

INFLUÊNCIA DO TRATAMENTO DA MASTITE SUBCLÍNICA BOVINA SOBRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE¹

LUIZ FRANCISCO ZAFALON², LUIZ AUGUSTO DO AMARAL², ANTÔNIO NADER FILHO², JOSÉ VICTOR DE OLIVEIRA³, FLÁVIO DUTRA DE RESENDE³, GENER TADEU PEREIRA⁴

¹Recebido para publicação em 18/08/00. Aceito para publicação em 10/12/01.

²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, FCAV, UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14870-000, Jaboticabal, SP, E-mail: zafalon@fcav.unesp.br

³Pólo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, APTA, Av. Rui Barbosa, s/nº, Caixa. postal 35, 14770-000, Colina, SP.

⁴Departamento de Ciências Exatas, FCAV, UNESP, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, 14870-000, Jaboticabal, SP

RESUMO: Foram colhidas 116 amostras de leite procedentes de 29 quartos mamários com mastite subclínica e 29 quartos homólogos sadios com o objetivo de avaliar a eficiência do tratamento da mastite subclínica efetuado durante a lactação e de verificar a influência da doença e do tratamento sobre as características celulares do leite. Os resultados obtidos evidenciaram a cura de 17 (58,6%) quartos tratados e que a mastite subclínica afetou significativamente ($p < 0,01$) os valores da contagem de células somáticas. O tratamento durante a lactação provocou uma queda do valor médio de células somáticas dos quartos doentes de 768×10^3 células / ml de leite para 280×10^3 células / ml de leite.

Palavras chave: mastite subclínica, tratamento, células somáticas, leite bovino.

INFLUENCE OF BOVINE SUBCLINICAL MASTITIS TREATMENT UPON SOMATIC CELLS COUNT FROM MILK

ABSTRACT: One hundred and sixteen milk samples from 29 mammary quarters with subclinical mastitis and 29 healthy colateral quarters were analysed with the objective of evaluating the subclinical mastitis treatment efficiency made during lactation and of evaluating the affection and treatment influence upon cellular characteristics of the milk. The obtained results showed the cure of 17 (58.6%) treated quarters and subclinical mastitis affected significantly ($p < 0.01$) the somatic cells counts. The treatment during lactation induced a decrease of the somatic cells count average from affected quarters of 768×10^3 cells / ml of milk to 280×10^3 cells / ml of milk.

Key words: subclinical mastitis, treatment, somatic cells, bovine milk.

INTRODUÇÃO

As células somáticas do leite são representadas, principalmente, por leucócitos polimorfonucleares e a presença de infecção

intramamária ou de inflamação na glândula mamária constitui-se no principal fator que determina a elevação do número de células somáticas no leite de um rebanho ou de uma vaca leiteira (HARMON, 1998).

A contagem de células somáticas no leite é um método convencional e amplamente utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica bovina. Além de valiosa utilidade na detecção da enfermidade em rebanhos, este método também pode avaliar a qualidade do produto que é enviado aos laticínios. Este fato assume destacada importância, uma vez que o pagamento do leite pela sua qualidade é, cada vez mais, efetuado por diversos laticínios, além de outros testes como o do azul de metileno e o de sedimentação, por exemplo, não serem suficientes para avaliar a qualidade do produto (HEESCHEN & REICHMUTH, 1995; SOUZA *et al.*, 1997).

A terapia antimicrobiana pode constituir-se em uma técnica poderosa para o controle da mastite, principalmente quando outros métodos não apresentam resultados. Na maioria dos casos, porém, o tratamento da mastite subclínica é realizado apenas no período seco, diferentemente dos casos de mastite clínica cujo tratamento deve ser realizado durante o período de lactação. NICKERSON (1998) cita que o tratamento da mastite subclínica durante a lactação é somente indicado quando o produtor estiver ameaçado de perder seu mercado devido a alta porcentagem de vacas infectadas.

Apesar das perdas na produção de leite associadas com a mastite clínica serem facilmente visíveis, Du Preez & Giesecke (1994), citados por COSTA (1998), observaram que a mastite subclínica representa 82% das perdas com a redução da produção láctea total, sendo que a forma clínica é responsável por apenas 18% do prejuízo total, devido a mortes e descartes prematuros.

Tendo em vista a crescente utilização do método da contagem de células somáticas do leite para o pagamento do produtor pela qualidade do seu produto, idealizou-se este trabalho com o intuito de verificar a eficiência do tratamento da mastite subclínica bovina efetuado durante a lactação e de averiguar a contagem de células somáticas do leite de quartos mamários com mastite subclínica, antes e após o tratamento.

MATERIAL E MÉTODOS

Em uma propriedade rural produtora de leite tipo C, pertencente ao Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana de Colina, Estado de São Paulo, foram selecionados 42 pares de quartos mamários de animais cujas secreções mostravam-se reagentes ao "California Mastitis Test" (CMT), em um de seus quartos e negativos no quarto oposto correspondente, totalizando 168 amostras de leite. Destes, 29 pares de quartos mamários foram selecionados ao acaso para posterior tratamento dos quartos reagentes, e outros 13 pares de quartos mamários foram selecionados para acompanhamento da evolução dos casos de mastite subclínica ao não se realizar tratamento. A população bovina era constituída por 80 vacas lactantes mestiças que eram submetidas ao sistema semi-intensivo de criação, cuja alimentação baseava-se no arraçoamento a cocho, volumoso e pastagens.

As amostras de leite foram colhidas em tubos de ensaio esterilizados, de acordo com as normas de assepsia propostas por VEISSEYRE (1972) e transportadas em caixas de material isotérmico, contendo cubos de gelo, aos laboratórios do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal/UNESP, para a realização dos exames bacteriológicos e celulares (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1990).

Foi realizado o isolamento e a identificação de bactérias pertencentes aos gêneros *Staphylococcus* (HOLMBERG, 1973; CARTER, 1988), *Streptococcus* (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1990), *Corynebacterium* (CARTER, 1978) e ao grupo coliforme (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1990). A partir dos agentes etiológicos isolados, procedia-se a realização dos testes de sensibilidade "in vitro" segundo BAUER *et al.* (1966). As contagens de células somáticas foram realizadas de acordo com o método de Prescott & Breed, modificado pelo SUBCOMMITTEE ON SCREENING TESTS, NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1968).

Os tratamentos foram realizados com gentamicina (150mg) durante três dias consecutivos, duas vezes ao dia, por infusão intramamária, com a escolha do princípio ativo fundamentando-se nos resultados oferecidos pelos antibiogramas. A eficiência das medidas terapêuticas foi avaliada trinta dias após o término do tratamento, com nova realização do "CMT" da contagem de células somáticas (CCS) e do isolamento e identificação dos microrganismos, de acordo com os procedimentos descritos anteriormente. Este mesmo período de tempo foi observado para a reavaliação das amostras ao não se realizar o tratamento durante a lactação. Foram considerados curados os quartos cujas amostras de leite mostraram-se negativas ao "CMT" e ao isolamento dos microrganismos em questão. Os dados obtidos foram submetidos ao teste-t para amostras pareadas, uma vez que foram comparados resultados da análise de leite de quartos mamários oriundos de um mesmo animal, visando controlar variações individuais. Leva-se em consideração, dessa maneira, que a hipótese nula é aquela em que a diferença média é zero e a hipótese alternativa é aquela em que a diferença média não é igual a zero, após realização do teste em questão para diferenças pareadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os microrganismos isolados nas amostras de leite dos quartos reagentes ao CMT que foram tratados encontram-se no Quadro 1, enquanto os microrganismos isolados no leite originado dos quartos mamários não tratados encontram-se no Quadro 2. Verifica-se que os *Staphylococcus* coagulase positiva foram os agentes etiológicos mais frequentemente isolados nestas amostras (31,0% e 53,8%, respectivamente). Já no Quadro 3 encontra-se a distribuição dos quartos mamários curados após a realização do tratamento da mastite subclínica bovina durante a lactação, mais a evolução dos quartos mamários não tratados contra mastite subclínica bovina durante a lactação.

Observa-se que entre os 13 quartos não tratados, três (7,1%) recuperaram-se espontaneamente, enquanto entre os 29 quartos

tratados, 17 (40,5%) foram considerados curados, independente do microrganismo envolvido. Este achado foi superior ao encontrado por SOL *et al.* (1997) e inferior ao verificado por LANGONI *et al.* (1997) que, efetuando o tratamento contra microrganismos causadores de mastite subclínica, encontraram taxas de cura de 34% e 90%, respectivamente. Vários fatores podem influenciar a eficiência do tratamento da forma subclínica de mastite durante a lactação, dentre os quais destacam-se a contagem de células somáticas do leite no momento do tratamento, além das condições de manejo. Medidas de controle devem ser associadas ao tratamento visando reduzir o nível de mastite em um rebanho com o objetivo de prevenir a ocorrência de novos casos (reduzir a taxa de novas infecções) (COSTA & WATANABE, 1999).

No Quadro 4 encontra-se a distribuição dos valores médios das contagens de células somáticas em amostras de leite dos 13 quartos mamários com mastite subclínica não tratados durante a lactação e dos seus 13 quartos homólogos sadios, antes e depois da realização do tratamento. No Quadro 5 está a distribuição dos valores médios das contagens de células somáticas em amostras de leite dos 29 quartos mamários com mastite subclínica tratados durante a lactação e dos seus 29 quartos homólogos sadios, antes e depois da realização do tratamento. A variação entre as contagens de células somáticas no leite dos quartos estudados, que era de 741,4%, diminuiu para 570,8% após reavaliação, fato este talvez devido a interferência dos quartos mamários que tiveram cura espontânea. A variação entre as contagens de células somáticas no leite dos quartos submetidos ao tratamento e seus contralaterais sadios, que era de 448,6% antes do tratamento, diminuiu para 133,3% depois da realização do tratamento. A variação encontrada antes do tratamento foi menor que a verificada por RAINARD *et al.* (1990) e NICOLAU *et al.* (1996), porém foi superior à observada por VIANNI & NADER FILHO (1990), cujos valores foram iguais a 1142,5%, 2246,4% e 281,2%, respectivamente. Tais diferenças talvez possam ser explicadas pelas distintas situações de manejo existentes em cada propriedade estudada.

Quadro 1. Agentes etiológicos isolados de amostras de leite de quartos mamários reagentes ao CMT, antes da realização do tratamento, Colina, SP

AGENTES ETIOLÓGICOS	Nº	%
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	9	31,0
<i>Corynebacterium</i> sp	8	27,6
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	4	13,8
<i>Corynebacterium</i> sp + <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	3	10,3
<i>Streptococcus</i> sp	2	6,9
<i>Corynebacterium</i> sp + <i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	2	6,9
<i>Corynebacterium</i> sp + <i>Streptococcus</i> sp	1	3,5
TOTAL	29	100,0

Quadro 2. Agentes etiológicos isolados de amostras de leite de quartos mamários reagentes ao CMT nos quais não foi realizado tratamento durante a lactação, Colina, SP

AGENTES ETIOLÓGICOS	Nº	%
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	7	53,8
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativa	3	23,1
<i>Corynebacterium</i> sp	2	15,4
<i>Corynebacterium</i> sp + <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	1	7,7
TOTAL	13	100,0

Quadro 3. Distribuição dos quartos mamários tratados e não tratados contra mastite subclínica bovina durante a lactação, Colina, SP

		Nº	%
		Quartos mamários	
Com tratamento	Curados	17	40,5
	Não curados	12	28,6
Sem tratamento	Mastite subclínica	8	19,0
	Recuperação espontânea	3	7,1
	Mastite clínica	2	4,8
TOTAL		42	100,0

Quadro 4. Distribuição dos valores médios das contagens de células somáticas (CCS) das amostras de leite dos quartos mamários com mastite subclínica, obtidos sem a realização do tratamento durante o período de lactação, com respectivas variações, Colina, SP

	CCS		Variação (%)	p ^a
	Quartos reagentes (x 10 ³)	Quartos não reagentes (x 10 ³)		
Avaliação	589	70	+ 741,4	0,0000*
Reavaliação	486	72	+ 570,8	0,0000*

^a P<0,01: significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste "T"; P>0,01: não significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste "T".

Quadro 5. Distribuição dos valores médios das contagens de células somáticas (CCS) das amostras de leite dos quartos mamários com mastite subclínica, obtidos antes e depois do tratamento realizado durante o período de lactação, com respectivas variações, Colina, SP

	CCS/ml de leite		Variação (%)	p ^a
	Quartos tratados (x 10 ³)	Quartos sadios (x 10 ³)		
Antes do Tratamento	768	140	+ 448,6	0,0000
Depois do tratamento	280	120	+ 133,3	0,0035

^a P<0,01: significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste "T"; P>0,01: não significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste "T".

Tais achados parecem assumir destacada importância, tendo em vista a crescente utilização da contagem de células somáticas como sendo um dos quesitos utilizados pelos laticínios para o pagamento do leite. Acredita-se que, dessa maneira, talvez possa ser modificada a conduta dos técnicos e produtores no sentido de se repensar a possibilidade do tratamento das formas subclínicas da mastite bovina durante o período de lactação, somente quando outras alternativas não dão resultado, ainda mais quando tanto patógenos primários quanto secundários da doença podem aumentar significativamente a contagem de células somáticas ao serem comparados quartos mamários doentes e sadios (ZAFALON *et al.*, 1999). Deve-se assinalar ainda que a não realização do tratamento de casos de mastite subclínica em um rebanho com alta prevalência desta enfermidade pode acarretar reflexos negativos decorrentes do aparecimento de casos clínicos.

Há quantidade considerável de pesquisas indicando que a produção de leite diminui na medida que a contagem de células somáticas aumenta. Com esta elevação do número de células somáticas, o teor da enzima plasmina também eleva-se, causando danos à caseína, o mais importante componente do leite que contribui para a produção de queijo. Assim, o sabor, a validade e a qualidade do produto podem diminuir com o aumento da contagem de células somáticas do leite. Os gastos adicionais representados pelo tratamento das vacas infectadas e pelo descarte do leite secretado por estes animais talvez possam ser compensados pelo ganho decorrente do pagamento por um produto com menor número de células somáticas e, conseqüentemente, de melhor qualidade, além do tratamento poder aumentar a produção láctea dos animais tratados, assim como melhorar a qualidade e a rentabilidade do queijo produzido após o tratamento dos casos subclínicos da doença.

Acredita-se, ainda, que novas investigações desta natureza devam ser desenvolvidas em nosso meio, especialmente com a finalidade de se avaliar a relação custo-benefício decorrente da realização do tratamento dos casos de mastite subclínica durante o período de lactação, assim como seus efeitos sobre a presença ou não de resíduos no leite, que podem representar riscos à saúde pública e interferir em processos de industrialização do produto.

CONCLUSÕES

O tratamento da mastite subclínica durante a lactação foi eficaz para levar à cura de quartos mamários em número suficiente para diminuir a variação da contagem de células somáticas entre quartos mamários que serviram de controle e quartos mamários tratados. Mais estudos devem ser realizados para estudar a influência do tratamento sobre outras características do leite, tais como teor protéico, gorduroso, entre outras.

AGRADECIMENTOS:

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo financiamento do trabalho e a Fabiano Gazzi Tadei, pelo transporte das amostras.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAUER, A.W., KIRK, M.M., SHERRIN, J.D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. *Am. J. of Clin. Pathol.*, Philadelphia, v.45, p.493-496, 1966.
- CARTER, G.R. *Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology*. 2. ed. . Illinois: Charles C. Thomas, 1978. 113 p.
- CARTER, G.R. *Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária*. 3.ed. São Paulo: Roca, 1988. 249 p.
- COSTA, E.O. da. Importância da mastite na produção leiteira do país. *R. Edu. Cont.*, São Paulo, v.1, n.1, p.3-9, 1998.
- COSTA, E.O., WATANABE, E.T. Tratamento da mastite. In: *ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES*, 3., Botucatu, 1999. Anais... Botucatu: FMVZ-UNESP, 1999. p.87-102.
- HARMON, R.J. Fatores que afetam as contagens de células. In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE*, 1., Curitiba, 1998. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p.7-15.
- HEESCHEN, W., REICHMUTH, J. Mastitis: influence on qualitative and hygienic properties of milk. In: *INTERNATIONAL MASTITIS SEMINAR*, Tel Aviv, 1995.. Proceedings... Tel Aviv: 1995. p.3.3-3.13.
- HOLMBERG, O. Staphylococcus epidermidis isolated from bovine milk. *Acta Vet. Scand.*, Copenhagen, v.45, Suppl., p.1-144, 1973.
- LANGONI, H., DEVELEY, A., DOMINGUES, P.F. *et al.* Eficácia do Leocillin[®] no tratamento da mastite bovina. In: *CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA*, 25., Porto Alegre, 1997. Anais... Porto Alegre: 1997. p.285.
- NATIONAL MASTITIS COUNCIL. *Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection*. Arlington: The National Mastitis Council Inc., 1990. 34 p.
- NICKERSON, S.C. Estratégias para controlar a mastite bovina. In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE*, 1., Curitiba, 1998. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p.20-27.
- NICOLAU E.S., NADER FILHO A., AMARAL L.A. *et al.* Influência da mastite subclínica estafilocócica sobre as características físico-químicas e celulares do leite. *Pesq. Vet. bras.*, Brasília, v.16, n.1, p.35-38, 1996.
- PHILPOT, W.N. Control of mastitis by hygiene and therapy. *J. of Dairy Sci.*, Champaign, v.62, n.1, p.168-176, 1979.
- PHILPOT, W.N. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam a qualidade do leite. In: *SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE* 1, Curitiba, 1998. Anais... Curitiba: Universidade Federal do Paraná, 1998. p.28-35.
- RAINARD, P., DUCHELLIEZ, M., POUTREL, B. The

contribution of mammary infections by coagulase-negative staphylococci to the herd bulk milk somatic cell count. *Vet. Res. Comm., Dordrecht*, v.14, p.193-198, 1990.

SOL, J., SAMPIMON, O.C., SNOEP, J.J. *et al.* Factors associated with bacteriological cure during lactation after therapy for subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *J. of Dairy Sci., Champaign*, v.80,n.11, p.2803-2808, 1997.

SOUZA, M.R., SIQUEIRA, I.M.C., LEITE, M.O. *et al.* Avaliação do leite cru submetido ao sistema de pagamento por qualidade, em laticínios de Minas Gerais, Brasil. *Hig. Alim., São Paulo*, v.11, n.49, p.24-26, 1997.

SUBCOMMITTEE ON SCREENING TESTS
NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Direct

microscopic somatic cell count in milk. *J. of Milk Food Technol., New York*, v.1, p.350-354, 1968.

VEISSEYRE, R. *Lactologia Tecnica*. Zaragoza: Acribia, 1972. 629 p.

VIANNI, M.C.E., NADER FILHO, A. Variação das características físico-químicas e celulares do leite de vacas com mastite subclínica. *Ci. Vet., México*, v.4, p.8-9, 1990.

ZAFALON, L.F., AMARAL, L.A., NADER FILHO, A. *et al.* Influência de bactérias do gênero *Corynebacterium* e estafilococos coagulase positivos e negativos sobre a contagem de células somáticas e a produção láctea de quartos mamários com mastite subclínica. *Napgama., São Paulo*, v.2, n.6, p.4-6, 1999.