

ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS, CELULARES E PRODUTIVAS DE QUARTOS MAMÁRIOS DE VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA CAUSADA POR *Staphylococcus aureus* QUANDO SUBMETIDOS A ANTIBIOTICOTERAPIA¹

LUIZ FRANCISCO ZAFALON²; ANTÔNIO NADER FILHO³; JOSÉ VÍCTOR DE OLIVEIRA⁴; FLÁVIO DUTRA DE RESENDE⁴;
CRISTINA CORSI DIB²

¹Recebido para publicação em 29/04/05. Aceito para publicação em 25/11/05.

²CAPTA, Instituto de Zootecnia, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, Caixa postal 60, CEP 13460-000, Nova Odessa, SP, Brasil. E-mail: zafalon@iz.sp.gov.br

³Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, FCAV, Campus de Jaboticabal, SP, Brasil.

⁴Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo Av. Rui Barbosa s/nº, Caixa postal 35, CEP 14770-000, Colina, SP, Brasil

RESUMO:A antibioticoterapia durante a lactação como método de controle da mastite bovina pode ajudar produtores e veterinários no combate à doença e reduzir a duração das infecções intramamárias. Os quartos mamários de animais com mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus* foram tratados e as características do leite antes e após o tratamento foram investigadas durante diferentes estágios e número de lactações. Para tanto, as vacas foram divididas em grupos de acordo com as fases de lactação (um a 60 dias em lactação; 61 a 120 dias em lactação; 121 a 180 dias em lactação; mais de 180 dias em lactação) e com o número de lactações (três lactações iniciais; quarta e quinta lactações; seis ou mais lactações). A antibioticoterapia apresentou eficiência superior nos animais com mais de 180 dias em lactação e com seis ou mais lactações. Nenhuma das características avaliadas (contagem de células somáticas, produção de leite, teor de cloretos, acidez titulável, extrato seco total, extrato seco desengordurado e teor de gordura) seria útil para selecionar animais para tratamento ou descarte.

Palavras-chave: células somáticas; mastite subclínica; produção de leite; *Staphylococcus aureus*; terapia na lactação.

PHYSICO-CHEMICAL, CELLULAR AND PRODUCTIVE CHANGES OF COWS MAMMARY QUARTERS WITH SUBCLINICAL MASTITIS CAUSED BY *Staphylococcus aureus* WHEN SUBMITTED TO ANTIBIOTIC THERAPY

ABSTRACT: The antibiotic therapy in the lactation period can help producers and practitioners to control bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and to reduce the duration of the intramammary infections. Mammary quarters from animals with subclinical mastitis were treated and the milk characteristics before and after therapy in different stages of lactation and parities were investigated. Thus, mammary quarters were classified according to stages of lactation (one to 60 days in milk; 61 to 120 days in milk; 121 to 180 days in milk; longer than 180 days in milk) and parities (first three lactations; fourth and fifth lactations; longer than fifth lactation). The antibiotic therapy was more efficient in cows with more than 180 days in milk and with six or more lactations. In dairy farm studied, the characteristics chosen (somatic cells count, milk production, chloride levels, titratable acidity, total solids, solids non-fat and milk fat) should be not used to select animals to treatment or discard.

Key words: somatic cells; subclinical mastitis; milk production; *Staphylococcus aureus*; therapy in the lactation.

INTRODUÇÃO

Os efeitos danosos da mastite infecciosa bovina são mais bem visualizados ao considerar-se as características de produção dos animais por um período específico e o padrão temporal da redução do leite por parte do animal. Segundo LESCOURRET e COULON (1994), o impacto negativo da doença é superior no início da lactação, com reduções mais aparentes na quantidade do leite produzido que podem durar até a fase de secagem das vacas doentes.

A produção de leite de um determinado animal pode ser significativamente afetada pelo número de lactações, época do parto e o estágio de lactação, com as vacas de três ou mais lactações estando entre as que mais sofrem com a influência de temperaturas elevadas, fator que pode colaborar com a redução da produção de leite do animal (COLDEBELLA *et al.*, 2003).

O número de lactações é relevante ao ser estudada a produção leiteira de um animal, não devendo ser esquecidas, entretanto, as variações individuais possíveis de acontecerem no rebanho, assim como a etiologia infecciosa da doença. Quando o *Staphylococcus aureus* está envolvido, o dano tecidual à glândula mamária é mínimo e reversível durante os estágios iniciais de infecção e, se efetivamente tratado neste período, o quarto mamário retornará à produção próxima da normal nas lactações seguintes (NICKERSON, 1993).

A mastite bovina causada por *S. aureus*, em termos econômicos e em aspectos relacionados à saúde pública, pode ser considerada a enfermidade mais freqüente do gado leiteiro. O prejuízo decorrente da infecção estafilocócica da glândula mamária atinge cifras elevadas, em consequência da redução da produção do leite e dos prejuízos na composição físico-química do produto, tanto para o consumo, como para o beneficiamento. O *S. aureus* pode causar infecções de longa duração e com tendência para a cronicidade, com baixas taxas de cura e elevadas perdas na produção de leite devido à alta prevalência (SABOUR *et al.*, 2004).

O uso de antimicrobianos tem um importante papel no controle da mastite. OMORE *et al.* (1999) testaram a sua utilização e verificaram que a higiene adequada do úbere e o tratamento de casos subclínicos, quando utilizados isoladamente, não atuaram sobre a mastite nem elevaram a produção

de leite. Porém, quando estas duas estratégias de ação foram realizadas em conjunto, diminuíram a prevalência de microrganismos contagiosos.

Vários fatores podem interferir negativamente na cura de infecções por *S. aureus* quando se utiliza a terapia com antibióticos, como por exemplo o estágio infeccioso na glândula mamária e a presença de bactérias encapsuladas em abscessos, sem contar os mecanismos de virulência inerentes a este patógeno que torna as células de defesa incapazes de combatê-los (DINIZ *et al.*, 1998). O tratamento das vacas com elevada contagem de células somáticas (CCS) durante a lactação pode apresentar resultados variados, ou indicando efetividade em reduzir o número de células somáticas ou não sendo efetivo nem promotor de ganhos financeiros (SHEPHARD *et al.*, 2000).

Na terapia da vaca seca, o número de células somáticas ao final da lactação e o seu efeito sobre as taxas de cura de *S. aureus* devem ser vistos com ressalvas e avaliados de acordo com o animal, a sua idade e o rebanho ao qual pertencem. A probabilidade de cura neste período é menor quando a CCS é mais elevada e em animais com idade mais avançada, assim como no tratamento durante a lactação. Além disso, outros fatores como a localização dos quartos infectados e o número de quartos afetados por animal também influenciam no sucesso do tratamento (SOL *et al.*, 1994).

Uma vez que a antibioticoterapia pode diminuir a duração de infecções intramamárias e este fato constitui-se em um dos principais objetivos em programas de controle das mastites por *S. aureus*, idealizou-se este trabalho com o objetivo de traçar características físico-químicas e celulares do leite, assim como produtivas, anteriores à cura e também nos casos sem a ocorrência de cura, frente a diferentes estágios e número de lactações, como forma de auxiliar na escolha ou não do tratamento durante a lactação.

MATERIAL E MÉTODOS

Um rebanho composto por vacas da raça Holandesa 7/8 pertencente à Fazenda Experimental do Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, situado em Colina, Estado de São Paulo, foi acompanhado de maio de 2000 a maio de 2002. A ordenha era mecânica e rea-

lizada uma vez ao dia. A alimentação baseava-se em concentrado (rolão de milho, milho, calcário, fosfato bicálcico, uréia e sulfato de amônia) e pastagens de *Panicum maximum* cultivar Tanzânia. No período das secas foi realizada suplementação com silagem de milho e a quantidade de concentrado era aumentada de 1Kg/cabeça/dia para 2 Kg/cabeça/dia.

Durante visitas mensais realizadas à propriedade, todas as vacas lactantes eram submetidas ao "California Mastitis Test" (CMT). Para as análises das características físico-químicas, celulares e da produção láctea foram selecionadas as fêmeas que apresentavam, concomitantemente, pares de quartos mamários em que o leite proveniente de um dos quartos mostrava-se reagente ao CMT, enquanto no quarto homólogo correspondente era não reagente e considerado como controle. Assim, foram selecionados 156 quartos mamários, 78 sadios e outros 78 com mastite subclínica.

Os quartos com mastite subclínica foram divididos em dois grupos: Grupo dos Curados, composto por 32 quartos mamários analisados antes do tratamento e que, posteriormente, foram considerados curados após a antibioticoterapia ou apresentaram cura espontânea e o Grupo dos Não Curados, formado por 46 quartos mamários analisados antes do tratamento e que foram considerados não curados após a terapia antimicrobiana ou que não apresentaram cura espontânea. Os quartos homólogos também foram divididos em dois grupos, um deles formado pelos 32 quartos homólogos aos que foram curados ou curaram-se espontaneamente e outro composto pelos 46 quartos mamários homólogos aos que não foram curados pelo tratamento com antimicrobiano ou que não apresentaram cura espontânea.

Os quartos mamários também foram classificados de acordo com os estágios de lactação e o número de lactações dos animais. Nos diferentes estágios de lactação, os animais foram divididos em quatro grupos: Grupo "1" (um a 60 dias em lactação); Grupo "2" (61 a 120 dias em lactação); Grupo "3" (121 a 180 dias em lactação); e Grupo "4" (animais com mais de 180 dias em lactação). Com relação ao número de lactações, os animais foram agrupados em três grupos: Grupo "Lac 1" (primeiras três lactações); Grupo "Lac 2" (quarta e quinta lactações); e Grupo "Lac 3" (a partir da sexta lactação).

Para a confirmação do *S. aureus* como responsável pela etiologia infecciosa da mastite subclínica, duas amostras de leite (5 a 10 mL) obtidas no início da ordenha e originadas de um mesmo quarto mamário foram semeadas (10 mL) sobre a superfície de ágar sangue de carneiro contido em placas de Petri. A identificação baseou-se nas características de crescimento e realização de esfregaços corados pelo método de Gram. As colônias classificadas como cocos Gram-positivos foram submetidas às provas da catalase e da coagulase lenta com plasma de coelho (HOLMBERG, 1973). As cepas catalase e coagulase positivas foram submetidas à prova para verificação da produção de acetoina e as amostras acetoina-positivas foram testadas quanto à utilização ou não da maltose e da trealose. As amostras que se mostraram positivas a estas duas últimas provas foram classificadas como *S. aureus* (HOLT *et al.*, 1994). Os quartos mamários não reagentes ao CMT foram confirmados como sadios após a ausência de crescimento de microrganismos a partir das amostras de leite.

Os casos de mastite subclínica foram tratados por infusão intramamária após a ordenha, durante três dias consecutivos, sendo utilizada a dose de 150 mg de gentamicina (Gentocin® - Schering-Plough) uma vez ao dia. Todos os *S. aureus* isolados dos quartos mamários tratados apresentaram sensibilidade ao princípio ativo nos testes "in vitro". Foram considerados curados os quartos mamários cujas amostras de leite mostraram-se negativas ao isolamento de *S. aureus*. O isolamento e identificação dos microrganismos foram realizados 28 dias após o término dos tratamentos, de acordo com os procedimentos previamente descritos. Os quartos mamários sem tratamento foram considerados recuperados espontaneamente quando, em um intervalo de 28 dias entre as colheitas das amostras de leite, deixaram de apresentar o isolamento de *S. aureus*. A interpretação dos resultados bacteriológicos seguiu o preconizado por HARMON *et al.* (1990).

O método de referência para a determinação da CCS foi a contagem direta em microscópio óptico em objetiva de imersão (IDF, 1991) e o corante utilizado foi o Broadhurst-Paley. As amostras de leite obtidas para as análises físico-químicas e celulares foram oriundas da produção total dos quartos mamários.

A pesagem do leite foi feita com a utilização de um dispositivo acoplado aos copos da ordenhadeira

mecânica, o que permitia a obtenção individualizada do leite oriundo de cada quarto mamário. O referido dispositivo era formado por quatro tubos maiores de calibres iguais aos das mangueiras destinadas ao leite (mangueiras longas) e por dois outros tubos menores, aos quais eram ligadas borrachas que, por sua vez, eram ligadas ao pulsador. Dessa maneira, o leite de cada quarto da glândula mamária seguia individualizado até cada latão. Foram utilizados neste processo latões com capacidade para três litros de leite, sendo que o conteúdo era transvasado para um recipiente plástico que foi submetido à pesagem em balança de precisão com capacidade para dois litros de leite.

O mesmo procedimento foi adotado nos tetos dos quartos homólogos sadios, sendo as pesagens efetuadas durante dois dias consecutivos (BAILEY *et al.*, 1998). Após a obtenção da produção de leite oriunda dos quartos mamários estudados, calculava-se a produção média nos dois dias de pesagens.

Para a determinação da acidez titulável, foram misturados 10 mL de leite com três a cinco gotas de uma solução alcoólica de fenolftaleína a 2%. Efetuou-se o procedimento de titulação pelo gotejamento da solução de hidróxido de sódio (N/9) ao leite contendo fenolftaleína, até o aparecimento de ligeira tonalidade rósea persistente. O volume de hidróxido de sódio gasto durante o processo de titulação foi multiplicado por 10 e o resultado obtido correspondeu ao grau de acidez titulável da amostra analisada (BRASIL, 1981).

A análise de gordura do leite foi realizada utilizando-se o aparelho eletrônico Milko-Tester®, modelo mk 3.2 (ITR), calibrado pelo método convencional de Gerber (ZAFALON, 2003) e o extrato seco total (EST) foi determinado pela utilização do Calculador de Ackermann (Gerber Instruments). Por sua vez, a determinação do extrato seco desengordurado (ESD) foi calculada a partir da subtração do resultado do teor de gordura das amostras de leite do resultado encontrado para o extrato seco total (BRASIL, 1981).

A pesquisa do teor de cloretos foi feita após a mistura de 10 mL de leite com cinco gotas de solução de cromato de potássio a 5%. Após a homogeneização dessa mistura, efetuou-se a titulação com solução de nitrato de prata a 0,1N até o respectivo ponto de viragem (AMARAL *et al.*, 1988).

O volume gasto de nitrato de prata na titulação foi multiplicado pelo fator 0,0355, obtido a partir do peso molecular do cloreto do NaCl e do peso da amostra, calculando-se, dessa forma, a concentração do teor de cloretos existente nas amostras de leite (MORITA e ASSUMPCÃO, 1972).

Os valores relacionados com as características do leite oriundo dos quartos mamários foram submetidos à análise de variância ou ao teste de Kruskal-Wallis, de acordo com os desvios-padrão encontrados, complementados pelos testes de Tukey e de Dunn, respectivamente. O teste exato de Fisher foi utilizado para verificar se as categorias ordenadas de acordo com as fases de lactação e a ordem de lactação apresentavam ou não independência depois de verificada a evolução dos casos de mastite subclínica (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Quadro 1 apresenta os resultados referentes aos quartos mamários que se recuperaram ou não da mastite subclínica, de acordo com o estágio de lactação em que se encontravam os animais.

Não foi encontrada diferença significativa entre os grupos estudados, quando comparadas as taxas de cura nas diferentes fases de lactação ao teste exato de Fisher. Houve um menor número de quartos mamários pertencentes à Fase "2" (oito quartos), sendo esta distribuição representativa de casos não induzidos de mastite, o que explica a divisão encontrada para cada grupo. Entre os quartos curados há a predominância de cura pela utilização do antimicrobiano gentamicina, enquanto entre os quartos não curados há a predominância de quartos mamários em que não foi utilizado tratamento, quando comparados com a recuperação espontânea e com a utilização de antimicrobianos, respectivamente.

A maior porcentagem de quartos curados foi encontrada para os animais com mais de 180 dias em lactação (52,4%), seguida pela fase correspondente dos 121 aos 180 dias em lactação (41,7%). Segundo SOL *et al.* (1997), vacas em estágios finais de lactação (com mais de 200 dias em lactação) apresentam uma melhor taxa de cura quando submetidas à antibioticoterapia. Existe uma preocupação referente a elevados índices de infecção em vacas

Quadro 1. Quartos mamários curados (com antimicrobiano ou com recuperação espontânea) e não curados, de acordo com o estágio de lactação

Estágio de lactação	Quartos mamários				
	Curados	%	Não curados	%	Total
Fase "1" (1-60 dias)	9	36,0	16	64,0	25
Fase "2" (61-120 dias)	2	25,0	6	75,0	8
Fase "3" (121-180 dias)	10	41,7	14	58,3	24
Fase "4" (> 180 dias)	11	52,4	10	47,6	21
Total	32	41,0	46	59,0	78

em final de lactação já que estas podem contribuir para uma maior taxa de infecção ou reinfecção durante o período seco. Além disso, há relatos de ausência de redução espontânea do nível de infecção desde o final da lactação anterior até a semana do parto ou mesmo no primeiro mês da lactação subsequente (FARIA *et al.*, 1996). Assim, quando realizado o tratamento de casos subclínicos durante a lactação, mesmo em animais em fase lactacional mais avançada, a terapia com antimicrobianos pode se mostrar útil. Muitas vezes, entretanto, pode ser mais econômico adiantar o momento da secagem de um animal e efetuar a terapia da vaca seca.

COSTA *et al.* (1997) efetuaram o tratamento de vacas com mastite subclínica com cefacetil, gentamicina e cloxacilina e obtiveram a cura microbiológica e/ou resultados traços ou negativos ao CMT de, respectivamente, 78,6%, 86,1% e 95,4% dos quartos tratados, sendo os estafilococos 33,6% dos agentes isolados antes do tratamento. LANGONI *et al.* (1997) obtiveram taxas de cura para mastite subclínica que variaram de 85,3% a 90,3% para tratamentos que foram realizados uma e duas vezes ao dia, respectivamente, utilizando hidriodeto de penetamato associado com a dihidroestreptomicina, sulfato de frameticina e prednisolona. O tratamento foi realizado contra *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*.

SEARS (2001) comentou sobre o fato do tratamento da mastite por *S. aureus* durante a lactação, geralmente, não ser eficaz para eliminar o microrganismo. Citou-se, entre as explicações, dificuldades para os antibióticos alcançarem o local de infecção numa concentração adequada, seja pela incapacidade em manter níveis terapêuticos até o tempo necessário para eliminar a infecção, seja por limitações farmacocinéticas como a absorção, além da disponibilização da droga, o grau de ionização e a

presença de microrganismos intracelulares; resistência antibiótica; "dormência" bacteriana (antimicrobianos bactericidas não conseguem atuar sobre bactérias que não se multiplicam); "L-forms" da bactéria (bactérias que são deficientes em parede celular e, dessa maneira, não são sensíveis a beta lactâmicos); encapsulamento bacteriano; e reinfecção.

A glândula mamária é protegida por mecanismos de defesa primários e secundários. Os mecanismos de defesa primários são aqueles que previnem a entrada de patógenos para o interior da glândula e são associados com o canal do teto. Os secundários são um complexo sistema de mecanismos químicos, celulares e imunológicos, localizados no interior da glândula (GUIDRY, 1985). Fazem parte destes mecanismos a lactoferrina, o sistema-complemento, a lisozima e o sistema lactoperoxidase - tiocianato - peróxido de hidrogênio (SORDILLO *et al.*, 1997).

Segundo SOL *et al.* (1997), um estímulo inflamatório determina uma reação local representada pela liberação, ativação e síntese de mediadores químicos e manifesta-se por alterações hemodinâmicas e hematológicas. A grande quantidade de mediadores derivados do plasma ou das células e a atuação dos mecanismos de defesa da glândula mamária podem influenciar na sobrevivência de microrganismos como o *S. aureus* e, conseqüentemente, nas taxas de recuperação espontânea dos quartos mamários com mastite subclínica.

O Quadro 2 apresenta o número de quartos mamários curados e não curados, classificados de acordo com o número de lactações dos animais.

Assim como para as fases de lactação, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos

Quadro 2. Quartos mamários curados (com antimicrobiano ou com recuperação espontânea) e não curados, de acordo com o número de lactações

Idade	Quartos mamários				Total
	Curados	%	Não curados	%	
Grupo "Lac 1" (Primeiras 3 lactações)	5	23,8	16	76,2	21
Grupo "Lac 2" (lactações 4 e 5)	17	43,6	22	56,4	39
Grupo "Lac 3" (6 ou mais lactações)	10	55,6	8	44,4	18
Total	32	57,1	46	42,9	78

quando comparadas as taxas de cura de acordo com as ordens de lactação, apesar da taxa de cura inferior apresentada pelos quartos mamários pertencentes aos animais nas primeiras três lactações, quando comparados com os quartos oriundos de animais com seis ou mais lactações (23,8% contra 55,6%).

O nível de cura foi superior em animais com seis ou mais lactações (55,6%), seguindo-se animais na quarta e na quinta lactações (43,6%) e animais com até três lactações (23,8%). Estes resultados contrariam os achados de NICKERSON (1993), segundo o qual há uma resposta melhor ao tratamento da mastite quanto este é realizado em animais com um menor número de lactações.

O Quadro 3 apresenta os valores médios das características referentes aos quartos mamários com mastite subclínica curados e não curados, oriundas de leite colhido antes do tratamento, de acordo com o estágio de lactação.

Antes da instituição do tratamento com antimicrobianos, o período em que os quartos mamários não curados apresentaram a CCS mais elevada foi aquele em que os animais estavam com mais de 180 dias em lactação (656.000 células / mL). Apesar de quartos mamários com contagem celular mais elevada serem considerados mais difíceis de obtenção de sucesso ao tratamento durante a lactação, os quartos mamários da Fase "2" foram aqueles que apresentaram menor CCS mas também menor taxa de cura (211.000 células / mL e 25%). Entretanto, os resultados referentes à esta fase devem ser considerados com precaução, já que apenas dois quartos mamários curados foram estudados neste período.

Animais recuperados de casos de mastite subclínica podem apresentar uma produção de lei-

te inferior no início da lactação seguinte e, em alguns casos, apresentar uma menor produção por toda a lactação posterior. Isto deve ser levado em conta na fase "2", apesar do reduzido número de quartos estudados já exposto no parágrafo anterior, e na fase "1". Em ambas as fases mencionadas, os quartos mamários curados apresentaram uma produção média de leite, antes do tratamento, inferior à produção dos quartos não curados (4379,6g x 4641,0g na fase "1" e 3003,0g x 4183,7g na fase "2"). Talvez o tratamento possa não ser efetivo em elevar a produção de leite destes quartos mamários, tornando não vantajosa, economicamente, a terapia durante a lactação.

As outras características do leite constantes estão relacionadas com alterações da glândula mamária que podem estar vinculadas com as mudanças nos níveis celulares. Em determinadas fases, os teores de cloretos parecem acompanhar inversamente os resultados relacionados com a produção de leite. Nas Fases "3" e "4", antes do tratamento, quando os quartos posteriormente considerados curados apresentaram maior produção de leite quando comparados com os quartos considerados não curados (Fase "3": 4115,5g x 3671,7g; Fase "4": 3532,8g x 2039,9g), o teor de cloretos foi inferior para estes mesmos quartos mamários em comparação com os quartos mamários sem cura. Já nas fases "1" e "2" o conteúdo de cloretos do leite dos quartos posteriormente curados foi superior (Fase "2": 0,1551g x 0,1467g) ou semelhante ao dos quartos não curados (Fase "1": 0,1376g x 0,1379g).

A elevação do conteúdo de cloretos no leite de animais com mastite subclínica pode ser explicada pela alteração da concentração iônica devido ao aumento da permeabilidade capilar, assim como pela destruição de junções celulares e do sistema de bombeamento ativo de íons. O sódio e o cloro, presentes em altas concentrações no fluido extracelular,

Quadro 3. Valores médios^a para as características do leite de quartos mamários com mastite subclínica curados e não curados, de acordo com o estágio de lactação

Característica do leite	Quartos mamários Fase 1 ¹		Quartos mamários Fase 2 ¹		Quartos mamários Fase 3 ¹		Quartos mamários Fase 4 ¹	
	Curados	Não curados	Curados	Não curados	Curados	Não curados	Curados	Não curados
	CCS ² (cels mL ⁻¹)	400.000	461.000	211.000	408.000	492.000	415.000	396.000
Produção * (g)	4379,6a	4641,0c	3003,0	4183,7d	4115,7b	3671,7	3532,8	2039,9abcd
Cloretos (%)	0,1376	0,1379	0,1551	0,1467	0,1336	0,1503	0,1471	0,1574
Acidez (°D ³)	14,78	15,38	12,50	12,83	15,00	14,64	17,00	14,60
EST ² (%)	11,07	11,11	12,00	10,35	11,61	11,16	11,04	12,07
ESD ² (%)	8,51	8,54	8,27	8,11	8,47	8,55	8,69	8,82
Gordura (%)	2,53	2,57	3,72	2,24	3,14	2,61	2,34	3,25

^aOs valores médios correspondem a colheitas de amostras efetuadas antes do tratamento.

¹Fase 1: 1 a 60 dias em lactação; Fase 2: 61 a 120 dias em lactação; Fase 3: 121 a 180 dias em lactação; Fase 4: acima de 180 dias em lactação;

²CCS: Contagem de células somáticas (médias geométricas); EST: Extrato seco total; ESD: Extrato seco desengordurado; ³Graus Dornic.

*p < 0,05.

Letras iguais: Diferença significativa entre os grupos testados.

se direcionam para o lúmen do alvéolo, aumentando suas concentrações no leite (NIELEN *et al.*, 1992).

O teor de gordura, geralmente, sofre decréscimo no leite de vacas com mastite. Uma provável explicação para o valor médio do teor de gordura ter sido mais elevado nas amostras de leite dos quartos não curados (Fase "4") deve-se à redução da produção. Assim sendo, apesar desta redução, a síntese de gordura nestes quartos pode ter continuado a um mesmo nível que nos quartos não doentes (efeito de diluição) (ZAFALON, 2003). Os valores médios reduzidos de gordura para os quartos curados das Fases "1" e "4", talvez sejam pelas características individuais de determinados animais que foram selecionados para a colheita das amostras.

Amostras de leite de vacas sadias e de vacas com infecção clínica e subclínica foram avaliadas quanto à acidez titulável e sólidos totais por MOHAMED *et al.* (1999). A forma subclínica da mastite fez com que a diferença média para sólidos totais fosse significativa ao nível de 1%, enquanto o coeficiente de variação para acidez titulável foi significativamente afetado ao nível de 5%, apresentando o leite de vacas doentes valores inferiores de sólidos e acidez titulável, quando comparado com o de animais sadios.

NICOLAU (1994) observou que amostras de leite de quartos mamários sadios apresentavam valores médios mais elevados nas determinações de acidez titulável, E.S.T. e E.S.D., quando comparadas com amostras de leite oriundas de quartos com mastite subclínica e achados semelhantes foram encontrados por VIANNI e NADER FILHO (1990) e NICOLAU *et al.* (1996). ZAFALON e NADER FILHO (2001) relataram serem a acidez titulável e o teor de cloretos as características do leite mais alteradas por microrganismos do gênero *Staphylococcus* e *Corynebacterium* quando verificadas as diferenças entre os quartos mamários sadios e com mastite subclínica.

A mastite bovina determina uma série de alterações na composição e nas características físico-químicas do leite produzido por uma glândula mamária infectada. Pode-se atribuir estas alterações a três fatores principais: alterações na permeabilidade vascular devido ao processo inflamatório; lesão do epitélio secretor responsável pela síntese de alguns componentes do leite; e ação de enzimas originadas das células somáticas e de microrganismos presentes no leite (FONSECA e SANTOS, 2000).

A glândula com mastite subclínica apresenta alteração na composição do leite, com a tendência da mesma em aproximar-se à composição do sangue.

O leite de vacas com mastite possui maior teor de sódio, menor concentração de potássio, cálcio e fósforo, um pH maior e também uma menor acidez titulável. Somente em poucos casos as infecções da glândula mamária podem provocar o aparecimento de leite com maior acidez titulável, quando os microrganismos envolvidos são produtores de ácidos (RODRIGUES *et al.*, 1995).

Além do ácido láctico, outros componentes interferem na acidez do leite, entre eles os citratos, fosfatos, proteínas e gás carbônico. Dessa forma, a análise de amostras individuais de leite pode apresentar resultados que variam de 10 a 30° D, mesmo sabendo-se que no leite fresco é improvável haver presença de ácido láctico e que a carga microbiana é, normalmente, reduzida. Essa acidez deve-se aos demais componentes acídicos e não ao ácido láctico (FONSECA e SANTOS, 2000). Além disso, deve ser considerada a grande variação no nível de acidez quando se analisa o leite de cada vaca. Estas variações individuais são diluídas no leite de conjunto, sendo que o valor obtido passa para níveis aceitáveis como normais. Pelo fato dos valores apresentados no presente trabalho serem oriundos de amostras de leite

de quartos mamários individuais, esta seria a provável causa dos valores considerados anormais para a acidez titulável (Fase "2") e EST (Fases "1", "2", "3" e "4").

Depois de realizada a análise estatística dos dados, foi constatada diferença significativa apenas para os resultados referentes à produção de leite entre os quartos curados (4379,6g) e não curados (4641,0g) da Fase 1, quartos não curados da Fase 2 (4183,7g) e quartos mamários curados da Fase 3 (4115,7g), quando confrontados com os quartos não curados da Fase 4 (2039,9g). Ao serem analisados os resultados referentes aos quartos sadios que serviram de controle (dados não tabelados), as mesmas diferenças significativas foram encontradas. Os quartos mamários curados da Fase 2 não foram analisados estatisticamente pelo número reduzido de amostras.

No Quadro 4 estão presentes os valores médios de características, referentes aos quartos mamários com mastite subclínica curados e não curados, de leite colhida antes do tratamento, de acordo com o número de lactações.

Quadro 4. Valores médios^a para as características do leite de quartos mamários com mastite subclínica curados e não curados, de acordo com o número de lactações

Característica do leite	Quartos mamários Grupo "Lac 1" ¹		Quartos mamários Grupo "Lac 2" ¹		Quartos mamários Grupo "Lac 3" ¹	
	Curados	Não curados	Curados	Não curados	Curados	Não curados
	CCS ² (cels mL ⁻¹)	169.000	623.000	473.000	447.000	460.000
Produção (g)	3644,2	3221,5	4224,2	3651,2	3618,0	4607,5
Cloretos (%)	0,1607	0,1715	0,1639	0,1781	0,1851	0,1896
Acidez (°D ³)	15,40	15,69	15,59	14,18	15,60	13,88
EST ^{*2} (%)	11,85	12,35a	11,20	10,63a	11,22	10,68
ESD ² (%)	8,57	8,74	8,54	8,44	8,57	8,46
Gordura* (%)	3,28	3,60a	2,64	2,19a	2,64	2,23

^a Os valores médios correspondem a colheitas de amostras de leite efetuadas antes do tratamento.

¹ Lac 1: primeiras três lactações; Lac 2: 4^a e 5^a lactações; Lac 3: seis ou mais lactações; ²CCS: Contagem de células somáticas (médias geométricas); EST: Extrato seco total; ESD: Extrato seco desengordurado; ³ Graus Dornic.

* p < 0,05.

Letras iguais: Diferença significativa entre os grupos testados.

Entre os Grupos "Lac 1", "Lac 2" e "Lac 3", a maior diferença entre o número médio de células somáticas dos quartos que posteriormente apresentaram-se curados quando comparados com os quartos não curados foi encontrada para "Lac 1" (-72,9%,

+5,8% e +35,7%, respectivamente). Além disso, nesta fase foi encontrada a menor taxa de cura para a mastite subclínica por *S. aureus* (23,8%). O número médio de células somáticas nos quartos mamários não curados de "Lac 1" foi superior aos encontra-

dos para os grupos "Lac 2" e "Lac 3" (Quadro 4). Isto pode ter influenciado nas taxas de cura destes animais. Segundo SOL *et al.* (1994) e SOL *et al.* (1997), quanto maior o número de células somáticas no momento do tratamento, menor parece ser o sucesso da terapia intramamária durante a lactação.

MATTHEWS *et al.* (1992) citaram a importância de um úbere saudável em vacas que estão iniciando a sua vida produtiva, já que a condição sanitária destes animais terá um impacto sobre a futura produção e qualidade do leite, sendo imperativo que estas vacas comecem a lactação com uma baixa prevalência de infecções intramamárias no período inicial de lactação. Um rebanho em uma dada propriedade com um alto nível de reposições e contínua exposição das vacas ao *S. aureus* poderá ter uma alta incidência de infecções mesmo sendo o rebanho relativamente jovem. Se os níveis de cura após o tratamento durante a lactação apresentarem-se como os aqui encontrados para animais em lactações iniciais, a antibioticoterapia contra *S. aureus* não deve ser considerada vantajosa. Entretanto, vale lembrar que o Grupo "Lac 1" aqui estudado continha animais não apenas de primeira lactação, mas também de segunda e terceira lactações.

Vacas mais velhas e com maior número de lactações podem ser mais propensas a adquirir infecções por *S. aureus* e são mais difíceis de serem curadas quando se estabelecem infecções crônicas, com abscessos bem estabelecidos, ou ainda por danos permanentes à glândula por infecções prévias (COLDEBELLA *et al.*, 2003). Apesar disso, no presente trabalho, vacas com seis ou mais lactações e, conseqüentemente, consideradas mais antigas no rebanho, foram as que apresentaram a maior taxa de cura após o tratamento (55,6%). Uma possível explicação é que estes animais podem ter sofrido com menor intensidade fenômenos de estresse calórico acarretados por temperaturas mais elevadas, quando comparados com animais com menor número de lactações.

Outros fatores que podem influenciar na taxa de cura bacteriológica são o número de colônias que são obtidas em culturas de laboratório, quando a contagem é feita antes do tratamento, além da duração da terapia. Quanto menor o número de colônias e mais longo o período de tratamento, maior a possibilidade de sucesso ao tratar os animais durante a lactação (DELUYKER *et al.*, 2005). Além disso, desconhece-se o estágio infeccioso na glândula ma-

mária durante a obtenção dos dados ou mesmo a virulência das estirpes de *S. aureus* que acometeram os animais durante o estudo.

A produção média de leite dos quartos mamários de vacas que após o tratamento apresentaram cura foi superior à produção de quartos não curados, com exceção do Grupo "Lac 3". A mesma tendência foi observada para os quartos mamários sadios (dados não tabelados). Os resultados apresentados demonstram que os quartos mamários não curados classificados como pertencentes ao Grupo "Lac 3" produziam uma quantidade superior de leite quando comparados com os outros quartos. REIS *et al.* (2003) deduziram que a eficiência do tratamento durante a lactação, além da suscetibilidade dos agentes patogênicos frente aos antimicrobianos, estava relacionada à manutenção da droga no interior da glândula mamária por um período mínimo de 24 horas. Quanto maior a produção leiteira do animal, menores as chances de cura após o tratamento por possível diluição do medicamento na secreção láctea no interior da glândula mamária. Apesar disso, a menor taxa de quartos não curados foi a encontrada para o grupo "Lac 3".

Diferenças significativas após a análise estatística foram observadas para a gordura e para o EST, este influenciado pela primeira, entre os quartos mamários não curados do Grupo "Lac 1" e os quartos mamários não curados do Grupo "Lac 2". BUENO *et al.* (2005) constataram que apenas 0,16% da variação do teor de gordura deveu-se à CCS e que existe grande influência de outros fatores na concentração da gordura do leite. Estas diferenças também aconteceram nos quartos que serviram de controle (dados não tabelados), o que corrobora a possibilidade de fatores nutricionais, por exemplo, atuarem nas mudanças dos teores de gordura do leite.

A viabilidade econômica do tratamento da mastite subclínica por *S. aureus* durante a lactação deveria ser considerada, apenas, quando a produção de leite após a terapia aumentar a receita líquida do produtor, somadas as vantagens de eliminação de fontes de infecção quando as taxas de cura forem adequadas. A associação de medidas posteriores de manejo para prevenir novos casos de mastite, como a higiene do animal e do local onde as vacas são ordenhadas, o correto funcionamento do equipamento de ordenha e a anti-sepsia dos tetos após a ordenha, seriam de grande utilidade como parte de um programa de controle da mastite

subclínica por *S. aureus*.

CONCLUSÕES

A terapia durante a lactação contra a mastite subclínica causada por *S. aureus* mostrou-se mais eficiente em animais com mais de 180 dias em lactação. Na propriedade estudada, o tratamento não foi considerado eficaz em animais com menor número de lactações, quando comparados com animais em idade mais avançada. Os resultados encontrados não permitem a utilização de características físico-químicas ou celulares para selecionar animais para o tratamento durante a lactação.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Processo nº 98/16087-6.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL L.A.; NADER FILHO A.; LEW B.J. Estudo da variação do teor de cloretos no colostro e no leite de vacas sadias. *Ars Veterinária*, Jaboticabal, v.4, n.1, p.105-112, 1988.
- BAILEY, T.L. et al. Using records to evaluate milk production. *Veterinary Medicine*, London, v. 93, n.12, p.1083-1093, 1998.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Métodos Analíticos Oficiais para Controle de Produtos de Origem Animal e seus Ingredientes**. II- Métodos físico-químicos. Brasília: 1981. 174p.
- BUENO, V.F.F. et al. 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.
- COLDEBELLA, A. et al. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas de alta produção. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.38, n.12, p.1451-1457, 2003.
- COSTA, E.O. et al. Tratamento da mastite clínica e subclínica por via intramamária: avaliação "in vitro" e "in vivo". In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., 1997, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: 1997. p. 278.
- DELUYKER, H.A. et al. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.88, n.2, p.604-614, 2005.
- DINIZ, M.A.P.R. et al. Tratamento de mastite subclínica e clínica, em vacas lactantes, com ácido acetilsalicílico, mastenzin e associação mastenzin com ácido acetilsalicílico. *A Hora Veterinária*, ano 18, n.104, p.27-33, 1998.
- FARIA, J.E. et al. Infecção estafilocócica em vacas no final da lactação e no início da seguinte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.48, n.5, p.533-541, 1996.
- FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.
- GUIDRY, A.J. Mastitis and the immune system of the mammary gland. In: ANDERSON, R.R. et al. **Lactation**. 1.ed. Bruce Larson: Iowa State University Press, 1985. p.229-258.
- HARMON, R.J. et al. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection**. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.
- HOLMBERG, O. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.45, p.1-144, 1973 (Supl.).
- HOLT, J.G. et al. Gram-positive cocci. In: **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p.544-551.
- INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Standards 148. **Milk**. Enumeration of somatic cells. Brussels: IDF, 1991.
- LANGONI, H. et al. Eficácia do Leocillin[®] no tratamento da mastite bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 25., 1997, Porto Alegre. *Anais...* Porto Alegre: 1997. p.285.
- LESCOURRET, F.; COULON, J.B. Modeling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.77, n.8, p.2289-2301, 1994.
- MATTHEWS, K.R.; HARMON, R.J.; LANGLOIS, B.E. Prevalence os *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.75, n.7, p.1835-1839, 1992.

- MOHAMED, I.E.; EL OWNI, O.A.O.; MOHAMED, G.E.E. Effect of mastitis on milk quality of Friesian cows in a Khartoum state. **Indian Journal of Animal Sciences**, New Delhi, v.69, p.733-735, 1999.
- MORITA, T.; ASSUMPCÃO, R.M.V. **Manual de soluções reagentes e solventes**. São Paulo: Edgar Blucher, 1972. 627p.
- NICKERSON, S.C. Preventing new *Staphylococcus aureus* infections. **Veterinary Medicine**, v.88, n.4, p.368-374, 1993.
- NICOLAU, E.S. **Influência da mastite subclínica bovina causada por *Staphylococcus* coagulase positiva e *Staphylococcus* coagulase negativa sobre a qualidade e a quantidade do leite secretado pelos quartos afetados**. 1994. 101f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal, 1994.
- NICOLAU, E.S. et al. Influência da mastite subclínica estafilocócica sobre as características físico-químicas e celulares do leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.16, p.35-38, 1996.
- NIELEN, M. et al. Electrical conductivity of milk: measurement, modifiers, and meta analysis of mastitis detection performance. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.75, n.2, p.606-614, 1992.
- OMORE, A.O. et al. Impact of mastitis control measures on milk production and mastitis indicators in smallholder dairy farms in Kiambu district, Kenya. **Tropical Animal Health and Production**, Edinburgh, v.31, n.6, p.347-361, 1999.
- 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**, Belo Horizonte, v.55, n.6, p.651-658, 2003.
- RODRIGUES, R.; FONSECA, L.M.; SOUZA, M.R. Acidez do leite. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n.13, p.63-72, 1995.
- SABOUR, P.M. et al. Molecular Typing and Distribution of *Staphylococcus aureus* Isolates in Eastern Canadian Dairy Herds. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, n.8, p.3449-3455, 2004.
- SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SHEPHARD, R.W.; MALMO, J.; PFEIFFER, D.U. A clinical trial to evaluate the effectiveness of antibiotic treatment of lactating cows with high somatic cell counts in their milk. **Australian Veterinary Journal**, Melbourne, v.78, n.11, p.763-768, 2000.
- SOL, J. et al. Factors associated with bacteriological cure after dry cow treatment of subclinical *Staphylococcus* mastitis with antibiotics. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.77, n.1, p.75-79, 1994.
- SOL, J. et al. Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.11, p. 2803-2808, 1997.
- SORDILLO, L.M.; SHAFER-WEAVER, K.; DeROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.80, n.8, p.1851-1865, 1997.
- VIANNI, M.C.E.; NADER FILHO, A. Variação das características físico-químicas e celulares do leite de vacas com mastite subclínica. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v.4, p.8-9, 1990.
- ZAFALON, L.F.; NADER FILHO, A. Influência de bactérias patogênicas sobre as características lácteas de quartos mamários bovinos com mastite subclínica. In: ENCONTRO CIENTÍFICO DE PÓS-GRADUANDOS DA FCAV, 3., 2001, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: 2001. (CD-ROM).
- ZAFALON, L.F. **Mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus*: qualidade e quantidade de leite secretado por quartos tratados e não tratados e relação custo/benefício do tratamento durante a lactação**. 2003.