm$ 0,17 a	4,30 $\pm$ 0,16 b	4,98 $\pm$ 0,15 ab	4,64 $\pm$ 0,21 a	3,92 $\pm$ 0,16 a	4,39 $\pm$ 0,15 a

M1: dia da secagem; M2: até 12 horas após o parto; M3: sete dias pós-parto; M4: 15 dias após o parto; M5: 21 dias após o parto; G1: grupo controle; G2: grupo tratado com antimicrobiano; G3: grupo tratado com selante

a: G1 é diferente G2; b: G1 é diferente G3; c: G2 é diferente G3, segundo Tukey (  $p < 0,05$  )

Huxley et al. (2002) também encontraram resultados semelhantes em seu experimento que visava comparar o efeito profilático do selante interno versus um

antibiótico intramamário de vaca seca de duração prolongada contendo cefalônio administrados na secagem em dois grupos distintos. No parto, o grupo tratado com selante interno teve significativamente menos quartos com novas infecções do que o grupo tratado com o antibiótico.

No momento 2 (dia do parto) quando comparado os tratamentos G1 e G2, as variáveis que tiveram diferença estatística significativa foram a gordura (Tabela 3), CCS automática e microscópica, células mononucleares e polimorfonucleares (Tabela 4) apresentando-se em valores maiores no G1. Na comparação entre G2 e G3 as variáveis que tiveram diferença estatística significativamente maiores foram a gordura, CCS automática e microscópica, células mononucleares e polimorfonucleares e CMT no G3.

**Tabela 3** – Proteína, sólidos, lactose, gordura e uréia (média  $\pm$  erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição nos animais do grupo controle (G1), do grupo tratado com antimicrobiano (G2) e do grupo tratado com selante (G3).

	M1	M2	M3	M4	M5
proteína					
G1	4,57 $\pm$ 0,25 a	8,49 $\pm$ 0,28 a	3,59 $\pm$ 0,06 a	3,15 $\pm$ 0,09 a	2,91 $\pm$ 0,07 a
G2	3,21 $\pm$ 0,09 b	6,22 $\pm$ 0,30 a	3,76 $\pm$ 0,07 a	2,98 $\pm$ 0,08 a	3,04 $\pm$ 0,04 ab
G3	3,89 $\pm$ 0,15 ab	5,45 $\pm$ 0,42 a	3,80 $\pm$ 0,09 a	3,28 $\pm$ 0,07 a	3,18 $\pm$ 0,07 b
sólidos					
G1	13,09 $\pm$ 0,51 a	16,93 $\pm$ 0,96 a	10,16 $\pm$ 0,20 a	9,38 $\pm$ 0,18 a	9,29 $\pm$ 0,15 a
G2	11,66 $\pm$ 0,42 a	15,36 $\pm$ 0,67 a	11,09 $\pm$ 0,34 a	9,96 $\pm$ 0,27ab	9,65 $\pm$ 0,12 a
G3	12,98 $\pm$ 0,26 a	14,47 $\pm$ 0,63 a	10,76 $\pm$ 0,24 a	10,37 $\pm$ 0,18 b	9,58 $\pm$ 0,16 a
lactose					
G1	3,68 $\pm$ 0,13 a	2,92 $\pm$ 0,19 a	4,02 $\pm$ 0,09 a	4,03 $\pm$ 0,08 a	4,22 $\pm$ 0,07 a
G2	4,12 $\pm$ 0,13 a	3,47 $\pm$ 0,09 a	4,36 $\pm$ 0,06 a	4,55 $\pm$ 0,03 b	4,59 $\pm$ 0,06 b
G3	4,01 $\pm$ 0,16 a	3,74 $\pm$ 0,17 a	4,30 $\pm$ 0,06 a	4,60 $\pm$ 0,03 bc	4,60 $\pm$ 0,03 bc
gordura					
G1	3,91 $\pm$ 0,26 a	3,86 $\pm$ 0,39 a	1,71 $\pm$ 0,13 a	1,46 $\pm$ 0,13 a	1,37 $\pm$ 0,09 a
G2	2,24 $\pm$ 0,28 b	1,47 $\pm$ 0,14 b	1,44 $\pm$ 0,14 a	1,09 $\pm$ 0,10 a	1,14 $\pm$ 0,10 a
G3	4,05 $\pm$ 0,23 ac	2,21 $\pm$ 0,16 ac	1,71 $\pm$ 0,18 a	1,59 $\pm$ 0,11 a	0,98 $\pm$ 0,11 a
uréia					
G1	14,23 $\pm$ 0,98 ab	15,83 $\pm$ 2,11 a	16,77 $\pm$ 1,01 a	19,68 $\pm$ 1,35 ab	18,99 $\pm$ 1,26 a
G2	11,40 $\pm$ 1,92 a	19,63 $\pm$ 1,99 a	17,64 $\pm$ 1,08 a	17,48 $\pm$ 1,33 a	18,79 $\pm$ 1,38 a
G3	17,85 $\pm$ 0,44 b	22,47 $\pm$ 1,56 a	26,11 $\pm$ 1,70 b	24,33 $\pm$ 1,18 b	21,80 $\pm$ 0,96 a

M1: dia da secagem; M2: até 12 horas após o parto; M3: sete dias pós-parto; M4: 15 dias após o parto; M5: 21 dias após o parto; G1: grupo controle; G2: grupo tratado com antimicrobiano; G3: grupo tratado com selante

a: G1 é diferente G2; b: G1 é diferente G3; c: G2 é diferente G3, segundo Tukey (  $p < 0,05$  )

**Tabela 4** – Contagem diferencial em células mononucleares e polimorfonucleares (média  $\pm$  erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição em animais do grupo controle, do grupo tratado com antimicrobiano e do grupo tratado com selante.

Tempo	Mono.			Polimorfo.		
	G1	G2	G3	G1	G2	G3
M1	5,66 $\pm$ 0,17 a	5,27 $\pm$ 0,14 a	5,37 $\pm$ 0,12 a	4,47 $\pm$ 0,35 a	4,41 $\pm$ 0,41 a	4,59 $\pm$ 0,36 a
M2	5,83 $\pm$ 0,10 ac	4,52 $\pm$ 0,12 b	5,74 $\pm$ 0,16 c	5,64 $\pm$ 0,24 ac	2,52 $\pm$ 0,41 b	4,90 $\pm$ 0,44 c
M3	4,58 $\pm$ 0,17 a	3,91 $\pm$ 0,10 a	4,49 $\pm$ 0,14 a	3,15 $\pm$ 0,46 a	1,25 $\pm$ 0,34 a	2,91 $\pm$ 0,42 a
M4	4,60 $\pm$ 0,18 a	3,88 $\pm$ 0,12 b	4,27 $\pm$ 0,15 a	3,18 $\pm$ 0,47 a	1,14 $\pm$ 0,37 bc	1,87 $\pm$ 0,45 c
M5	4,45 $\pm$ 0,18 a	3,88 $\pm$ 0,14 a	4,26 $\pm$ 0,13 a	2,70 $\pm$ 0,50 a	0,98 $\pm$ 0,38 a	2,06 $\pm$ 0,43 a

M1: dia da secagem; M2: até 12 horas após o parto; M3: sete dias pós-parto; M4: 15 dias após o parto; M5: 21 dias após o parto; G1: grupo controle; G2: grupo tratado com antimicrobiano; G3: grupo tratado com selante

Mono: células mononucleares; Polimorfo: células polimorfonucleares

a: G1 é diferente G2; b: G1 é diferente G3; c: G2 é diferente G3, segundo Tukey ( $p < 0,05$ )

No momento 3 (7 dias após o parto) tiveram diferença significativa as variáveis CCS automática e microscópica quando comparado G1 e G2, sendo que no G1 os resultados apresentados foram significativamente maiores do que no G2. Na comparação entre G1 e G3 a uréia apresentou diferença estatística maior no G3, no entanto, este resultado foi considerado irrelevante. Na comparação entre G2 e G3 houve diferença estatística somente na CCS automática a qual foi maior no G3.

No momento 4 (15 dias após o parto) durante a comparação entre os tratamentos dos G1 e G2 a lactose apresentou-se estatisticamente maior no G2, já as variáveis CCS automática e microscópica, células mononucleares e polimorfonucleares e CMT (Tabela 5) apresentaram diferença significativamente maiores no G1, nas células mononucleares ocorreu uma pequena diferença estatística. Quando comparado G1 e G3 os constituintes do leite sólidos e a lactose tiveram diferença estatística significativa maiores no G3. Entre os tratamentos do G2 e G3 a uréia e a CCS automática apresentaram maior diferença significativa no G3.

No momento 5 (21 dias pós-parto) quando comparado o G1 e o G2 a lactose teve resultado significativamente maior no G2, a CCS automática foi significativamente mais elevada no G1. Na comparação entre G1 e G3 os constituintes proteína e a lactose tiveram diferença significativa maior no G3.

Com relação à análise da composição físico-química do leite observou-se que no momento 1 (dia da secagem) o G3 apresentou valor maior no teor de gordura que G2 (Apêndice B). Segundo Santos (2003) existe variação quanto ao efeito da mastite sobre a concentração total de gordura do leite. Dessa forma, a concentração

total de gordura do leite é normalmente reduzida no leite com alta CCS quando comparado com o leite normal, uma vez que a mastite interfere na habilidade da glândula mamária de sintetizar a gordura. Ventura, et al. (2006) avaliando a contagem de células somáticas e seus efeitos nos constituintes do leite, verificou que quando ocorria aumento nos valores de CCS acarretava em acréscimo mínimo da porcentagem de gordura. Essa elevação pode ser justificada por infecção na glândula mamária, o que reduz a produção de leite.

No momento 4 (15 dias após o parto) o G3 obteve índices de uréia maiores que o G2. González et al. (2001) afirmam que a composição do leite varia consideravelmente durante a lactação, sendo que as maiores mudanças ocorrem logo após o início da lactação. Schaeffli (2000) relata que além do aumento do número de células somáticas (CCS) no leite, a mastite provoca alterações nos três principais componentes lácteos, como lipídios, proteína e lactose, e que existe uma relação direta entre a CCS e a concentração dos componentes do leite.

O desenvolvimento de pesquisas sobre alternativas para a profilaxia de novas infecções intramamárias no período seco e as alterações que estas podem causar na composição do leite são de grande relevância. A adoção de boas práticas de manejo no período seco é, por tanto justificada, visto a grande importância das infecções intramamárias que se desenvolvem ou persistem nesse período e o grande impacto sobre o leite e a saúde da glândula mamária em geral.

**Tabela 5** – Valores do CMT (*California Mastitis Test*) (média  $\pm$  erro padrão) de amostras de leite coletadas em diferentes momentos durante o período de transição nos animais do grupo controle, do grupo tratado com antimicrobiano e do grupo tratado com selante.

Tempo	G1	G2	G3
M1	2,17 $\pm$ 0,34 a	2,29 $\pm$ 0,24 a	2,82 $\pm$ 0,22 a
M2	1,63 $\pm$ 0,29 ab	0,41 $\pm$ 0,15 ab	2,00 $\pm$ 0,28 c
M3	1,13 $\pm$ 0,24 a	0,34 $\pm$ 0,15 a	0,82 $\pm$ 0,17 a
M4	1,38 $\pm$ 0,26 a	0,19 $\pm$ 0,09 b	0,71 $\pm$ 0,21 a
M5	1,13 $\pm$ 0,28 a	0,25 $\pm$ 0,12 a	0,59 $\pm$ 0,16 a

M1: dia da secagem; M2: até 12 horas após o parto; M3: sete dias pós-parto; M4: 15 dias após o parto; M5: 21 dias após o parto; G1: grupo controle; G2: grupo tratado com antimicrobiano; G3: grupo tratado com selante  
a: G1 é diferente G2; b: G1 é diferente G3; c: G2 é diferente G3, segundo Tukey (  $p < 0,05$ )

## CONCLUSÕES

O tratamento com antibiótico intramamário mostrou ser o mais eficiente na redução da contagem de células somáticas na lactação subsequente. O grupo tratado com selante interno de tetos apresentou maior teor nos níveis de gordura no leite que o grupo que recebeu o antibiótico intramamário.

## REFERÊNCIAS

AIRES, T. A. C. P. **Mastites em Bovinos: caracterização etiológica, padrões de sensibilidade e implementação de programas de qualidade do leite em explorações do Entre-Douro e Minho** (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2010.

BARROS, G. C.; LEITÃO, C. H. Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Porto Alegre, v.12, p.45-48, 1992.

BATISTA, C. F.; BLAGITZ, M. G. ; AZEDO, M. R. ; STRICAGNOLO, C. R. ; DELLA LIBERA, A. M. M. P. Efeito de medicamentos indicados para tratamento de mastite bovina no período seco sobre os índices de fagocitose. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, p. 574-580, 2009.

BERRY, E. A; HILLERTON, J. E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 112-121, 2002.

BIRGEL, E. H. Semiologia da glândula mamária de ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: A arte do diagnóstico**. 2. ed. São Paulo, SP: Roca, 2008. Cap. 8, p. 324-364.

BIRGEL, D. B.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; POGLIANI, F. C.; RAIMONDO, R. F. S.; BIRGEL, E. H.; ARAÚJO, W. P. Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça holandesa: Avaliação das características microbiológicas da secreção láctea durante o período seco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.4, p.517-522, out./dez., 2009.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. 2002. **The Veterinary Journal**, 163.

BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**.v. 20, p. 547-568, 2004.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R.S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do *California Mastitis Test* como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.17, n.2, p.49-53, 1997.

BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. **A qualidade do Leite**. Juiz de Fora: EMBRAPA. São Paulo: Tortuga, 1988. p.88.

BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, p.848-854, 2005.

BURTON, J. L.; ERSKINE, R. J. Immunity and mastitis: some new ideas for an old disease. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**.v.19, p. 1-45, 2003.

CABRAL, J. F.; SILVA, M. A. P.; CARVALHO, T. S.; BRASIL, R. B.; GARCIA, J. C.; MELO, A. F. Relação da composição físico-química do leite com o nível de produção de vacas mestiças. In: **II CONGRESSO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO DO CÂMPUS RIO VERDE DO INSTITUTO FEDERAL GOIANO**. Nov. 2012.

CARDOZO, R. M. Avaliação de testes para diagnóstico de mastites subclínicas em bovino de leite. **Revista Unimar**, v.18, n.3, p.627-636, 1996.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992. 843p.

COSTA, E. O. Importância econômica da mastite infecciosa bovina. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.15, n.1, p.21-6, 1991.

CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais**. São Paulo, 1994. v.2, p.1041-1060.

DELLA LIBERA, A. M. M. P.; ARAÚJO, W. P.; KITAMURA, S. S.; ROSENFELD, A. M. F.; BIRGEL, E. H. Citologia do leite de búfalas (*Bubalis bubalis*) híidas criadas no Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1087-1092, 2004.

DIAS, R. V. C. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasília**, v. 1, n.1, p.23-27, 2007.

DINGWELL, R. T.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Management of dry cow in control of peripartum disease and mastitis. **The Veterinary Clinics Food Animal Practice**, v. 19, p. 235 - 265, 2003.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger**: exame clínico dos bovinos. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.

EBERHART, R. J. Management of dry cows to reduce mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.69, n. 6, p. 1721–1732, 1986.

ERSKINE, R. J. Mastitis therapy and pharmacology. **The Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice**. v.19, n.1, p.109-138, 2003.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduos de antimicrobianos utilizados no tratamento de interrupção de lactação no início da lactação subsequente em animais com período seco recomendado**. 2003, 76p. Dissertação (Mestrado). Curso de Pós-Graduação em Qualidade e Produtividade Animal. Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos USP. Pirassununga, 2003.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Contagem de Células somáticas. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, p. 49-58, 2000.

GOMES, V.; MADUREIRA, K. M.; DELLA LIBERA, A. M. M. P.; BLAGITZ, M. G.; ALVES, M.; BAPTISTELLA, F.; BENESI, F. J. Dinâmica da celularidade do colostro de vacas da raça holandesa no pós-parto imediato. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 5, p. 1047-1053, 2011.

GOMES, V.; MADUREIRA, K. M.; VIEIRA, M.; PAGOTTO, L. G. Composição físico-química do leite de vacas holandesas de acordo com a reatividade ao “California Mastitis Test”. *Ensaio e Ciência*: **Revista de Ciências Veterinárias**, Valinhos, v. 4, n. 4, p. 5-11, 2006.

GONZÁLEZ, F. H. D.; DÜRR, J. W.; FONTANELI, R. S.; Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. In:\_\_\_\_\_ **O leite como ferramenta do monitoramento nutricional**. UFRGS, Porto Alegre: Gráfica, p. 30-45, 2001.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cells count. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 77, p. 2103-2112, 1994.

HASSAN, Z.; DANIEL, R. C. W.; O’BOYLE, D. O.; FROST, A. J. Effects of dry cow intramammary therapy on quarter infections in the dry period. **Veterinary Records**, v. 145, p. 634-639. 1999.

HUXLEY, J. N.; GREEN, M. J.; GREEN, L. E.; BRADLEY, A. J. Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. **Journal of Dairy Science**, 2002.

HUXLEY, J. N.; GREEN, M. J.; BRADLEY, A. J. An investigation into the effects of using a dry period internal teat sealer on somatic cell count in the following lactation. In: **World Buiatrics Congress 23**, 2004, Québec, Canadá.

LESLIE, K.E.; DAY, J.K.; TENHAG, J.; KELTON, D.F.; KERBLER, T.L. Factors affecting the adherence of a dry cow sealant. **Proceedings of 38th Annual Meeting. National Mastitis Council**. Arlington, Virginia. Madison, WI: National Mastitis, Council. p.136-137, 1999.

MACHADO, P. F. M.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, p. 2765-3768, 2000.

MARÇAL, W. S. O edema de mama em bovinos leiteiros. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 115-124, 2006.

MARÇAL, W.; VAN WESTERING, A. J. Aspectos clínicos, epidemiológicos e terapêuticos do edema de mama em bovinos leiteiros. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.24, n.3, p.114-117, maio/jun. 2002.

MARQUES, M. S.; COELHO JR, L. B.; SOARES, P. C. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C processado no estado de Goiás. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO E VII BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2, 2005, Búzios. **Anais...** Búzios, v. 19, n. 130, 2005.

MARTINS, R. P.; CUNHA NETO, A.; MARQUES, M. R. H. PRADO, R. Etiologia da mastite subclínica em vacas do rebanho de uma queijaria em Nossa Senhora do Livramento, MT. **Higiene Alimentar**, v. 20, n. 139, p. 104-409, 2006.

MUJICA, P. Y. C.; ANJOS, E. S.; CARNEIRO, P. H.; SALES, P. V. G.; SILVA, J. V. G.; COSTA, J. C. D. P. P. Avaliação da qualidade físico-química do leite pasteurizado tipo "C" comercializado no município de Palmas – TO. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia, GO. **Anais...** Goiânia: CBQL, p. 2, 2006.

OLIVEIRA, J. S. **Queijo: Fundamentos Tecnológicos**. Coleção Ciência e Tecnologia ao Alcance de Todos. 2º ed., São Paulo: UNICAMP, 1986.

O'ROURKE, D. Assessment of cows for use of a non antimicrobial dry cow product. **Journal of Applied Microbiology**, v. 98, p. 1256-1260, 2005.

PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; SARRÍES, G.A. Contagem de células somáticas e características produtivas de vacas da raça holandesa em lactação. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 4, p. 649-654, 2001.

PRASAD, H.; SENGAR, O. P. S. Milk yield and composition of the Barbarigota breed and its cross with Jamunapari. **Small Ruminant Research**, v. 45, p. 79-83, 2002.

PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**, v. 7, p. 632-640, 1910.

RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS H. R.; SILVA, J. B. A.; BARRETO, M. L. J.; LIMA JUNIOR, D. M. Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. **Revista Verde de Agricultura e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 4, n. 3, p. 57-60, 2009.

SANFORD, C.; KEEFE, G.; LESLIE, K.; DOHOO, I.; BARKEMA, H. Sensitivity and specificity of the california mastitis test to identify the presence of intramammary

infections on the day of dry off. In: **World BuiatricsCongress** 23, 2004, Québec, Canadá.

SANTOS, M. V. Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e derivados lácteos. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2., Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: 2002. p.179-188.

SANTOS, J. E. P.; DEPETERS, E. J.; JARDON, P. W.; HUBER, J. T. Effect of prepartum crude protein level on performance and multiparous Hostein dairy cows. **Journal of Dairy Science**. p. 213-224, 2001.

SANTOS, M. V. Importância do período seco no controle da mastite. In: INTER LEITE – Simpósio Internacional de Produção Intensiva de Leite, 6., 2003. Piracicaba, SP. **Anais...** São Paulo: Piracicaba, v.1, p.136-148, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite**. 1º ed. Barueri: Editora Manole, 2007. p.314.

SCHÄELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBREQUALIDADE DO LEITE, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, 2000. p. 21-26.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v.130, n.5, p.199-207, 1957.

SORDILLO, L.M.; STREICHER, K.L. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v.7, n.2, p.135-146, 2002.

SOUZA, M. R., RODRIGUES, R., FONSECA, L. M., CERQUEIRA, M. M. O. P. **Pasteurização do leite**. Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n. 13, p.85-93, 1995.

TIMMS, L. L. Field trial for evaluation of a persistent barrier teat dip for preventing mastitis during the dry period, p.201. In:\_\_\_\_\_ **IDF Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland**, Stresa. 2000.

VENTURA, R. V.; LEME, T A. R. P.; MENDONÇA, L. C.; DIAS, M. S.; AMORIM, M. A. Contagem de células somáticas e seus efeitos nos constituintes do leite. In: II Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Goiânia. **Anais...** Goiânia: 2006. p.187-189.

WALLER KP. Mammary gland immunology around parturition. Influence of stress, nutrition and genetics. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 480, p. 231-245, 2000.

WELLS, S. J.; OTT, S. L.; SEITZINGER, A. H. Key health issues for dairy cattle – new and old. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3029-3035, 1998.

WOOLFORD, M. W.; WILLIAMSON, J. H.; DAY, A. M.; COPERMAN, P. A. J. The prophylactic effect of a teat sealer on mastitis during the dry period and the following lactation. **New Zealand Veterinary Journal**. v. 46, p.12-19, 1998.

## **CAPÍTULO 2 - DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO DA MASTITE BOVINA EM VACAS DA RAÇA HOLANDESA SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS INTRAMAMÁRIOS DURANTE O PERÍODO SECO**

### **RESUMO**

O período seco é considerado uma fase onde o animal encontra-se muito vulnerável à mastite, esta etapa é considerada uma excelente oportunidade para o tratamento de infecções intramamárias existentes e para a prevenção de novas infecções que afetam negativamente a produção leiteira da lactação subsequente. Para avaliar o padrão de infecção da glândula mamária de vacas da raça Holandesa tratadas com selante interno de tetos ou antimicrobiano intramamário durante o processo de secagem, 24 vacas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais com oito animais cada, conforme o produto administrado no momento da secagem: G1- sem tratamento (controle); G2- antimicrobiano cefalônio anidro (terapia da vaca seca); G3 - selante interno de tetos à base de subnitrato de bismuto. De cada vaca foram coletadas amostras de colostro/ leite dos quatro tetos na última ordenha antes do início da secagem (M1), até 12 horas após o parto (M2), sete dias após o parto (M3), 15 dias após o parto (M4) e 21 dias após o parto (M5). Cada amostra foi submetida aos exames da caneca de fundo escuro, *California Mastitis Test* (CMT) e cultura microbiológica. Para esta análise utilizou-se um modelo estatístico formado pelas variáveis classificatórias tratamentos (controle, selante ou antibiótico intramamário) e blocos de parto divididos em secagem ou pós-parto (M1+M2+M3+M4+M5), com  $p < 0,05$ . O percentual de mamas com isolamento bacteriano no retorno à lactação foi maior no grupo que recebeu antibiótico intramamário do que no grupo que recebeu selante durante o processo de secagem da glândula mamária. O grupo que recebeu antibiótico apresentou melhores resultados no CMT que os grupos controle e selante. Com relação ao teste da caneca de fundo escuro não foram observadas diferenças significativas entre o efeito dos tratamentos selante e antibiótico intramamário no pós-parto.

**PALAVRAS-CHAVE:** leite, mastite, secagem, selante

## CHAPTER 2- MICROBIOLOGICAL DIAGNOSIS OF BOVINE MASTITIS IN DUTCH BREED COWS UNDER DIFFERENT TREATMENTS INTRAMAMMARY DURING THE DRY PERIOD

### ABSTRACT

The dry period is considered a stage where the animal is very vulnerable to mastitis, this step is considered an excellent opportunity to treat existing intramammary infections and the prevention of new infections that negatively affect milk production of the subsequent lactation. To evaluate the pattern of infection of the mammary gland of Holstein cows treated with internal sealant ceilings or antimicrobial intramammary during the drying process, 24 cows were randomly divided into three experimental groups of eight animals each, as the product administered at the time of drying: G1 – untreated (control): G2 - antimicrobial anhydrous cefalonium (dry cow therapy): G3 - internal sealing bismuth subnitrate based ceilings. From each cow colostrums/milk samples were collected the last of the four teats before the milking drying (M1), until 12 hours after calving (M2), seven days after calving (M3), 15 days after calving (M4) and 21 days after calving (M5). Each sample was subjected to the tests of the dark background mug, *California Mastitis Test* (CMT) and microbiological culture. For this analysis we used a statistical model formed by the variables qualifying treatments (control, sealant or antibiotic intramammary) and delivery blocks divided into drying or postpartum (M1 + M2 + M3 + M4 + M5), with  $p < 0,05$ . The percentage of breasts with bacterial isolation in return to lactation was higher in the group receiving antibiotic intramammary than in the group receiving sealant during the drying process of the mammary gland. The group receiving antibiotics showed better results than the control groups CMT and sealant. Regarding the test of dark background mug significant differences were observed between the effect of sealant and antibiotic treatments intramammary postpartum.

**Keywords:** milk, mastitis, drying, sealant

## INTRODUÇÃO

A mastite é a doença mais frequente nos animais destinados a produção leiteira e traz impacto negativo para atividade (VAZ et al., 2001; RIBEIRO et al., 2003; BRITO, 2008, HUIJPS et al., 2008). Ocorre diminuição da produção, menor rendimento na produção de derivados lácteos (MARQUES, 2003; SANTOS, 2003; CASSOL et al., 2010), diminuição do tempo de prateleira do produto, custos com medicamentos, honorários profissionais, descarte do leite durante o tratamento e período de carência, possibilidade de perda de tetos e muitas vezes da vaca devido a septicemia, e ainda pelo descarte prematuro de animais (COSTA, 1998). Além disso, deve-se considerar os aspectos de saúde pública, pois muitos patógenos causadores de mastites oferecem riscos ao consumidor de leite e derivados decorrente da ingestão de enterotoxinas (FONSECA e SANTOS, 2000; SANTOS, 2002; COLDEBELLA et al., 2004).

A epidemiologia desta enfermidade está vinculada à tríade animal (hospedeiro), agente etiológico e meio ambiente (PRESTES et al., 2002). A manifestação da enfermidade pode ser clínica ou subclínica. A mastite clínica é caracterizada por alterações visíveis no quarto mamário e/ou no leite, como edema, aumento de temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária, aparecimento de flocos, grumos, anormalidade na coloração ou qualquer alteração nas características do leite (HARMON, 1994; FONSECA e SANTOS, 2000; PEREIRA et al., 2001). Seu diagnóstico é realizado pela inspeção e palpação com base nas alterações inflamatórias do úbere e por alterações macroscópicas do leite, visualizados nos primeiros jatos da ordenha com auxílio da caneca de fundo preto ou caneca telada (RIBEIRO et al., 2003). Na forma subclínica não se observam alterações macroscópicas e sim alterações na composição do leite, portanto, não apresenta sinais visíveis de inflamação do úbere (CULLOR et al., 1994; FONSECA e SANTOS, 2000; SANTOS e FONSECA, 2007). Vários métodos têm sido recomendados para diagnosticar a incidência desta enfermidade nos rebanhos leiteiros, entre eles, pode-se citar o *California Mastitis Test* (CMT), este método consiste na reação da mistura do leite a um detergente aniônico neutro, que leva à formação de um composto viscoso, que corresponde à quantidade de células

presentes e que pode ser pontuado de acordo com a intensidade em escores pré-estabelecidos (BRITO et al., 1997; FONSECA e SANTOS, 2000).

A presença dos agentes infecciosos na glândula mamária pode ocorrer de forma fugaz e passageira determinando reações orgânicas mínimas. Em outros casos, pode se determinar, efetivamente, a difusão da colonização bacteriana nos tecidos mamários, sendo a presença do microrganismo persistente e duradoura, originando infecção e determinando reações orgânicas mais severas associadas a alterações do parênquima glandular (SANTOS, 2003; BIRGEL et al., 2009). Os limites entre infecção e doença não são perfeitamente delimitados, e podem sofrer variação na dependência da metodologia e técnicas do pesquisador, como também dos seus critérios mais ou menos rígidos na avaliação dos resultados obtidos (SANTOS, 2003; COSTA, 2006; BIRGEL et al., 2009).

O período seco é necessário em bovinos leiteiros para otimização da produção leiteira na lactação seguinte. No entanto, as novas infecções intramamárias aumentam drasticamente após a secagem, e permanecem elevadas durante as primeiras três semanas pós-secagem (O'ROURKE, 2005). Fatores podem predispor às infecções intramamárias durante o período seco, como o estresse da secagem, o aumento da contagem bacteriana pela não desinfecção do teto. A interrupção da retirada do leite ocasiona aumento da pressão intramamária e dilatação do canal do teto pelo acúmulo de leite, favorece a penetração de bactérias (DINGWELL et al., 2003).

A observação da maior susceptibilidade a infecções no início do período seco e no começo da lactação subsequente tem levado ao desenvolvimento de protocolos de tratamento para este período (GREEN et al., 2002). O controle de mastite neste período objetiva diminuir o número de mamas enfermas na lactação subsequente, eliminando infecções intramamárias existentes e impedindo novas infecções durante o período em que a vaca permanece seca (BERRY e HILLERTON, 2002; SANTOS, 2003; CRISPIE et al., 2004).

A terapia da vaca seca é uma das medidas recomendadas para o controle desta enfermidade neste período (NATZKE, 1982; SANTOS, 2003; BANSAL et al., 2005; BRADLEY et al., 2009), um bom antimicrobiano para este período deve possuir ação bactericida, ter alto peso molecular, não ser irritante, ter alto grau de ligação às proteínas, ser estável em relação à atividade antimicrobiana e estar associado a veículos de eliminação e absorção lenta (COSTA, 2006).

A preocupação quanto à seleção de cepas bacterianas resistentes a antimicrobianos em vacas não infectadas, levou ao desenvolvimento de medidas preventivas como o selante interno de tetos a base de subnitrato de bismuto (HILLERTON e BERRY, 2005; BRADLEY et al., 2009). O uso do selante interno administrado à secagem, forma uma barreira física na extremidade dos tetos (SANTOS, 2003), em um mecanismo que mimetiza o processo fisiológico de fechamento deste canal pelo selo de queratina (O'ROURKE, 2005).

O produto cria então um tampão, bloqueando o canal do teto e impedindo assim a entrada de microrganismos na glândula mamária durante o período seco, auxiliando no controle da mastite (DINGWELL et al., 2003; O'ROURKE, 2005). Este produto é inerte e insolúvel no leite e, portanto, não constitui um tratamento para infecções intramamárias pré-existentes nem trata infecções novas, sua ação é puramente mecânica (O'ROURKE, 2005). A retirada do produto pode ser facilmente realizada durante as primeiras ordenhas após o parto e não traz risco para saúde do bezerro (SANTOS, 2003).

O exame microbiológico de amostras de leite coletadas assepticamente é considerado o método padrão para determinação da saúde do úbere e para o diagnóstico da mastite bovina, principalmente no que diz respeito à comparação de resultados, quando se avaliam outros testes de diagnóstico de mastite (RADOSTITIS et al., 2002).

A análise microbiológica é um componente muito importante nos programas de investigação de mastite nos rebanhos, pois indica as áreas dentro do sistema de produção que requerem atenção imediata (BRITO, 2008). A cultura do leite de todos os quartos mamários das vacas em lactação, embora de custo mais elevado, permite definir com mais exatidão os agentes infecciosos prevalentes, pois fornece o padrão de infecção do rebanho, o que auxilia no controle e na erradicação de determinados patógenos (BRITO et al., 1999; RADOSTITIS et al., 2002).

Os resultados do exame microbiológico são utilizados para a adoção de medidas específicas de controle direcionadas para o ambiente ou para a higiene da ordenha, identificação de patógenos emergentes, segregação e descarte de animais com infecção crônica, avaliação da eficácia de tratamentos e estabelecimento de padrões de susceptibilidade a antimicrobianos (RADOSTITIS et al., 2002; BRITO, 2008). Desse modo, medidas específicas de controle, direcionadas para o ambiente ou para a higiene da ordenha, podem ser indicadas, de acordo com o padrão de

infecção encontrado (BRITO, 2008; CASSOL, 2010). Técnicas adequadas de secagem como aquisição de produtos de empresas idôneas, somado a um ambiente limpo e confortável à vaca seca, são ferramentas indispensáveis no combate e prevenção da mastite (SANTOS, 2003).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência do selante interno de tetos e do antimicrobiano intramamário aplicado no momento da secagem contra a mastite.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas 24 vacas multíparas da raça Holandesa preto e branca, criadas em sistema semi-intensivo, submetidas à produção de leite do tipo B, com produção média aproximada de 17 Kg de leite/vaca/dia. Estas foram submetidas a coletas de amostras de leite e colostro para o exame bacteriológico do leite, teste da caneca de fundo escuro e CMT.

### **A. Grupos Experimentais**

Aproximadamente 60 dias antes do parto, as vacas foram divididas aleatoriamente em três grupos experimentais:

- G1 (grupo controle, n = 8 vacas / 32 quartos mamários): os animais não receberam nenhum tipo de tratamento antes do início da secagem;
- G2 (grupo antimicrobiano intramamário, n = 8 vacas / 32 quartos mamários): após a última ordenha antes da secagem, cada animal recebeu 0,25g de cefalônio anidro em cada quarto mamário;
- G3 (grupo selante, n = 8 vacas / 32 quartos mamários): após a última ordenha antes da secagem, cada animal recebeu 2,6g de selante intramamário à base de subnitrito de bismuto em cada quarto mamário.

## B. Amostras e avaliações

Cada animal foi submetido à avaliação da glândula mamária e do colostro/leite no dia da secagem (M1), até doze horas após o parto (M2), sete dias após o parto (M3), 15 dias após o parto (M4) e 21 dias após o parto (M5).

Para coleta do colostro/leite, foi realizada a assepsia da extremidade do teto, com algodão embebido em álcool a 70% conforme as recomendações de Harmon et al. (1990). Os primeiros jatos de leite, provenientes do acúmulo das cisternas do teto, no período entre ordenhas, foram desprezados. Para a coleta, realizou-se ordenha em sentido horizontal utilizando-se tubos estéreis, isto é, mantendo-se o frasco coletor paralelo ao solo, protegendo a parte da tampa sob a mão que a segura, juntamente com o tubo (BIRGEL, 2008).

De cada quarto mamário foram colhidos 5mL de leite, totalizando 480 amostras. Cada amostra foi separada em três alíquotas, acondicionadas em frascos de 5ml e congeladas até a realização do exame microbiológico.

### B.1. Avaliação da glândula mamária

As glândulas mamárias foram examinadas, conforme preconizado por Birgel (2008), onde foram observados durante a inspeção o formato da glândula mamária e tetos, simetria, aumento ou diminuição do volume do úbere, número de tetos, lesões cutâneas na glândula mamária e tetos. A palpação da glândula mamária, foi realizada imediatamente após a ordenha avaliou-se a temperatura, sensibilidade, consistência do úbere e tetos, bem como a palpação da cisterna da glândula (DIRKSEN et al., 1993).

### B.2. Avaliação do colostro/leite

#### B.2.1. Teste da caneca de fundo escuro e *California Mastitis Test*

Foram colhidos os primeiros jatos de leite antes da ordenha para o teste da caneca de fundo escuro. Para realização do *California Mastitis Test* (CMT), utilizou-se uma alíquota de 2mL leite de cada quarto mamário, que foi colocada em uma raquete contendo quatro cavidades, nas quais foram adicionados 2mL de um

reagente específico para o teste, constituído de hidróxido de sódio (13,5g), púrpura de bromocresol (0,4g), alquil-aril-sulfonato de sódio (1,9g) e água como q.s.p. até 3,8L (BIRGEL, 2008). De acordo com a viscosidade do gel formado pela mistura do leite com o reagente foram dados os seguintes escores: escore 1 (negativo), 2 (traço que indica reação suspeita), 3 (fracamente positivo, +), 4 (positivo, ++) ou 5 (fortemente positivo,+++) (SANTOS e FONSECA, 2007).

#### B.2.2. Isolamento bacteriano

Cada amostra de leite foi plaqueada em ágar sangue de carneiro 5% desfibrinado e incubadas a 37°C por 48 a 72 horas. As colônias foram submetidas a provas bioquímicas e a micromorfologia por meio do esfregaço em lâmina, para a coloração foi utilizada a técnica de Gram. A identificação microbiológica foi realizada com base nas características morfológicas, bioquímicas e tintoriais (OLIVER et al., 2004).

#### C. Análise estatística

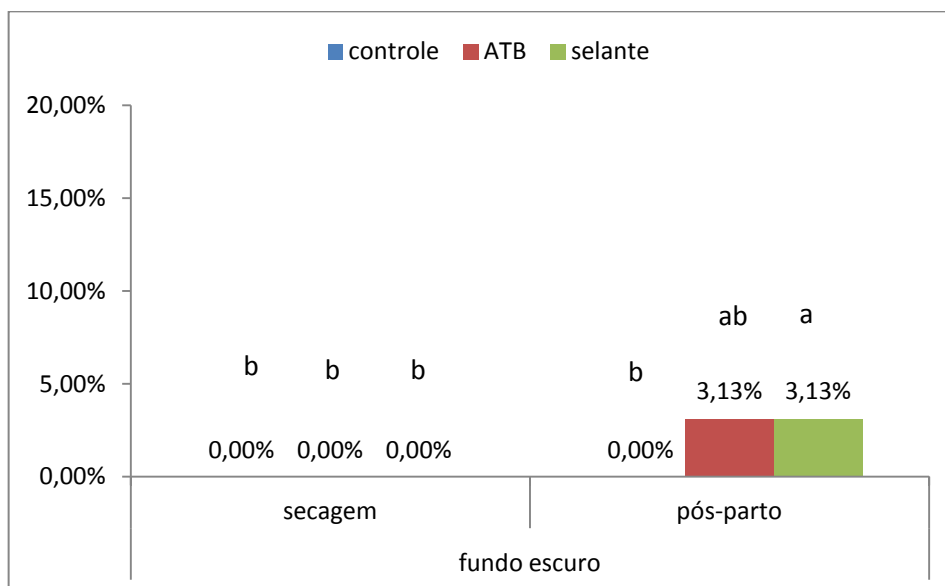
Foram comparadas as frequências de ocorrência de animais positivos para os exames de Caneca de Fundo Escuro, CMT e Cultura Microbiológica (para qualquer microrganismos presente). Para esta análise utilizou-se um modelo estatístico formado pelas variáveis classificatórias tratamentos (controle, selante ou antibiótico intramamário) e blocos de parto divididos em secagem ou pós-parto (M1+M2+M3+M4+M5). Para todos os testes realizados foi utilizado o nível de significância de 5%. A avaliação dos resultados obtidos no exame físico da glândula foram apresentados de forma descritiva.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A ocorrência de mastite durante o período seco está ligada a fatores como nível de produção de leite no momento da secagem, condição dos tetos, nível de contaminação ambiental dos tetos e a utilização medidas preventivas no controle da mastite neste período (NATZKE, 1982; SANTOS, 2003; BRADLEY et al., 2009). O período seco é uma necessidade fisiológica para a vaca leiteira e apresenta relação

direta com a saúde da glândula mamária, produção de leite e prevenção de doenças em geral (SANTOS, 2003).

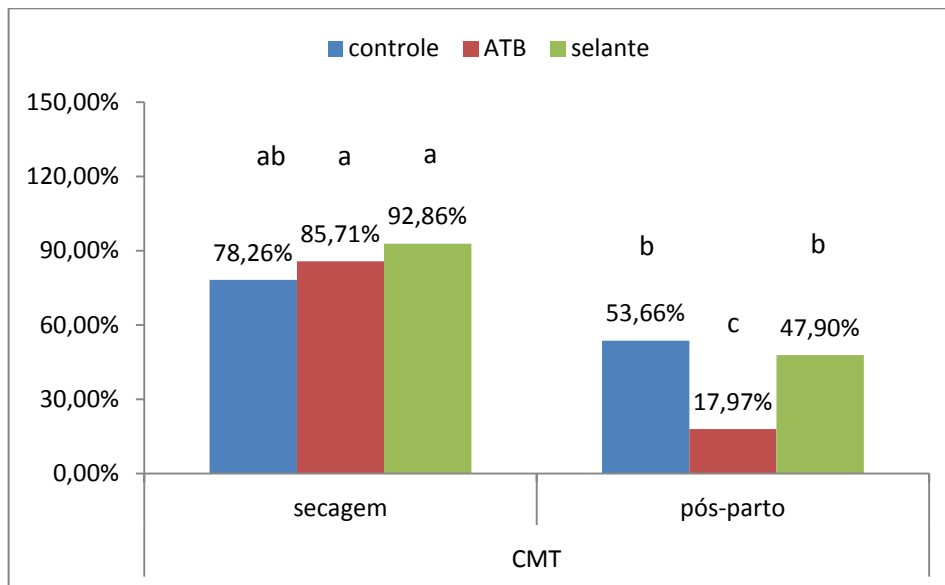
Mehrzhad et al. (2001) afirmaram que a imunossupressão observada durante o período de transição é resultado das mudanças fisiológicas, e é um dos principais fatores relacionados com o aumento na incidência de mastites durante o pós-parto. Conforme apresentado na Figura 1, na secagem não ocorreram animais positivos ao teste da caneca de fundo escuro em nenhum dos três grupos estudados (1- Controle; 2- Antibiótico intramamário; 3- Selante). No pós-parto os animais de G2 e G3 tiveram a mesma frequência (3,13%) de ocorrência de animais positivos para cada grupo. Desta forma, o presente estudo corrobora com os dados descritos por Bhutto et al. (2011), que evidenciaram que os casos clínicos de mastite pós-parto em vacas que receberam o selante foi semelhante ao observado nas vacas que receberam a terapia da vaca seca. Ao comparar os resultados entre todos os grupos estudados, percebe-se que G1 foi o único que não apresentou animais positivos ao teste da caneca de fundo escuro no pós-parto.



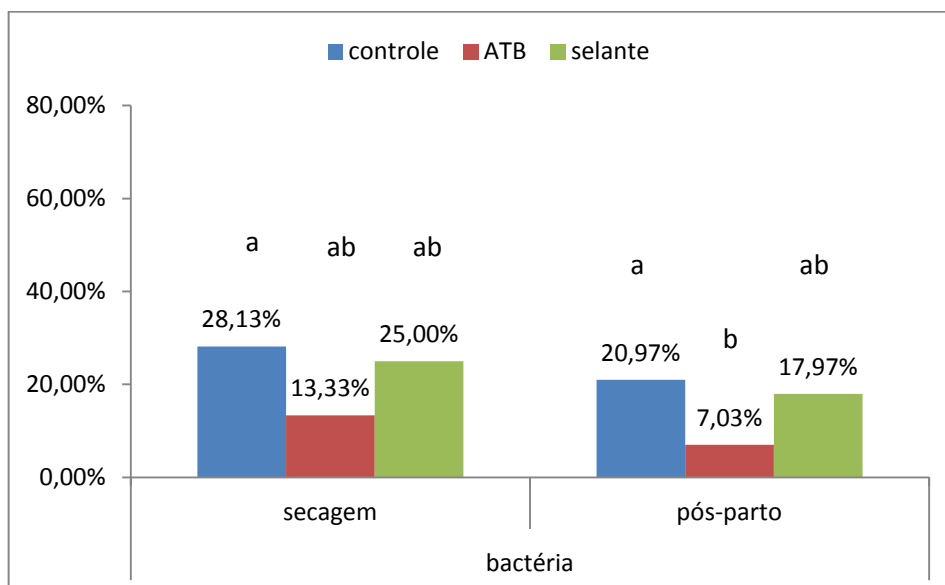
**Figura 1** - Frequência (%) de vacas positivas no teste da caneca de fundo escuro apresentados por vacas sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem.

Pesquisas demonstraram que a incidência de infecções intramamárias subclínicas foram maiores no período da secagem do que durante a lactação (NATZKE, 1981; DUFOUR e DOHOO, 2012), sendo estes resultados similares àqueles encontrados nesta pesquisa. A frequência de ocorrência de animais

positivos no CMT (Figura 2) e no exame microbiológico (Figura 3) foi maior na secagem do que no pós-parto em todos os grupos estudados.



**Figura 2** - Frequência (%) de ocorrência de animais positivos para o teste *California Mastitis Test* (CMT) apresentado por vacas dos grupos sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem.



**Figura 3** - Frequência (%) de ocorrência de animais positivos para a cultura microbiológica apresentados por vacas nos grupos sem tratamento (controle), tratados com antimicrobiano ou com selante no momento da secagem.

O Grupo 2 respondeu de forma mais eficiente que o Grupo 3 na comparação entre a frequência de ocorrência de animais positivos ao CMT no pós-parto entretanto, no exame microbiológico a frequência de animais positivos neste mesmo período foi menor no G3 em comparação com G2. Tetos positivos ao CMT e sem infecção podem ser uma consequência, em certos casos, do efeito bactericida dos

leucócitos, isto é, no momento da amostragem as bactérias ou outros patógenos já haviam sido destruídos. Por outro lado, tetos com patógenos e negativos ao CMT podem ser explicados por infecções apenas nas extremidades, colonização do canal galactóforo ou infecções latentes (VOLTOLINI et al., 2001).

O G1 apresentou menor frequência de animais positivos no isolamento bacteriano após o parto do que os animais do G2 e G3. O percentual de animais positivos neste mesmo exame durante a lactação foi maior no G2 que em G3 em comparação ao número de animais positivos no momento da secagem, corroborando Berry e Hillerton (2002) que citam resultados semelhantes. Segundo Godden et al. (2003) este fato pode ser justificado devido à capacidade do selante oferecer uma barreira à entrada de bactérias logo no início do período seco quando o tampão de queratina dos tetos pode ainda não ter se formado adequadamente, permitindo que esta barreira permaneça até o final deste período, enquanto que a concentração do antibiótico pode cair abaixo dos níveis terapêuticos até o final do período seco. Além disso, durante todo período seco, o selante de tetos pode promover uma barreira contra espécies de bactérias que podem ser insensíveis ao antibiótico que está sendo utilizado.

Santos (2003) e O'Rourke (2005) relatam que com o uso do selante isoladamente perde-se a oportunidade de eliminar infecções intramamárias pré-existentes no momento da secagem, o que para a maioria dos rebanhos é o único momento economicamente viável para eliminar as infecções intramamárias subclínicas. No entanto Hillerton e Berry (2005) destacam que a utilização de meios alternativos como o selante interno de tetos no controle da mastite no período seco, tem grande importância em relação à preocupação quanto à seleção de cepas bacterianas resistentes aos antimicrobianos em vacas não infectadas.

Ainda, grande parte da predição dos testes diagnósticos é baseada no exame bacteriológico como padrão ouro, no entanto a mastite nem sempre requer a presença bacteriana, ou se consegue sucesso no isolamento bacteriano (PYÖRÄLÄ, 2003; ZAFALON et al., 2005). Neste sentido, destaca-se a importância de não se utilizar um teste para diagnóstico de mastite isoladamente devido à presença de resultados falso-positivos e falso-negativos (VOLTOLINI et al., 2001).

## CONCLUSÕES

Diante do exposto, conclui-se que o uso do selante a base de subnitrato de bismuto mostrou-se mais efetivo para o controle da mastite em comparação ao uso de antimicrobiano a base de cefalônio anidro, ambos administrado pela via intramamária.

## REFERÊNCIAS

BANSAL, B. K.; DHALIWAL, P. S.; BAJWA, N. S.; RANDHAWA, S. S. Role of selective dry cow therapy in prevention of mastitis in dairy herds with high disease prevalence. In: \_\_\_\_\_. **Mastitis dairy production: current know led gran future solutions**. WageningenPers: Maastricht, 2005. p. 697-702.

BERRY, E. A; HILLERTON, J. E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 1, p. 112-121, 2002.

BHUTTO, A. L., MURRAY, R. D., WOLDEHIWET, Z. The effect of dry cow therapy and internal teat-sealant on intra-mammary infections during subsequent lactation. **Research in Veterinary Science**, p. 316-320, 2011.

BIRGEL, D. B.; BIRGEL JUNIOR, E. H.; POGLIANI, F. C.; RAIMONDO, R. F. S.; BIRGEL, E. H.; ARAÚJO, W. P. Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça holandesa: Avaliação das características microbiológicas da secreção láctea durante o período seco. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n.4, p. 517-522, out./dez., 2009.

BIRGEL, J. E. H. Semiologia da glândula mamária de ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia veterinária: A arte do diagnóstico**. 2º ed. São Paulo, SP: Roca, 2008. Cap. 8, p. 324-364.

BRADLEY, A. J.; BREEN, J. E.; PAYNE, B.; WILLIAMS, P.; GREEN, M. J. The use of a cephalonium containing dry cow cow therapy and an internal teat sealant both alone and in combination. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1566-1577, 2009.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R.S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do *California Mastitis Test* como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997.

BRITO, M. A. V. P. Importância do diagnóstico microbiológico para a detecção da mastite. In: \_\_\_\_\_ BARBOSA, S. B. P., BATISTA, A. M. V.; MONARDES, H. III **Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite**. Recife: CCS Gráfica e Editora, v. 1, p. 145-160, 2008.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T. V. M. O. Veiga. 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, p. 129-135, 1999.

COLDEBELLA, A.; MACHADO, P. F.; CLARICE, G. B.; DEMETRIO, C. G. B.; RIBEIRO JUNIOR, P. J.; MEYER, P. M.; CORASSIN, C. H.; LAERTE, D.; CASSOLI, L. D. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Revista brasileira de Zootecnia**. Viçosa, MG, v. 33, n. 3, p. 623-234, 2004.

CASSOL, D. M. S.; SANDOVAL, G. A. F.; PERICOLE, J. J.; GIL, P. C. N.; MARSON, F. A. Introdução agentes da mastite diagnóstico e tratamento. **A Hora Veterinária**, São Paulo, n. 175, maio/jun. 2010.

COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista Educação Continuada**. CRMV-SP, v. 1, p. 3- 9, 1998.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: \_\_\_\_\_ SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. p. 501-515.

CRISPIE, F.; FLYNN, J.; ROSS, R. P.; HILL, C.; MEANEY, W. J. Dry cow therapy with a non-antibiotic intramammary teat seal: a review. **Irish Veterinary Journal**, v. 57, n. 7, p. 412-418, 2004.

CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. In: SMITH, B. P. **Tratado de Medicina Interna dos Grandes Animais**. São Paulo, 1994. v.2, p.1041-1060.

DINGWELL, R.T.; KELTON, D.F.; LESLIE, K.E. Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. **Veterinary Clinics of North American: Food Animal Practice**, v. 19, p. 235- 265, 2003.

DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Rosenberger**: exame clínico dos bovinos. 3° ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 419 p.

DUFOUR, S.; DOHOO, I. R. J. Monitoring dry period intramammary infection incidence and elimination rates using somatic cell count measurements. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 7173- 7185, 2012.

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

GODKIN, M. A.; LESLIE, K. E. Culture of bulk tank milk as a mastitis screening test: a brief review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 34, p. 601-605, 1993.

GODDEN, S.; RAPNICKI, P.; STEWART, S.; FETROW, J.; JOHNSON, A.; BEY, R.; FARNSWORTH, R. 2003. Effectiveness of an internal teat sealant in the prevention

of new intramammary infections during the dry and early-lactation periods in dairy cows when used with an intramammary antibiotic. **Journal of Dairy Science**. v. 86, n. 12, 2003.

GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F.; SCHUKKEN, Y.H.; BRADLEY, A.J. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 10, p. 2589-2599, 2002.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cells count. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, p.2103-2112, 1994.

HARMON, R. J.; EBERHART, D. E.; JASPER, B. E.; LANGLOIS, B. E.; WILSON, R. A. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infections**. 3. ed. Arlington: VA, National Mastitis Council, 1990. 34 p.

HILLERTON, J.E.; BERRY, E.A. Treating mastitis in a cow – a tradition or an archaism. A review. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.1250-1255, 2005.

HUIJPS, K.; LAM, T. J. G. M.; HOGEVEEN, H. Costs of mastitis: facts and perception. **Journal of Dairy Research**, v.75, p.113-120, 2008.

MARQUES, D. C. **Criação de bovinos**. Belo Horizonte: CVP Consultoria Veterinária e Publicações, 7° ed., p.586, 2003.

MEHRZAD, J.; DOSOGNE, H.; MEYER, E.; HEYNEMAN, R.; BURVENICH, C. Respiratory burst activity of blood and milk neutrophils in dairy cows during different stages of lactation. **Journal of Dairy Research**, v.68, p.399-415, 2001.

NATZKE, R.P. Elements of mastitis control. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.6, p.1431-1442, 1981.

NATZKE, R. P. The role of therapy in mastitis control. **Proceedings of the 21st Annual Meeting of the National Mastitis Council**, p. 125- 133, 1982.

OLIVER, S. P., LEWIS, M. J., GILLESPIE, B. E., DOWLEN, H. H., JAENICKE, E. C., ROBERTS, R. K. **Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality**. 4th ed. Verona, WI: National Mastitis Council, 47 p., 2004.

O'ROURKE, D. Assessment of cows for use of a non antimicrobial dry cow product. **Journal of Applied Microbiology**, v.98, p.1256-1260, 2005.

PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRÍES, G. A. Contagem de células somáticas e características produtivas de vacas da raça holandesa em lactação. **Science Agrícola**, v. 58, n. E, p.1-1- 2, 2001.

PRESCOTT, S. C.; BREED, R. S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. **Journal of Infectious Diseases**, v. 7, p. 632-640, 1910.

PRESTES D. S.; FILAPPI A.; CECIM, M. Susceptibilidade à Mastite, fatores que a influenciam: uma revisão. Revista FZVA, **Revista da FZVA Uruguaiana**, v. 9, n. 1, p. 118-132. 2002.

PYÖRÄLÄ, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. **Veterinary Research**, Les Ulis, v. 34, p. 565-578, 2003.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCUFF, K. W. **Clínica veterinária: Um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RIBEIRO M. E. R.; PETRINE L. A.; AITA M. F.; BALBINOTTI M.; STUMPF JR W.; GOMES J. F.; SCHRAMM R. C.; MARTINS P. R.; BARBOSA R. S. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**. V.9, n.3, p. 287-290, 2003.

SANTOS, M. V. Efeitos da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: Instituto Fernando Costa, p. 179-188, 2002.

SANTOS, M. V. Importância do período seco no controle da mastite. In: INTERLEITE – Simpósio Internacional de Produção Intensiva de Leite, 6., 2003. Piracicaba, SP. **Anais...** Piracicaba, SP: Milkpoint, v.1, p.136-148, 2003.

SANTOS, M. V. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira de produtos lácteos: papel das células somáticas. In: \_\_\_\_\_ **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora, v. 1, p. 139-149, 2003.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, p.314, 2007.

VAZ, A. K.; PATERNO, M. R.; MARCA, A. Avaliação de uma vacina estafilocócica como auxílio à antibioticoterapia de mastite subclínica durante o período de lactação. **A hora Veterinária**, Porto Alegre, n.124. p. 68-70, 2001.

VOLTOLINI, T. V.; SANTOS, G. T.; ZAMBOM, M. A.; RIBAS N. P.; MULLER, E. E.; DAMASCENO, J. C.; ÍTAVO, L. C. V.; VEIGA, D. R. Influência dos estádios de lactação sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa e identificação de patógenos causadores de mastite no rebanho. **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 4, p. 961-966, 2001.

ZAFALON L. F.; NADER FILHO A.; OLIVEIRA J. V.; RESENDE F. D. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 3, p. 150-163, 2005.

## APÊNDICES

**Apêndice A-** Determinação dos efeitos referentes aos momentos de colheita, aos diferentes tratamentos e a respectiva interação entre os dois efeitos (tratamento X tempo), na celularidade do leite:

Tratamento	Tempo	CCS Aut.	Mono.	Polimorfo.	CCS Mic.	CMT
1x2	M1	0,9996	0,8106	1,0000	0,7656	0,9997
1x3		0,9294	1,0000	1,0000	1,0000	0,8943
2x3		1,0000	0,9881	0,9999	0,9880	0,2233
1x2	M2	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0,0788
1x3		0,9539	1,0000	0,9928	1,0000	0,9332
2x3		0,0005	<0.0001	0,0023	<0.0001	0,0001
1x2	M3	<0.0001	0,0761	0,1200	0,0264	0,1705
1x3		0,9992	1,0000	1,0000	1,0000	0,9949
2x3		0,0247	0,1801	0,3344	0,1439	0,9434
1x2	M4	<0.0001	0,0434	0,0295	0,0387	0,0015
1x3		0,7912	0,9852	0,6356	0,9863	0,8497
2x3		0,0384	0,7294	0,9918	0,7495	0,4538
1x2	M5	0,0019	0,3077	0,2045	0,0682	0,1190
1x3		0,9417	1,0000	0,9999	1,0000	0,8607
2x3		0,2805	0,4969	0,7901	0,3443	0,9946

M1- no dia da secagem; M2- até 12 horas após o parto; M3- sete dias pós-parto; M4- 15 dias após o parto; M5- 21 dias após o parto  
 CCS aut.: contagem de células somáticas/sistema automatizado; mono: células mononucleares; polimorfo: células polimorfonucleares; CCS mic.: contagem de células somáticas/microscopia; CMT: *California mastitis test*  
 1: grupo controle; 2: grupo tratado com antimicrobiano; 3: grupo tratado com selante  
 As áreas destacadas em amarelo apresentaram diferença estatística.

**Apêndice B-** Determinação dos efeitos referentes aos momentos de colheita, aos diferentes tratamentos e a respectiva interação entre os dois efeitos (tratamento X tempo), nos componentes físico-químicos do leite:

Tratamento	Tempo	Proteína	Sólidos	Lactose	Gordura	Uréia
1x2	M1	0,0051	0,9327	0,0841	0,0026	0,8222
1x3		0,6064	1,0000	0,3697	1,0000	0,9234
2x3		0,4131	0,3712	0,9993	<0.0001	0,0253
1x2	M2	0,9327	1,0000	0,4806	<0.0001	1,0000
1x3		0,1139	1,0000	0,0360	0,1354	0,2404
2x3		0,9983	1,0000	0,9681	0,0144	0,5897
1x2	M3	0,9472	0,2016	0,1211	0,7849	0,9954
1x3		0,9504	0,9993	0,1455	0,9995	0,0416
2x3		1,0000	0,9312	1,0000	0,9999	0,5808
1x2	M4	0,8350	0,7221	<0.0001	0,7015	0,9905
1x3		0,9497	0,0013	<0.0001	0,9990	0,4082
2x3		0,0596	0,6387	1,0000	0,1286	0,0173
1x2	M5	0,8893	0,4005	0,0033	0,8409	1,0000
1x3		0,0017	0,2955	0,0002	0,2249	0,4544
2x3		0,2690	1,0000	1,0000	0,9996	0,5507

M1- no dia da secagem; M2- até 12 horas após o parto; M3- sete dias pós-parto; M4- 15 dias após o parto; M5- 21 dias após o parto; G1: grupo controle; G2: grupo tratado com antimicrobiano; G3: grupo tratado com selante