

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**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**

Luiz Francisco Zafalon
Médico Veterinário

Jaboticabal – São Paulo – Brasil
2003

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**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**

**Luiz Francisco Zafalon
Prof. Dr. Antônio Nader Filho**

Tese apresentada ao programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária – Área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva

**Jaboticabal – SP
Fevereiro - 2003**

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

LUIZ FRANCISCO ZAFALON – Nova Aliança – SP, 20/01/1972. Quarto filho de Irineu Junio Zafalon e Herotildes Martins Zafalon, iniciou o curso de Medicina Veterinária em 1990 pela Universidade Estadual de Londrina, onde graduou-se no ano de 1995. Foi bolsista de iniciação científica no Instituto Agrônomo do Paraná de 1993 a 1995. cursou o Mestrado na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, de 1996 a 1998, obtendo o grau de Mestre em Medicina Veterinária na área de Medicina Veterinária Preventiva ao estudar a influência da mastite subclínica bovina sobre a qualidade e a quantidade de leite secretado por quartos tratados e não tratados. Foi representante discente no Conselho do Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Medicina Veterinária Preventiva, de 1996 a 1997. Iniciou o seu Doutorado no ano de 1999, também pela Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, obtendo o grau de Doutor em Medicina Veterinária, na área de Medicina Veterinária Preventiva, no ano de 2003, estudando a mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus* e a sua influência sobre a qualidade e produção lácteas, além da relação custo/benefício do tratamento com antimicrobiano durante a lactação.

**“Nada é mais digno de nosso patrocínio que o fomento da ciência e da literatura. O conhecimento é, em todo e qualquer país, a base mais segura da felicidade pública”.
(George Washington, 8 de janeiro de 1790)**

Dedico

Aos meus pais, Irineu e Herotildes, pelo eterno estímulo para alcançar os meus objetivos, e à toda minha família, por tê-la ao meu lado.

AGRADECIMENTOS

Ao professor Antônio Nader Filho, pela amizade e por tão sabiamente orientar nos momentos que eram necessários.

Aos professores José Jurandir Fagliari, Hélio Langoni, Paulo Francisco Domingues e Vanerli Beloti, pelas contribuições que tanto engrandeceram este trabalho.

Aos professores Luiz Augusto do Amaral, Oswaldo Durival Rossi Júnior e Luiz Francisco Prata, pelo auxílio prestado e cordialidade nas sugestões.

Aos demais professores do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, pelo dia-a-dia, ensinamentos e amizade.

A todos os funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal, em especial a Liliana Biondi Naka e Waldemar Dibelli Júnior.

Ao Instituto de Zootecnia de Colina, pesquisadores Flávio Dutra de Rezende, José Victor de Oliveira e aos funcionários Antônio Augusto Brait, Edson Luiz Meneguelo, Francisco Tomaz Ferreira Neto, Marcelo Martins, Marcos Antônio Brait e Milton Alves Bueno, que fizeram este trabalho possível de ser realizado.

À professora Maria Madalena Zocoler, do Departamento de Economia Rural da FCAVJ/UNESP e à professora Maria Regina Barbieri de Carvalho e funcionária Tânia Mara Azevedo de Lima, do Departamento de Tecnologia da FCAVJ/UNESP, sem as quais os resultados encontrados não teriam a devida importância.

À FCAVJ/UNESP pela oportunidade cedida para o desenvolvimento de meus estudos.

À Ana Carolina Vaz Colete, por dividir alegrias, incertezas e a ansiedade.

À FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento do trabalho.

A todos que compartilharam problemas e soluções, muito obrigado!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	iii
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	2
3. REVISÃO DE LITERATURA	3
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	11
4.1 Características da propriedade rural e da população bovina	11
4.2 Seleção dos animais e número de quartos mamários estudados	11
4.2.1 Realização da prova do “California Mastitis Test”	11
4.2.2 Determinação da condutividade elétrica do leite	12
4.3 Fases de lactação.....	12
4.4 Colheita de amostras de leite para a realização do isolamento e identificação de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i>	13
4.5 Colheita de amostras de leite para a realização das análises físico- químicas e celulares	14
4.6 Análises físico-químicas do leite	14
4.6.1 Determinação da acidez titulável	14
4.6.2 Determinação da densidade	14
4.6.3 Determinação do teor de gordura	15
4.6.4 Determinação do extrato seco total.....	15
4.6.5 Determinação do extrato seco desengordurado.....	15
4.6.6 Determinação do ponto crioscópico	15

4.6.7 Pesquisa do teor de cloretos	16
4.6.8 Determinação da proteína total, proteína verdadeira, caseína e soroproteínas	16
4.7 Pesagem do leite	17
4.8 Contagem de células somáticas	18
4.9 Antibiogramas.....	19
4.10 Tratamentos dos quartos mamários e acompanhamento dos quartos não tratados	20
4.11 Avaliação da eficiência do tratamento	20
4.12 Determinação das características físico-químicas e celulares do leite dos quartos mamários tratados e não tratados	20
4.13 Prevalência de mastite subclínica por <i>Staphylococcus aureus</i>	21
4.14 Avaliação da relação custo-benefício dos tratamentos.....	21
4.15 Análise estatística.....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
6. CONCLUSÕES.....	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
APÊNDICE.....	57

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Comparações dos componentes do leite produzido por vacas com mastite subclínica e por vacas sadias	6
Tabela 2. Valores de referência de diversos fatores para a análise dos gastos com o tratamento da mastite subclínica durante a lactação	23
Tabela 3. Contagens de células somáticas (CCS) e respectivas percentagens de premiação e desconto sobre o preço do leite produzido.....	23
Tabela 4. Valores médios das contagens de células somáticas (CCS) e produção láctea com respectivas diferenças entre quartos mamários tratados com gentamicina e quartos sadios.....	26
Tabela 5. Valores médios das contagens de células somáticas (CCS) e produção láctea com respectivas diferenças entre quartos mamários não tratados e quartos sadios	27
Tabela 6. Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia, teor de cloretos e respectivas diferenças durante a Fase 1, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação	29
Tabela 7. Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos, com respectivas diferenças, durante a Fase 2, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação	32

Tabela 8. Médias das frações protéicas durante a Fase 1 e respectivas diferenças, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação	33
Tabela 9. Médias das frações protéicas durante a Fase 2 e respectivas diferenças, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação	34
Tabela 10. Taxas de cura de mastite subclínica por <i>Staphylococcus aureus</i> após tratamento dos quartos mamários, de acordo com a fase de lactação	36
Tabela 11. Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos, com respectivas diferenças, durante a Fase 1, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação.....	38
Tabela 12. Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos, com respectivas diferenças, durante a Fase 2, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação.....	39
Tabela 13. Médias e diferenças existentes entre as frações protéicas durante a Fase 1, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação	40

Tabela 14. Médias e diferenças existentes entre as frações protéicas durante a Fase 2, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação	41
Tabela 15. Evolução do quadro de mastite subclínica sem a realização do tratamento, de acordo com a fase de lactação	41
Tabela 16. Variações (%) das receitas oriundas da produção de leite dos quartos mamários tratados durante a lactação contra mastite subclínica por <i>Staphylococcus aureus</i> e não tratados, em um intervalo de quatro semanas	42

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

RESUMO – Estudou-se a influência da mastite subclínica bovina causada por *Staphylococcus aureus* sobre a qualidade e a quantidade do leite secretado por quartos tratados e não tratados e avaliou-se a relação custo/benefício do tratamento na lactação. Amostras de leite obtidas de vacas em duas fases de lactação, classificadas como Fase 1 e Fase 2, com animais até o final do segundo mês de lactação e do início do terceiro até o nono mês, respectivamente, foram submetidas a análises bacteriológicas, físico-químicas e citológicas. A mastite subclínica influenciou as variações ($p < 0,05$) nas contagens de células somáticas, acidez titulável, densidade, extrato seco desengordurado, teor de cloretos e soroproteínas em ambas as fases estudadas. Após o tratamento, as diferenças entre os quartos mamários tratados e os quartos que serviram como controle diminuíram para todas as características estudadas, com exceção da produção de leite, proteína total, proteína verdadeira e soroproteínas nas duas fases, e do teor de gordura e da caseína, em uma das fases. As taxas de cura das Fases 1 e 2 foram de 79,0% e 83,3% e as taxas de recuperação espontânea de 21,4% e 3,7%, respectivamente. Não houve aumento das receitas com a produção de leite após o tratamento da mastite subclínica bovina causada por *S. aureus* durante a lactação.

Palavras-Chave: mastite subclínica, *Staphylococcus aureus*, custos, leite, tratamento

BOVINE SUBCLINICAL MASTITIS BY *Staphylococcus aureus*: MILK QUALITY AND QUANTITY FROM TREATED AND UNTREATED QUARTERS AND COST/BENEFIT RELATION OF THE TREATMENT IN THE LACTATION

ABSTRACT – The influence of bovine subclinical mastitis by *Staphylococcus aureus* upon milk quality and quantity of treated and untreated quarters and the treatment cost/benefit relation were studied. Bacteriologic, physical-chemical and cellular analysis of milk samples from two stages of lactation, classified as Stage 1 and Stage 2, from animals until the second month of lactation and from animals of the third lactation month until the ninth lactation month, respectively, were performed. Subclinical mastitis influenced variations ($p < 0.05$) in the somatic cells count, titratable acidity, density, non fat solids, chloride levels and soroproteins in both lactation stages. After treatment, variations between treated mammary quarters and healthy quarters were reduced for all characteristics, except for milk production, total protein, true protein and soroproteins, in both stages, and for fat contents and casein in the Stage 1. The cure in the stages 1 and 2 were 79.0% and 83.3%, respectively. Spontaneous recovery rates were 21.4% and 3.7% for stages 1 and 2, respectively. There was no increase of the incomes with the milk production after bovine subclinical mastitis treatment by *S.aureus* in the lactation.

Keywords: subclinical mastitis, *Staphylococcus aureus*, expenses, milk, treatment

1 INTRODUÇÃO

A mastite é considerada a principal doença que acomete os rebanhos leiteiros por causar a diminuição da produção láctea e mudanças nas características do leite oriundo dos animais doentes. O produto chega aos laticínios com qualidade inferior e diminui o rendimento de subprodutos como o queijo, por exemplo.

A forma subclínica da enfermidade pode acarretar alterações no teor de gordura, extrato seco total, extrato seco desengordurado, conteúdo de caseína e em outras características físicas e químicas do leite, além de aumentar o número de células somáticas, um dos principais parâmetros utilizados para o pagamento diferenciado do produto ao ser fixado um limite máximo de contagem pelos laticínios.

A mastite pode alterar as características microbiológicas do leite pela presença de microrganismos que podem constituir-se em risco para a população. Algumas estirpes de *Staphylococcus aureus*, por exemplo, podem produzir toxinas termoestáveis desencadeadoras de intoxicação alimentar, sendo esta bactéria relevante nos casos de mastite bovina em todo o mundo.

A higiene durante a ordenha é fundamental para o controle da mastite subclínica por microrganismos como o *Staphylococcus aureus*. Às vezes, porém, a prevalência da doença é muito alta e buscam-se outras medidas para controlá-la. Uma delas pode ser a utilização de antimicrobianos para o tratamento dos casos subclínicos durante a lactação, ainda mais quando o leite da propriedade é recusado pelo laticínio. Dessa maneira, o estudo do tratamento da mastite subclínica bovina durante a lactação e a verificação da relação custo/benefício desta medida, poderá auxiliar os produtores na escolha de métodos de controle para a enfermidade.

2 OBJETIVOS

- Verificar a influência do tratamento da mastite subclínica bovina causada por *Staphylococcus aureus*, bem como da ausência do tratamento, sobre a produção láctea e as características físico-químicas e celulares do leite secretado em duas fases do período de lactação.
- Avaliar a eficiência do tratamento da mastite subclínica e a evolução dos casos não tratados em ambas as fases de lactação.
- Avaliar a relação custo/benefício do tratamento da mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* efetuado durante a lactação.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A mastite é a inflamação da glândula mamária e pode ser classificada em clínica e subclínica. A mastite subclínica apresenta prevalência muito maior que a forma clínica e caracteriza-se por alterações na composição do leite, tais como aumento no número de células somáticas e dos teores de cloro e sódio, além da diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura (FONSECA & SANTOS, 2000).

O método mais utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica é o “California Mastitis Test” (CMT), que estima o número de células somáticas do leite. Uma das grandes vantagens deste teste é a de poder ser empregado no próprio rebanho, no momento em que os animais são ordenhados. É um método de fácil aplicação e praticidade, além de permitir informações sobre o estado de sanidade da glândula mamária dos animais lactantes (FAGLIARI *et al.*, 1990).

A interpretação do CMT baseia-se na observação visual da mistura do leite com o reagente. A reação se processa entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite, formando um gel cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é dado como negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo (BRITO *et al.*, 1997).

A mastite aumenta a condutividade elétrica do leite por mudar a sua composição iônica, devido a alteração da permeabilidade vascular da glândula mamária. O potássio declina devido ao extravasamento para o espaço perivascular pelas lesões das células alveolares e o cálcio também diminui, uma vez que se encontra predominantemente ligado à caseína, que tem sua síntese diminuída na glândula mamária com mastite. Atualmente, tem-se utilizado sensores portáteis para detecção da condutividade elétrica do leite, além daqueles acoplados em alguns modelos de ordenhadeiras mecânicas (COSTA *et al.*, 1998).

O leite é um ótimo meio para desenvolvimento de microrganismos e, entre os agentes etiológicos causadores de mastite, destacam-se os de origem contagiosa e os ambientais. Segundo Mendonça *et al.* (1999), apesar da grande variedade de agentes infecciosos isolados a partir da glândula mamária, existem alguns que são predominantes, como é o caso dos estafilococos e estreptococos.

Achados de Filippesen *et al.* (1999) mostraram que de 1.319 quartos mamários de vacas em lactação examinadas em visitas realizadas a 20 propriedades leiteiras da região norte do Paraná, foram isolados microrganismos em 660 amostras, dentre os quais 57% eram bactérias pertencentes ao gênero *Staphylococcus*.

Os estafilococos são classificados em coagulase-positivos e coagulase-negativos pela sua capacidade ou não, respectivamente, de coagular o plasma de coelho. Os estafilococos coagulase-negativos têm importância cada vez mais destacada na etiologia da mastite, causando elevadas contagens celulares e diminuição na produção de leite, como verificado por Timms e Shultz (1987) e Mendonça *et al.* (1999).

As espécies estafilocócicas atualmente reconhecidas por coagular o plasma de coelho e de maior importância na mastite bovina, parecem ser o *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* e algumas cepas de *Staphylococcus hyicus* (NADER FILHO *et al.*, 1985; TIMMS & SHULTZ, 1987; MENDONÇA *et al.*, 1999).

O *Staphylococcus aureus* é considerado o mais importante agente etiológico de mastite em diferentes países. Esta bactéria induz resposta inflamatória e, conseqüentemente, grandes perdas na produção de leite, sendo considerados os quartos mamários infectados como os principais reservatórios da infecção (ENEVOLDSEN *et al.*, 1995).

Após a multiplicação do *S. aureus* no interior da glândula mamária, pode ocorrer a formação de vacúolos que envolvem o microrganismo e impedem o acesso e a ação de antibióticos. Segundo Waittiaux (2001), os microabscessos formados poderão romper-se posteriormente, liberando o microrganismo no interior da glândula mamária e caracterizando as infecções de longa duração, com tendência a se tornarem crônicas e com baixas taxas de cura que são próprias do agente.

Com relação às características físico-químicas do leite, a Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002) considera leite bovino normal o produto que apresenta valores de acidez em gramas de ácido láctico por 100 mL entre 0,14 e 0,18; teor mínimo de gordura de 3,0%; extrato seco desengordurado mínimo de 8,4%; densidade relativa a 15° C entre 1,028 e 1,034 g/mL e índice crioscópico máximo de -0,512° C (-0,530° H). Por ser

a mastite um quadro inflamatório, várias alterações hemodinâmicas ocorrerão e poderão proporcionar uma série de mudanças em tais parâmetros, além de mudanças nas características celulares do leite.

As alterações mais pronunciadas nas características físico-químicas do leite ocorrem no pH e na condutividade elétrica. Enquanto o pH torna-se alcalino pelo aumento da permeabilidade capilar com a passagem de constituintes do sangue para o leite, a condutividade apresenta-se aumentada no leite de animais com mastite em função da elevação na concentração de íons Na^+ e Cl^- . Em menor escala, a crioscopia e a densidade podem sofrer impacto pela pequena diminuição dos sólidos totais. O ponto de congelamento do leite mastítico tende a se aproximar do ponto de congelamento da água e a densidade apresenta uma sutil diminuição do seu valor (FONSECA & SANTOS, 2000).

Fonseca e Santos (2000) relatam que, entre os componentes do leite, as proteínas são as que apresentam a maior variação. Apesar da porcentagem de proteína total do leite praticamente não variar, pode haver decréscimo significativo na porcentagem de caseína total e aumento das proteínas do soro, incluindo grande elevação nas imunoglobulinas. O teor de lactose diminui no leite de vacas com mastite e ocorre um mecanismo de compensação para restabelecer o equilíbrio osmótico do leite em relação ao sangue, pelo aumento da passagem de íons sódio e cloro, aumentando, dessa maneira, o teor de cloretos.

No que diz respeito ao teor de gordura, este sofre um pequeno decréscimo em animais com mastite. Em particular, ocorre aumento na concentração de ácidos graxos livres e diminuição de fosfolipídios.

Algumas comparações dos componentes do leite produzido por vacas com mastite subclínica e vacas sadias estão presentes na Tabela 1.

Tabela 1 - Comparações dos componentes do leite produzido por vacas com mastite subclínica e por vacas sadias.

Componente	Leite normal %	Leite de vacas com mastite subclínica %
Gordura	3,5	3,2
Lactose	4,9	4,4
Proteína total	3,61	3,56
Caseína total	2,8	2,3
Proteínas do soro	0,8	1,3
Albumina sérica	0,02	0,07
Lactoferrina	0,02	0,1
Imunoglobulinas	0,1	0,6
Sódio	0,057	0,105
Cloreto	0,091	0,147
Potássio	0,173	0,157
Cálcio	0,12	0,04

Fonte: NATIONAL MASTITIS COUNCIL (1996).

Durante a infecção e inflamação são expressas moléculas de adesão e os polimorfonucleares margeiam ou aderem ao endotélio dos capilares sangüíneos, passando entre as células destes. Mensageiros químicos ou agentes quimioatraentes liberados de leucócitos presentes no leite ou de tecidos danificados atraem grande número de polimorfonucleares para o leite, resultando num aumento do número de células somáticas (HARMON, 1994).

Kehrli e Shuster (1994) definem células somáticas como sendo o conjunto de células epiteliais e polimorfonucleares presentes no leite. Quando a glândula mamária não se encontra infectada, as células epiteliais são maioria, enquanto 90% a 95% do total de células presentes pode ser representado pelos neutrófilos quando ela se tornar infectada.

A determinação do número de células somáticas no leite é um método convencional e amplamente utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica, sendo de

valiosa utilidade para ajudar os produtores de leite na avaliação da presença da doença em seus rebanhos (HEESCHEN & REICHMUTH, 1995).

Vários países impõem limites ao conteúdo de células somáticas no leite. A União Européia estabelece o limite máximo de 400.000 células/mL de leite, enquanto o número de células somáticas limite é de 500.000/mL de leite no Canadá e 750.000/mL de leite nos Estados Unidos (SMITH, 1996). Para Bramley *et al.* (1996), entretanto, níveis acima de 200.000/mL para o leite de conjunto são sugestivos de infecção subclínica nos animais.

Para os produtores de leite, a diminuição da produção láctea pela mastite é representada essencialmente pela forma clínica da enfermidade, talvez pela observação dos sinais de inflamação da glândula mamária e, conseqüentemente, maior atenção dada a estes animais. Contudo, a mastite subclínica representa 82% das perdas financeiras 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 (Du Preez & Giesecke, 1994, citados por COSTA, 1998).

A redução quantitativa provocada pela mastite subclínica dependerá da conjugação de fatores ligados ao agente etiológico, assim como da resposta imune do animal, da evolução e duração da infecção e da propagação da mastite no rebanho (LANGENEGGER *et al.*, 1981; ZECCONI, 1996).

Jones *et al.* (1984) estudaram a relação entre o número de células somáticas e a produção de leite durante a primeira e as demais lactações e verificaram que à medida que o número de células somáticas aumentava, menor era a produção de leite, tanto diariamente como no período de 305 dias.

Segundo Zafalon *et al.* (1999b), a queda da quantidade do leite secretado por quartos mamários afetados pela mastite subclínica, conjuntamente com a redução da qualidade do produto, verificada, por exemplo, pelo aumento do número de células somáticas, faz com que seja necessário adotar medidas para contornar estes problemas e uma delas pode ser o tratamento da mastite com antimicrobianos.

O uso de antimicrobianos continua tendo um importante papel no controle da mastite apesar de vários métodos de terapias não convencionais serem estudados,

como a infusão intramamária de *Lactobacillus*, hormônios granulopoiéticos que estimulam a produção de neutrófilos e estimulantes imunes não específicos (GREENE *et al.*, 1991; TYLER *et al.*, 1992).

Em relação à mastite bovina subclínica, Domingues (1993) demonstrou que o diagnóstico precoce e o tratamento adequado desta forma da enfermidade restabeleceram a produção de leite do quarto mamário em uma mesma lactação, chegando-se a obter o aumento significativo de produção láctea dos quartos mamários tratados.

Allore *et al.* (1998) mostraram que a terapia durante a lactação em conjunto com estratégias preventivas e a terapia da vaca seca, diminuíram o número de células do leite de conjunto, o número de meses em que esta contagem foi superior a 500.000 células/mL de leite num período de dois anos e os descartes devido à mastite.

Omoro *et al.* (1999), ao estudarem três diferentes estratégias de controle para a mastite, sendo elas a higiene adequada do úbere, o tratamento de casos subclínicos e a combinação das duas, verificaram que as duas primeiras estratégias isoladamente não tiveram qualquer efeito sobre a mastite e a produção de leite. Quando combinaram estratégias, algum impacto foi verificado sobre a diminuição da prevalência de microrganismos contagiosos. Não houve reflexos positivos sobre produção de leite, diminuição do número de células somáticas ou redução da incidência de mastite clínica.

Para Buragohain e Dutta (1994) houve aumento da produção de leite em vacas tratadas contra mastite subclínica. Este aumento de produção foi mais notável em animais que se encontravam em lactações iniciais e considerou-se que os danos causados aos tecidos do úbere dos animais foram menores no momento em que as vacas se encontravam em tais lactações.

Ao fazer uso da terapia com antibiótico contra a mastite por *S. aureus*, Diniz *et al.* (1998) citam que, dentre vários fatores que podem interferir na taxa de cura bacteriológica do microrganismo, o estágio da ocorrência da infecção é um deles, juntamente com a presença de bactérias em abscessos ou mesmo a incapacidade das células fagocíticas em destruir os microrganismos.

Segundo Mallard *et al.* (1998), os mecanismos de defesa do animal têm baixa capacidade de resposta a infecções no período que vai de três semanas antes do parto até três semanas pós-parto. O tratamento da mastite no terço inicial da lactação, dessa maneira, pode ter uma menor probabilidade de sucesso. Sol *et al.* (1997) concluíram que quartos mamários de animais nos terços inicial e médio de lactação possuíam menores chances de serem curados após tratamento da mastite subclínica durante a lactação.

Allore e Erb (1998) testaram estratégias de controle da mastite em estudo com simulação de rebanhos e as receitas foram baseadas nas mudanças ocorridas nos valores médios de produção de leite, gordura, proteína e número de vacas que foram descartadas. Tais autores citaram que a terapia durante a lactação, quando utilizada com outros componentes de controle, está sempre entre as estratégias com a menor média anual de número de casos clínicos.

A produção láctea e o preço do leite têm mínimo impacto sobre o lucro líquido de um programa de controle de mastite por *Staphylococcus aureus* para Zepeda *et al.* (1998), sendo os benefícios de um programa mais dependentes da prevalência do microrganismo, do prêmio pela contagem de células somáticas e do custo do tratamento, nas hipóteses de estudo consideradas por estes autores.

Ahl *et al.* (1989) citaram custos num esquema de controle da mastite que normalmente não são incluídos na maioria dos estudos realizados que incluem a mudança dos insufladores das teteiras, quando usada a ordenha mecânica, checagem e reparo dos motores e reguladores de vácuo da máquina de ordenha e o ensino e monitoramento das técnicas de ordenha.

Um tema debatido no Brasil é o pagamento diferenciado do leite baseado em critérios de qualidade da matéria-prima fornecida aos laticínios. Para Fonseca (2001a) trata-se de uma evolução do sistema de comercialização do leite e de um aprimoramento das relações entre indústria e produtores, além de premiar com uma bonificação extra aqueles produtores que dedicaram esforço, empenho e recursos financeiros para produzir uma matéria-prima de qualidade superior. Dentre os critérios passíveis de serem utilizados para efeito de pagamento diferenciado do leite são

destacados a composição do produto, a sua qualidade higiênica, a sazonalidade/volume de produção e os parâmetros físico-químicos.

Algumas condições básicas para viabilizar a implantação e o sucesso de um programa de pagamento diferenciado por qualidade do leite, segundo Fonseca (2001b), seriam:

- a) Definição de parâmetros que efetivamente gerem benefícios para a indústria;
- b) Elaboração de um programa simples e de fácil compreensão por parte do produtor;
- c) Viabilizar um apoio técnico para esclarecer os produtores sobre o que são e como atingir os parâmetros definidos no programa;
- d) Não mudar as regras do programa com muita frequência;
- e) Não adotar parâmetros indicadores da mesma problemática de qualidade (acidez + redutase);
- f) Não adotar limites excessivamente severos para tais parâmetros;
- g) Dispor de uma estrutura de análise laboratorial confiável e técnicos competentes;
- h) Estabelecer um sistema eficiente e confiável para coleta, transporte e identificação das amostras;
- i) Definir valores de bonificação que sejam minimamente atraentes para os produtores;
- j) Comunicar sistematicamente e de forma clara aos produtores os resultados obtidos nas análises, as médias obtidas pelo conjunto dos fornecedores da indústria, bem como os progressos feitos com a adoção do programa.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Características da propriedade rural e da população bovina

Foram estudadas 40 vacas lactantes em uma propriedade rural produtora de leite tipo C situada no município de Colina, estado de São Paulo, cuja produção de leite era de, aproximadamente, 400 litros diários. Na referida propriedade a ordenha era realizada mecanicamente, uma vez ao dia, sendo utilizado o sistema de “balde ao pé”. A população bovina era constituída por animais da raça Holandesa 7/8, variedade preto e branca, cuja 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. Além disso, os animais recebiam suplementação mineral “à vontade” (fórmula comercial).

4.2 Seleção dos animais e número de quartos mamários estudados

Durante o período que abrangeu de maio de 2000 até maio de 2002, todas as vacas lactantes aparentemente sadias foram submetidas às provas do “California Mastitis Test” (CMT) e da condutividade elétrica. Para as análises das características físico-químicas, celulares e da produção láctea foram selecionadas as fêmeas que apresentavam pares de quartos mamários cujo leite mostrava-se reagente ao CMT e/ou positivo para a prova da condutividade em um de seus quartos e não reagente ou negativo no quarto oposto correspondente. Assim, entre os 75 pares de quartos selecionados, 38 foram tratados e 37 não tratados. Por outro lado, na avaliação da eficiência do tratamento e no estudo da evolução dos casos de mastite subclínica não tratados foram selecionados 67 e 68 quartos mamários, respectivamente.

4.2.1 Realização da prova do “California Mastitis Test”

Após a lavagem dos tetos com água corrente e secagem com papel toalha foram desprezados os três primeiros jatos de leite e, em seguida, colhidos cerca de dois mililitros em uma bandeja plástica apropriada contendo quatro compartimentos

circulares distintos. Depois do escoamento do excesso de leite efetuado por inclinação da bandeja, adicionava-se igual quantidade do reagente, tendo-se o cuidado de evitar a formação de espuma. A homogeneização foi efetuada com movimentos circulares e uniformes, durante 10 a 15 segundos, quando realizavam-se as leituras e a interpretação da prova (SCHALM & NOORLANDER, 1957).

Assim, foram consideradas positivas as misturas (leite + reagente) que apresentavam evidente formação de gel viscoso, acompanhadas ou não pela coloração violeta, e negativas as misturas que permaneceram inalteradas, ou seja, sem a clara evidência de viscosidade (HIPÓLITO *et al.*, 1965).

4.2.2 Determinação da condutividade elétrica do leite

A determinação da condutividade elétrica do leite foi efetuada com o medidor portátil MAS-D-TEC[®], produzido pela Wescor (Utah, Estados Unidos). Para tanto, os quartos mamários foram ordenhados orientando-se os jatos de leite diretamente para a abertura superior do aparelho. Logo em seguida, pressionou-se um botão localizado na frente do mesmo e instantaneamente a leitura foi realizada por meio de uma escala no visor do aparelho. A escala compreendia valores entre zero e nove, sendo que o intervalo de zero a quatro expressava baixo conteúdo de eletrólitos do leite, sugestivo de um quarto mamário sadio, enquanto valores iguais ou superiores a 5 eram interpretados como uma indicação de mastite subclínica no quarto mamário testado.

4.3 Fases de lactação

Os animais selecionados foram distribuídos em três grupos de acordo com as fases de lactação, quais sejam Fase 1 (Estágio inicial, de dez dias até dois meses após o parto), Fase 2 (Estágio médio que correspondeu aos meses intermediários) e Fase 3 (Estágio final representado pelos dois meses antes da secagem), de acordo com as recomendações de Cullen (1968) e Van Horn e Wilcox (1992). A terceira fase de lactação que compreendia o período correspondente aos dois meses antes da secagem, entretanto, não foi considerada, devido o pequeno número de animais

selecionados. Dessa maneira, a Fase 2 correspondeu ao período representado pelo início do terceiro mês após o parto até o nono mês de lactação.

4.4 Colheita de amostras de leite para a realização do isolamento e identificação de cepas de *Staphylococcus aureus*

As colheitas foram realizadas de acordo com as normas de assepsia propostas por Veisseyre (1972), de modo a totalizar 676 amostras de leite oriundas de 338 quartos mamários, sendo utilizados tubos de ensaio esterilizados com cerca de cinco mL de leite dos quartos reagentes e negativos ao CMT e/ou positivos e negativos à prova de condutividade elétrica.

As amostras foram transportadas para o Laboratório de Análise de Produtos de Origem Animal e Água do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal / UNESP, após o acondicionamento em caixas de material isotérmico (isopor), contendo cubos de gelo. Nos referidos laboratórios, foram semeadas sobre a superfície de ágar sangue (Ágar base - Oxoid[®], Hampshire, Inglaterra) em placas de Petri, em duplicatas, 10 microlitros das amostras de leite de cada quarto mamário estudado. Após a incubação a 37°C durante 24 a 48 horas, as bactérias posteriormente identificadas como *S. aureus* produziram colônias brancas-acinzentadas e ocasionalmente amarelo-ouro, com hemólise de três a cinco milímetros de diâmetro, sendo, então, submetidas aos esfregaços corados pelo método de Gram.

As colônias classificadas como cocos Gram-positivos, dispostos ou não sob a forma de cachos de uva, 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 (Caldo MRVP - Oxoid[®], Hampshire, Inglaterra), para diferenciação entre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus delphini* e *Staphylococcus intermedius*. As amostras que produziram acetoina foram testadas quanto à utilização ou não da maltose e trealose (Vetec[®], Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil), para a diferenciação entre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus schleiferi* subespécie *coagulans*. As

amostras que mostraram-se positivas a estas provas foram classificadas como *Staphylococcus aureus* (HOLT *et al.*, 1994).

4.5 Colheita de amostras de leite para a realização das análises físico-químicas e celulares

As colheitas de 278 amostras de leite dos quartos sadios e dos quartos homólogos infectados foram realizadas após a ordenha completa dos animais selecionados, sendo o leite oriundo de cada quarto mamário, contido em latões, homogeneizado e transvasado para frascos limpos e secos com capacidade de 250 mL.

4.6 Análises físico- químicas do leite

4.6.1 Determinação da acidez titulável

Foram colocados 10 mL de leite e três a cinco gotas de uma solução alcoólica de fenolftaleína a 2% em um béquer com capacidade para 25 mL. Paralelamente, em uma bureta graduada, foram colocados cerca de 25 mL de solução de hidróxido de sódio (N/9). A titulação foi efetuada pelo gotejamento da solução de hidróxido de sódio 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).

4.6.2 Determinação da densidade

Providenciou-se a colocação de 250 mL de leite em uma proveta, tendo-se o cuidado de evitar a formação de espuma, de acordo com a técnica recomendada pelo Ministério da Agricultura (BRASIL, 1981). Em seguida, mergulhou-se o termolactodensímetro, sendo a leitura do valor da densidade efetuada ao nível do leite. Simultaneamente, foi anotada a temperatura observada na escala superior do aparelho. Quando esta temperatura foi diferente de 15°C, efetuou-se a correção do valor da densidade pelo uso de tabela apropriada.

4.6.3 Determinação do teor de gordura

Realizou-se a determinação eletrônica do teor de gordura pelo Milko-Tester[®], modelo mk 3.2 (Itr, Esteio, Rio Grande do Sul, Brasil), calibrado pelo método convencional de Gerber. Para a execução da prova era feita a homogeneização do leite e acoplava-se o frasco da amostra a ser analisada junto ao coletor localizado na lateral externa do aparelho. Em seguida, ao entrarem em contato uma vareta de nível e o leite, era acionado o mecanismo iniciador do processo de análise. A leitura final era efetuada em um visor digital localizado na parte superior do aparelho.

4.6.4 Determinação do extrato seco total

Efetuuou-se a determinação do extrato seco total (EST) com o calculador de Ackermann (Gerber Instruments – K. Schneider & Co. Ag.). O referido calculador constituía-se de dois discos superpostos, sendo um móvel, com graduações correspondentes à densidade e o outro fixo, com graduações correspondentes ao teor de gordura (mais interna) e ao EST (mais externa). Para a determinação do EST, fazia-se coincidir o valor da densidade com o valor do teor de gordura obtido. Assim, o ponteiro indicador existente no primeiro disco apontava o valor do EST (BRASIL, 1981).

4.6.5. Determinação do extrato seco desengordurado

A determinação do extrato seco desengordurado (ESD) foi calculada pela subtração do resultado do teor de gordura, do resultado do extrato seco total, obtido pela metodologia descrita anteriormente (BRASIL, 1981).

4.6.6 Determinação do ponto crioscópico

A determinação do ponto crioscópico do leite foi realizada utilizando-se lactocrioscópio eletrônico modelo 312.L (Laktron, Londrina, Paraná, Brasil). Após a calibração do aparelho com soluções padrões de sacarose a 7% e 10%, foram colocados em tubos de ensaio cerca de dois mililitros de leite, sendo estes levados ao aparelho para a determinação do ponto de congelamento do leite (BRASIL, 1981).

4.6.7 Pesquisa do teor de cloretos

Foram colocados 10 mL de leite em um béquer e, em seguida, cinco gotas de solução de cromato de potássio a 5%. Após a homogeneização dessa mistura que apresentava uma coloração amarelo-clara, efetuou-se a titulação com solução de nitrato de prata a 0,1N até o ponto de viragem, detectado pelo aparecimento de coloração alaranjado-escuro (AMARAL *et al.*, 1988). O volume gasto de nitrato de prata na titulação era multiplicado pelo fator 0,0355, calculando-se a concentração do teor de cloretos existente nas amostras analisadas (MORITA & ASSUMPÇÃO, 1972).

Cálculos:

$$\% \text{ de cloretos} = \text{mL AgNO}_3 \times \text{N AgNO}_3 (0,1 \text{ N}) \times 3,55 / 10 \text{ g}$$

Onde: mL AgNO₃ ----- volume gasto na titulação
 3,55 ----- fator de correção (35,46 x 100/1000 sendo
 35,46 o peso molecular do cloreto do NaCl)
 10 g = peso da amostra

4.6.8 Determinação da proteína total, proteína verdadeira, caseína e soroproteínas

A determinação das frações protéicas do leite foi realizada de acordo com o método de Kjeldhal (micro), preconizado por metodologia padronizada pela International Dairy Federation (1962).

A determinação do nitrogênio total foi efetuada pesando-se 1,5g de mistura catalítica em tubo de digestão, adicionando-se 0,2g da amostra e realizando-se nova pesagem, com posterior adição de 5 mililitros de H₂SO₄ concentrado e fechamento com plástico para a digestão.

Foram obtidos 5 mL de leite e diluídos com 35 mL de água destilada a 40°C, com posterior adição de 1 mL de solução de ácido acético a 10%. A mistura permaneceu em repouso por 10 minutos, após os quais adicionou-se 1 mL de acetato de sódio 1N,

fazendo-se nova mistura e novo repouso por 10 minutos. Providenciou-se a filtração e pesagem de 5 mL do filtrado para a determinação do nitrogênio não caséico. Para a determinação do nitrogênio não protéico, a 5 mL de leite foram adicionados 5 mL de H₂O destilada, com posterior adição de 10 mL de ácido tricloroacético a 24%, deixando-se em repouso durante 30 minutos, após os quais foi realizada uma filtração e pipetagem de 5 mL do filtrado e, finalmente, a pesagem.

Após a digestão, destilação e titulação das amostras, realizou-se os cálculos necessários para as determinações dos teores de nitrogênio total (NT), nitrogênio não protéico (NNP) e nitrogênio não caséico (NNC). Os cálculos foram efetuados pelas seguintes fórmulas:

$$\text{NT (\%)} = \text{volume gasto de H}_2\text{SO}_4 \times \text{fator de diluição do ácido clorídrico} \times 100 / \text{peso da amostra (g)} \times 6,38$$
$$\text{NNP (\%)} = \text{volume gasto de H}_2\text{SO}_4 \times \text{fator de diluição do ácido clorídrico} \times 100 / \text{peso da amostra (g)} \times 6,38 \times 4 \text{ (fator de diluição da amostra).}$$
$$\text{NNC (\%)} = \text{volume gasto de H}_2\text{SO}_4 \times \text{fator de diluição do ácido clorídrico} \times 100 / \text{peso da amostra (g)} \times 6,38 \times 8 \text{ (fator de diluição da amostra).}$$

Para calcular os percentuais de proteína verdadeira (PV), caseína e soroproteínas, foram utilizadas as seguintes fórmulas:

$$\text{PV (\%)} = \text{Proteína total} - \text{nitrogênio não protéico.}$$
$$\text{Caseína (\%)} = \text{Proteína total} - \text{nitrogênio não caséico.}$$
$$\text{Soroproteínas (\%)} = \text{nitrogênio não caséico} - \text{nitrogênio não protéico.}$$

4.7 Pesagem do leite

Após o diagnóstico da mastite subclínica e colheita das amostras para posterior encaminhamento ao laboratório para confirmação da doença, os quartos mamários foram ordenhados separadamente. Para tanto, utilizou-se um dispositivo que, ao ser acoplado aos copos da ordenhadeira mecânica, permitia a obtenção individualizada do leite oriundo de cada quarto mamário.

O referido dispositivo foi instalado junto aos copos da ordenhadeira mecânica em substituição ao copo coletor (Figura 1 – Apêndice) e era formado por quatro tubos maiores de calibres iguais aos das mangueiras destinadas ao leite (mangueiras longas), fazendo com que o leite de cada quarto da glândula mamária seguisse individualizado até os latões e por dois outros tubos menores, os quais eram responsáveis pelo sistema de pulsação nas teteiras.

Para a formação de vácuo nas teteiras houve a necessidade de formação de vácuo nos latões, objetivando a ida do leite até eles. Para tanto, utilizou-se um distribuidor de ar com quatro saídas em uma das extremidades (Figura 2 – Apêndice), às quais foram acopladas quatro mangueiras ligando-o aos latões, e uma saída na outra extremidade, na qual foi acoplada uma outra mangueira ligando-o à saída de vácuo. Para a formação de pulsação nas teteiras, houve a necessidade de uma mangueira dupla que ligasse os tubos menores do dispositivo a um pulsador acoplado na tampa de outro latão (Figura 3 – Apêndice).

Foram utilizados neste processo latões com capacidade para três litros de leite, com o conteúdo sendo 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, assim como nos tetos dos quartos tratados, sendo as pesagens efetuadas durante dois dias consecutivos. Após a obtenção da produção de leite oriunda dos quartos mamários estudados, calculava-se a produção média nestes dois dias de pesagens.

4.8 Contagem de células somáticas

Para a realização das contagens, foi utilizado o método de Prescott & Breed, modificado pelo “Subcommittee on Screening Tests, National Mastitis Council” (1968), sendo a determinação feita por contagem direta em microscópio óptico em objetiva de imersão. Para tanto, fizeram-se esfregaços em que 0,01 mL de leite foi espalhado em uma área de um centímetro quadrado sobre lâminas de vidro previamente limpas e desengorduradas que foram colocadas em recipiente protegido durante 24 horas para secagem.

Após este procedimento, mergulhou-se as lâminas em xilol por dois a cinco minutos, sendo posteriormente retiradas e secas e, em seguida, colocadas em outro recipiente contendo álcool etílico 95% pelo período mínimo de dois a cinco minutos. Após a secagem, corou-se os esfregaços utilizando-se o método de Broadhurst & Paley, indicado por Santos e Vilela (1983), no qual as lâminas foram mergulhadas no corante por um período mínimo de cinco a oito segundos. Nesse método observava-se o fundo corado em róseo intenso e bactérias, células polimorfonucleares e morfonucleares coradas em azul. Todas as células com núcleo como também aquelas com mais da metade do corpo celular dentro do campo microscópico foram contadas em 100 campos microscópicos distintos, com os resultados obtidos multiplicados pelo fator de trabalho do microscópio que foi utilizado na investigação (Fator de Trabalho igual a 3.929,8).

4.9 Antibiogramas

As cepas isoladas foram submetidas aos testes de sensibilidade "in vitro" frente a 12 antimicrobianos representados pela gentamicina (30 µg), cloranfenicol (30 µg), amicacina (30 µg), penicilina (10 UI), oxacilina (1 µg), tetraciclina (30 µg), cefalotina (30 µg), ampicilina (10 µg), eritromicina (15 µg), sulfazotrim (25 µg) e vancomicina (30 µg) (Multidisco – Laborclin, Pinhais, Paraná, Brasil).

Para a realização desta prova, as cepas de *S. aureus* foram inoculadas em caldo soja triptona e incubadas a 35°C por 2 a 5 horas, até a obtenção de turvação idêntica à solução padrão de cloreto de bário preconizada por Bauer *et al.* (1966).

Após a incubação, as culturas padronizadas foram semeadas em placas de Petri contendo Ágar Muller-Hinton (Oxoid®, Hampshire, Inglaterra), em cuja superfície foram colocados discos impregnados com os princípios ativos que foram testados. Decorridas 24 horas de incubação a 35°C, procedeu-se a medição dos halos de inibição formados em torno dos respectivos princípios ativos, cujos resultados foram comparados com os da tabela fornecida pelo laboratório fabricante dos referidos discos.

4.10 Tratamentos dos quartos mamários e acompanhamento dos quartos não tratados

Os tratamentos foram realizados após o término de cada ordenha, durante três dias consecutivos, sendo utilizada a dose de 150 mg de gentamicina (Gentocin[®] – Schering-Plough), por infusão intramamária, uma vez ao dia. Todas as cepas de *S. aureus* isoladas dos quartos mamários posteriormente tratados apresentaram sensibilidade ao princípio ativo utilizado nos testes “in vitro”. Para o tratamento, os quartos mamários eram completamente esgotados e previamente higienizados com algodão embebido em álcool 70%. Realizou-se a inserção parcial da cânula da bisnaga contendo o medicamento para diminuir o risco de contaminação e afetar o menos possível a camada de queratina dos tetos tratados. Após a infusão do medicamento, efetuou-se a massagem dos úberes para melhor distribuição do produto. O acompanhamento dos casos de mastite subclínica não tratados foi realizado em 68 quartos mamários.

4.11 Avaliação da eficiência do tratamento

Foram considerados curados os quartos mamários cujas amostras de leite mostraram-se negativas ao isolamento das cepas de *S. aureus*. Adicionalmente, realizou-se o CMT, a condutividade elétrica e a contagem de células somáticas. O isolamento e identificação das cepas de *S. aureus* foram realizados de 21 a 28 dias após o término dos tratamentos, de acordo com os procedimentos descritos anteriormente.

4.12 Determinação das características físico-químicas e celulares do leite dos quartos mamários tratados e não tratados

As amostras de leite dos quartos tratados e não tratados, assim como dos homólogos correspondentes, foram submetidas às determinações da acidez titulável, densidade, teor de gordura, extrato seco total, extrato seco desengordurado, ponto crioscópico, teor de cloretos e análises das frações protéicas, bem como às contagens de células somáticas, de acordo com metodologia descrita anteriormente.

4.13 Prevalência de mastite subclínica por *Staphylococcus aureus*

Para o cálculo dos custos de tratamento da mastite subclínica durante a lactação foi adotada prevalência de 5% para a ocorrência de *S. aureus*. O referido percentual correspondeu à prevalência desta enfermidade verificada em visita realizada na propriedade antes do início da colheita das amostras.

4.14 Avaliação da relação custo/benefício dos tratamentos

Foram considerados os seguintes fatores para a avaliação dos gastos relativos ao tratamento da mastite subclínica bovina durante a lactação:

- a) Número de animais/quartos mamários que estavam em lactação na propriedade estudada (40 animais/160 quartos mamários).
- b) Prevalência de *S. aureus* (igual a 5% ou oito quartos mamários).
- c) Preço do litro de leite do tipo “C” no estado de São Paulo (R\$ 0,3511) (MILKPOINT, 2002).
- d) Preço unitário do antimicrobiano utilizado no tratamento, durante três dias consecutivos, de acordo com preço praticado por lojas de medicamentos veterinários (R\$ 2,20).
- e) Período de carência do medicamento utilizado, igual a quatro dias.
- f) Custo do antibiograma realizado antes do tratamento, de acordo com a Batávia S.A. (R\$ 12,50).
- g) Gastos com mão de obra.
- h) Produção média diária de um quarto mamário sadio e doente, antes e depois do tratamento, de acordo com as Tabelas 4 e 5.

Os cálculos dos custos com a mão de obra foram feitos utilizando como salário médio de um trabalhador rural mensalista o valor de R\$ 247,05 (INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA, 2002). Para obtenção dos valores (R\$) houve a necessidade de utilização de um coeficiente técnico de acordo com o tempo trabalhado para o tratamento dos animais e de acordo com a prevalência da doença. O referido coeficiente foi calculado supondo-se o tempo gasto (15 minutos) para esgota dos

animais, multiplicado pelo número de animais tratados, sendo o valor obtido multiplicado pelo número de dias de esgota (seis). Considerou-se, também, o tempo (um minuto) que o tratador levaria para efetuar a higiene de suas mãos e dos quartos mamários, o qual foi multiplicado pelo número de quartos mamários tratados e pelo número de dias (três) de tratamento. Além disso, levou-se em consideração o tempo (um minuto) para infusão do medicamento intramamário mais a massagem do úbere, o qual foi multiplicado pelo número de quartos mamários tratados e pelo número de dias (três) de tratamento.

Obteve-se um total de 12,8 horas de tempo gasto com o tratamento. A carga horária mensal de trabalho considerada foi de 220 horas, utilizando-se, dessa maneira, um coeficiente técnico igual a 0,0582, obtido a partir de uma regra de três simples. O salário mensal do trabalhador foi multiplicado por este coeficiente e obteve-se o valor de R\$ 14,38 que foi acrescido dos valores dos encargos sociais, equivalentes a 43% do salário total, obtendo-se o custo com mão de obra de R\$ 20,56 (Tabela 2).

Para o cálculo dos custos com leite descartado, partiu-se do princípio que cada animal doente possuía apenas um quarto mamário infectado. Assim, a produção média do quarto mamário doente foi somada à produção dos três quartos sadios, o valor obtido foi multiplicado pelo número de animais doentes (oito) e este novo valor foi multiplicado pelo número de dias de descarte (seis). Obteve-se, dessa maneira, a quantidade de litros de leite descartado, que foi multiplicada pelo preço do litro de leite C (R\$ 0,3511) pago no estado de São Paulo. Os valores estão contidos na Tabela 2.

As produções médias dos quartos mamários doentes e sadios que foram utilizadas para os cálculos do leite descartado, antes e depois do tratamento, bem como quando não realizado o tratamento, são aquelas contidas nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 2 - Valores de referência de diversos fatores para a análise dos gastos com o tratamento da mastite subclínica durante a lactação.

Fatores	Valores (R\$)
- Custos com medicamento ¹	52,80
- Custos do antibiograma ²	100,00
- Custos com mão de obra (mais encargos sociais)	20,56
- Custos com descarte do leite – Fase 1	166,00
- Custos com descarte do leite – Fase 2	157,74
- Preço do litro de leite C (São Paulo)	0,3511

¹Valor unitário do medicamento (R\$2,20) x n^o quartos mamários doentes x 3 dias; ²Valor do antibiograma (R\$12,50) x n^o quartos mamários doentes.

Para a execução dos cálculos relativos à premiação ou desconto sobre o preço do litro de leite produzido, levou-se em consideração os dados fornecidos pela Batávia S.A. (Carambeí, Paraná, Brasil) (Tabela 3).

Tabela 3 - Contagens de células somáticas (CCS) e respectivas percentagens de premiação e desconto sobre o preço do leite produzido.

CCS/mL	Prêmio/desconto (%)
< 200.000	+4,0
200.001 – 300.000	+3,0
300.001 – 400.000	+2,5
400.001 – 500.000	+2,0
500.001 – 600.000	Zero
600.001 – 700.000	-2,0
700.001 – 800.000	-3,0
800.001 – 900.000	-4,0
900.001 – 1.000.000	-5,0
>1.000.001	-6,0

A receita obtida com o leite produzido foi calculada pela multiplicação do número de quartos mamários sadios e doentes com as suas produções médias (em litros de leite), antes e depois do tratamento. Proporcionou-se, desta maneira, a produção média diária destes quartos mamários que foi multiplicada por 30 para resultar na produção média mensal. Após este procedimento, a produção mensal de leite dos quartos

mamários era multiplicada pelo preço do litro de leite (R\$ 0,3511). Ao valor encontrado foi acrescido ou descontado o prêmio ou a penalidade, de acordo com as contagens médias de células somáticas contidas nas Tabelas 4 e 5.

Antes e após o tratamento, os valores que correspondiam às receitas dos quartos mamários sadios eram somados com os valores relacionados à receita dos quartos com mastite subclínica, sendo os gastos descontados da receita total após o tratamento. Da receita total após o tratamento era subtraída a receita total de antes do tratamento, obtendo-se a variação percentual de receitas. O mesmo procedimento foi realizado para os quartos mamários que foram acompanhados e não tratados.

4.15 Análise estatística

Os dados obtidos com os resultados encontrados para as características físico-químicas, celulares e produção de leite foram submetidos ao teste T para amostras pareadas. Realizou-se o teste do Qui-quadrado para verificar se as taxas de cura e de recuperação espontânea foram diferentes nas fases de lactação estudadas (SAMPAIO, 1998).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostras de leite procedentes de 67 quartos mamários com mastite subclínica por *S. aureus* foram examinadas, sendo que 19 pertenciam a vacas que encontravam-se na fase 1 do período de lactação e 48 a vacas na fase 2. Os resultados das contagens de células somáticas e da produção de leite dos quartos mamários estudados em ambas as fases de lactação, antes e depois do tratamento, encontram-se inseridos na Tabela 4.

As amostras de leite obtidas dos quartos mamários com mastite subclínica de vacas que se encontravam na Fase 1 do período de lactação, apresentaram um valor médio de células somáticas igual a 702.000/mL, o qual foi 1.276,5% mais elevado que o observado nas amostras de leite dos quartos mamários sadios (51.000/mL). Após o tratamento, o valor médio das referidas contagens apresentou uma variação de 294,4% (142.000 células/mL em quartos tratados e 36.000 células/mL nos quartos que serviram de controle). A produção média dos quartos mamários doentes foi 2.150g de leite, enquanto nos quartos mamários sadios a produção média foi 2.568 g ou seja, nos quartos doentes tal produção foi 16,3% inferior à verificada nos quartos sadios, com aumento na diferença para 20,7% após o tratamento (2.186g para quartos tratados e 2.757g para quartos sadios). Tal fato é devido ao aumento da produção média dos quartos sadios após o tratamento.

As amostras obtidas de quartos mamários com mastite subclínica de vacas que se encontravam na Fase 2 do período de lactação apresentaram um valor médio de células somáticas igual a 397.000/mL, o qual foi 868,3% mais elevado que o verificado nas amostras de leite dos quartos mamários sadios (41.000/mL). Após o tratamento, o valor médio das referidas contagens evidenciou uma diferença de 61,0% (95.000 células/mL nos quartos tratados e 59.000 células/mL nos quartos sadios). Quanto à produção láctea, o valor médio dos quartos mamários doentes foi 1.948g, o qual foi 21,2% inferior ao valor dos quartos sadios (2.471g), com aumento na diferença para 22,7% após o tratamento (1.809g para os quartos doentes e 2.339g para os quartos mamários sadios).

Tabela 4 – Valores médios das contagens de células somáticas (CCS) e produção láctea com respectivas diferenças entre quartos mamários tratados com gentamicina e quartos sadios.

		CCS (x 10 ³ /mL)			Produção (g)		
		Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
FASE 1 ¹	Antes do tratamento	702	51	+1.276,5*	2.150	2.568	-16,3 ^{ns}
	Depois do tratamento	142	36	+294,4*	2.186	2.757	-20,7*
FASE 2 ²	Antes do tratamento	397	41	+868,3*	1.948	2.471	-21,2*
	Depois do tratamento	95	59	+61,0 ^{ns}	1.809	2.339	-22,7*

¹ Fase 1: 10 a 60 dias pós-parto; ² Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p>0,05); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p<0,05).

Os resultados das contagens de células somáticas e da produção de leite dos quartos mamários estudados nas Fases 1 e 2 do período de lactação, em amostras de leite de quartos mamários não tratados, encontram-se na Tabela 5. Durante a Fase 1, verificou-se que o número médio de células somáticas nos quartos mamários com mastite subclínica era de 297.000/mL, ou seja, 661,5% superior ao número de células somáticas dos quartos sadios (39.000/mL), com redução da diferença para 345,6% após reavaliação (303.000 células/mL nos quartos não tratados contra 68.000 células/mL nos quartos mamários sadios). A produção de leite dos quartos mamários com mastite subclínica durante este acompanhamento foi 17,4% inferior à produção láctea dos quartos sadios (2.354g em quartos não tratados e 2.850g em quartos sadios), com aumento para 20,2% após a reavaliação (2.296g em quartos mamários não tratados e 2.878g nos quartos sadios).

Durante a Fase 2, verificou-se que o número médio de células somáticas nos quartos mamários com mastite subclínica foi igual a 490.000/mL, ou seja, 1.156,4% superior ao número médio dos quartos sadios (39.000 células/mL), com redução da diferença para 1.014,0% após reavaliação (635.000 células/mL nos quartos doentes

contra 57.000 células/mL nos quartos sadios). A produção de leite dos quartos mamários com mastite subclínica durante tal acompanhamento foi igual a 1.575g, 25,2% inferior à produção láctea dos quartos não doentes (2.105g), com aumento na diferença para 27,7% após reavaliação (1.533g para os quartos não tratados contra 2.121g para os quartos sadios).

Tabela 5 – Valores médios das contagens de células somáticas (CCS) e produção láctea com respectivas diferenças entre quartos mamários não tratados e quartos sadios.

		CCS (x 10 ³ /mL)			Produção (g)		
		Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
FASE 1 ¹	Avaliação	297	39	+661,5*	2.354	2.850	-17,4*
	Reavaliação	303	68	+345,6 ^{ns}	2.296	2.878	-20,2*
FASE 2 ²	Avaliação	490	39	+1.156,4*	1.575	2.105	-25,2*
	Reavaliação	635	57	+1.014,0*	1.533	2.121	-27,7*

¹ Fase 1: 10 a 60 dias pós-parto; ² Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p>0,05); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p<0,05).

Os dados obtidos no presente trabalho mostram que em quartos mamários com mastite subclínica, em ambas as fases de lactação estudadas, a produção média de leite foi menor que a dos quartos mamários sadios, enquanto o número médio de células somáticas foi maior nos quartos mamários acometidos pela doença. As pesquisas que associam a diminuição da produção de leite com diferentes níveis de células somáticas ilustram claramente a correlação negativa existente entre estes fatores (ZECCONI, 1996).

Vários mecanismos são propostos para explicar como o epitélio secretório da glândula mamária é afetado na mastite bovina, levando à diminuição da produção de leite do animal. Entre eles, podem ser citados a secreção de toxinas por bactérias, a liberação de enzimas lisossomais de neutrófilos degenerados ou ativos próximos ao tecido secretor e/ou diapedese de neutrófilos que atravessam o epitélio em direção aos alvéolos (MACDONALD *et al.*, 1994).

Para Lescourret e Coulon (1994), a ocorrência da mastite é mais prejudicial no início da lactação, tanto pela maior queda da produção de leite como pelo impacto que pode causar no restante do período, devido os animais serem acometidos pela doença por um período mais longo. Além disso, a enfermidade nesta fase possui uma importância epidemiológica maior, já que também maior será o período em que os animais infectados poderão servir como fonte de infecção para outros animais do rebanho.

A secreção láctea de uma glândula mamária sadia apresenta uma contagem de células somáticas geralmente abaixo de 200.000 células/mL, mas pode ser inferior a 100.000 células/mL (HARMON, 1998). Entre os 75 quartos mamários com mastite subclínica estudados, verificou-se que as amostras de leite procedentes dos 38 tratados e dos 37 não tratados, 9 (12,0%) apresentaram número de células somáticas inferior a 200.000/mL e foram classificados como doentes. Por outro lado, entre os 75 quartos mamários controle, portanto sadios, 7 (9,3%) apresentaram número de células somáticas superior a 200.000/mL.

Os resultados contidos na Tabela 4 revelam que, quando comparados quartos doentes com quartos sadios, tanto aqueles que estavam na Fase 1 de lactação quanto os da Fase 2 tiveram diminuição da produção de leite. Após o tratamento, pequenas alterações nas variações foram observadas em ambas as fases, sendo observado semelhante comportamento entre os quartos não tratados (Tabela 5).

Apesar do tratamento da mastite subclínica na lactação não ocasionar o aumento da produção de leite dos quartos tratados, os valores médios de células somáticas diminuíram após a realização do mesmo, ficando abaixo de 150.000 células/mL de leite em ambas as fases de lactação estudadas. Se o elevado conteúdo de células somáticas condiz com uma baixa qualidade de leite, o tratamento serviu para a melhoria da qualidade do produto. Todavia, este fato não ocorreu entre os quartos não tratados, pois os valores médios representam dados de quartos mamários com cura espontânea e de quartos não curados.

A variação percentual das contagens de células somáticas entre as amostras de leite dos quartos doentes e sadios obtida no presente trabalho foi superior à encontrada

por Zafalon *et al.* (1999a), porém inferior à constatada por Nicolau *et al.* (1996), que ao estudarem a contagem de células de quartos mamários com mastite subclínica por estafilococos coagulase positivos verificaram valores da ordem de 613% e 2.247%, respectivamente.

Os resultados da acidez titulável, densidade, E.S.T., E.S.D., crioscopia, teor de cloretos e teor de gordura do leite de quartos mamários doentes e dos quartos mamários sadios, antes e depois do tratamento, de vacas que encontravam-se na Fase 1 do período de lactação, estão contidos na Tabela 6. Antes do tratamento, os quartos mamários com mastite subclínica apresentaram valores médios inferiores quando comparados com os valores médios dos quartos sadios para acidez titulável, densidade, extratos secos total e desengordurado. Já os valores médios para o teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos foram superiores nos quartos com mastite subclínica, quando estes foram comparados com os quartos sadios. Após o tratamento, houve diminuição nas variações entre os quartos mamários doentes que foram tratados e os quartos sadios para todas as características estudadas, com exceção do teor de gordura.

Tabela 6 - Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia, teor de cloretos e respectivas diferenças durante a Fase 1¹, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação.

Características	Antes do tratamento			Depois do tratamento		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Acidez titulável (°D)	14,5	17,4	-16,67*	16,1	17,6	-8,52*
Densidade (g/ml)	1,029	1,033	-0,39*	1,032	1,033	-0,10 ^{ns}
E.S.T. (%)	10,56	11,41	-7,45*	11,25	11,51	-2,26 ^{ns}
E.S.D. (%)	8,12	8,98	-9,58*	8,58	8,92	-3,81*
Teor de gordura (%)	2,44	2,43	+0,41 ^{ns}	2,67	2,59	+3,09 ^{ns}
Crioscopia (°H)	-0,553	-0,559	+1,07 ^{ns}	-0,544	-0,545	+0,18 ^{ns}
Teor de cloretos (%)	0,1818	0,1302	+39,63*	0,1393	0,1268	+9,86 ^{ns}

¹ Fase 1: 10 a 60 dias pós-parto; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p>0,05); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p<0,05).

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 com mastite subclínica 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). Os valores médios reduzidos de gordura dos quartos sadios, contidos na Tabela 6, talvez sejam pelas características individuais daqueles animais que foram selecionados para a colheita de amostras ou pelo fato que a ordenha dos animais na propriedade em questão era realizada uma vez ao dia.

A crioscopia e a densidade sofrem influência da diminuição de sólidos totais do leite de quartos com mastite. Sendo assim, o ponto de congelamento em vacas doentes tende a aproximar-se do ponto de congelamento da água (aumenta), e a densidade apresenta uma diminuição do seu valor (FONSECA & SANTOS, 2000).

Estabeleceu-se que o limite divisório entre leite com teor de cloretos anormal e dentro da normalidade seria de 0,16%, segundo Amaral *et al.* (1988). Dessa maneira, verificou-se que, após o tratamento, o teor médio de cloretos do leite dos quartos tratados reduziu-se para limites considerados normais. O valor médio de cloretos superior no leite dos quartos com mastite subclínica pode ser explicado pela alteração da concentração iônica no mesmo 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, vazam para o lúmen do alvéolo aumentando suas concentrações no leite (NIELEN *et al.*, 1992).

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%.

Nicolau (1994) observou que amostras de leite de quartos mamários sadios apresentavam valores médios mais elevados nas determinações de acidez titulável, densidade, E.S.T., E.S.D., ponto crioscópico e caseínas, quando comparados com

amostras de leite oriundas de quartos com mastite subclínica. Achados parecidos aos resultados contidos na Tabela 6 foram encontrados para acidez titulável, densidade, E.S.T. e E.S.D. por Vianni e Nader Filho (1990) e Nicolau *et al.* (1996).

Zafalon e Nader Filho (2001) encontraram que a acidez titulável e o teor de cloretos foram 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 (19,0% a 23,0% para acidez titulável e 26,7% a 46,7% para o conteúdo de cloretos).

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 & 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 & 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.

Os resultados da acidez titulável, densidade, E.S.T., E.S.D., crioscopia, teor de cloretos e teor de gordura de quartos mamários doentes e de quartos sadios, antes e depois do tratamento e na Fase 2 do período de lactação, encontram-se na Tabela 7. Os quartos com mastite subclínica apresentaram valores médios inferiores, quando comparados com os valores médios dos quartos sadios para acidez titulável, densidade, extratos secos total e desengordurado. Já os valores médios para o teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos foram superiores nos quartos com mastite subclínica, quando estes foram comparados com os quartos sadios. Após tratamento, houve diminuição nas variações entre os quartos mamários doentes que foram tratados e os quartos sadios para todas as características estudadas.

Tabela 7 - Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos, com respectivas diferenças, durante a Fase 2¹, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação.

Características	Antes do tratamento			Depois do tratamento		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Acidez titulável (°D)	15,5	18,3	-15,30*	17,4	18,0	-3,33 ^{ns}
Densidade (g/ml)	1,031	1,033	-0,19*	1,032	1,032	0,00 ^{ns}
E.S.T. (%)	11,33	11,52	-1,65 ^{ns}	11,94	12,12	-1,48 ^{ns}
E.S.D. (%)	8,62	8,96	-3,80*	8,88	8,93	-0,56 ^{ns}
Teor de gordura (%)	2,70	2,56	+5,47 ^{ns}	3,06	3,18	-3,77 ^{ns}
Crioscopia (°H)	-0,560	-0,563	+0,53 ^{ns}	-0,543	-0,544	+0,18 ^{ns}
Teor de cloretos (%)	0,1695	0,1402	+20,90*	0,1522	0,1423	+6,96*

¹ Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p > 0,05$); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p < 0,05$).

Quando as variações existentes entre quartos sadios e doentes, antes e depois do tratamento e contidas nas Tabelas 6 e 7 foram comparadas, verificou-se semelhantes reduções para as características estudadas. Uma pequena diferença observada está relacionada com a Fase 2, antes do tratamento, quando houve uma diferença menor entre quartos mamários sadios e quartos com mastite subclínica para

as características E.S.T. e E.S.D., além do teor de gordura dos quartos tratados ter ficado abaixo do verificado nos quartos sadios, o mesmo não observado para a Fase 1. Valores reduzidos na crioscopia foram encontrados antes do tratamento na Fase 2 de lactação, talvez por serem valores relacionados com quartos mamários e não com o leite de conjunto.

Os resultados das frações protéicas do leite de quartos mamários doentes e dos quartos sadios, antes e depois do tratamento, em vacas durante a Fase 1 do período de lactação, estão contidos na Tabela 8. Os quartos mamários com mastite subclínica apresentaram valores médios inferiores, quando comparados com os valores médios dos quartos sadios para proteína total, proteína verdadeira e caseína. Já o valor médio para as soroproteínas foi superior nos quartos com mastite subclínica, quando estes foram comparados com os quartos sadios. Após tratamento, houve aumento nas variações entre os quartos mamários doentes que foram tratados e os quartos-controle, com exceção para soroproteínas.

Tabela 8 - Médias das frações protéicas durante a Fase 1¹ e respectivas diferenças, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação.

Características	Antes do tratamento			Depois do tratamento		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Proteína total (%)	2,64	2,76	-4,35 ^{ns}	2,12	2,37	-10,55 ^{ns}
Proteína verdadeira (%)	2,45	2,56	-4,30 ^{ns}	1,99	2,24	-11,16 ^{ns}
Caseína (%)	2,13	2,43	-12,35*	1,42	1,66	-14,46 ^{ns}
Soroproteínas (%)	0,39	0,24	+62,50*	0,57	0,58	-1,72 ^{ns}

¹ Fase 1: 10 a 60 dias pós-parto; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p>0,05$); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p<0,05$).

Os resultados das frações protéicas do leite de quartos mamários doentes e dos quartos sadios, antes e depois do tratamento, em vacas durante a Fase 2 do período de lactação, estão contidos na Tabela 9. Os quartos mamários com mastite subclínica apresentaram valor médio inferior, quando comparado com o valor médio dos quartos sadios para o teor de caseína. Para proteína total, proteína verdadeira e soroproteínas,

os valores médios foram superiores nos quartos com mastite subclínica, quando comparados com os quartos sadios. Após o tratamento, os quartos mamários doentes tratados apresentaram valores médios inferiores para proteína total e proteína verdadeira, quando comparados com os quartos sadios, mantendo variações próximas às encontradas antes do tratamento. Apesar da variação entre os quartos estudados ter se mantido próxima à encontrada antes do tratamento para o teor de caseína, houve diminuição da mesma. Após o tratamento, não foi encontrada variação entre quartos sadios e doentes tratados para soroproteínas.

Tabela 9 - Médias das frações protéicas durante a Fase 2¹ e respectivas diferenças, nas duas visitas realizadas para avaliação do efeito do tratamento durante a lactação.

Características	Antes do tratamento			Depois do tratamento		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Proteína total (%)	3,00	2,96	+1,35 ^{ns}	2,98	3,06	-2,61 ^{ns}
Proteína verdadeira (%)	2,80	2,76	+1,45 ^{ns}	2,36	2,43	-2,88 ^{ns}
Caseína (%)	2,13	2,25	-5,33 ^{ns}	1,76	1,84	-4,35 ^{ns}
Soroproteínas (%)	0,67	0,54	+24,07*	0,59	0,59	0,00 ^{ns}

¹ Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p > 0,05$); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p < 0,05$).

O teor mais elevado de proteínas totais no leite dos quartos com mastite subclínica, quando comparados os valores médios dos quartos doentes e quartos sadios na Fase 2 (Tabela 9), é devido ao aporte de proteínas do soro sanguíneo para o leite dos quartos doentes pelo aumento da permeabilidade capilar e conseqüente passagem destas proteínas para os alvéolos. Urech *et al.* (1999) demonstraram acontecer na mastite subclínica um aumento do conteúdo de proteína total do leite pelo aumento da lactoferrina, de imunoglobulinas e da soroalbumina bovina, proteínas associadas com respostas inflamatórias da glândula mamária. Percebe-se no presente trabalho que, após o tratamento, o teor médio de proteína total dos quartos mamários tratados passou a ser inferior ao teor médio dos quartos sadios na Fase 2 de lactação, possivelmente devido à diminuição da variação para soroproteínas entre quartos sadios

e doentes após o tratamento, com ausência de variação entre os quartos mamários estudados.

O conteúdo de proteína é, normalmente, igual a 85% do conteúdo de gordura no leite, exceto em rebanhos de alta produção durante os primeiros 41 a 100 dias de lactação ou quando observa-se pobre manejo nutricional. Fatores relacionados com a dieta que diminuem o teor de gordura do leite são o alto número de carboidratos fermentáveis e a suplementação com ionóforos. Já o suplemento com alimentos gordurosos diminui o conteúdo de proteína do leite (BAILEY *et al.*, 1998). Além disso, como já observado para a gordura, os animais eram ordenhados uma vez ao dia, o que pode diminuir os valores de proteína. Quando comparadas as fases de lactação, notam-se teores de proteína superiores na Fase 2, talvez devido a influência de animais próximos ao final da lactação com uma menor produção de leite e, desta forma, maiores percentagens de proteína.

O tratamento da mastite subclínica durante a lactação não resultou em diminuição das variações para a proteína verdadeira entre quartos mamários com mastite, após o tratamento, e quartos sadios. Block (2000) cita que, devido a importância da porcentagem de proteína verdadeira do leite usado no processamento, há interesse nos Estados Unidos em analisar e pagar o produto por esta fração protéica, ao invés de remunerar por proteína total. O autor relata que tal fato é relevante, pois certas condições de alimentação, não especificadas, podem causar consideráveis variações no percentual de nitrogênio não protéico e, assim, na proteína total.

Os resultados relacionados com as taxas de cura dos 67 quartos mamários tratados durante a lactação, encontram-se na Tabela 10. Entre os quartos mamários tratados durante as Fases 1 e 2 do período de lactação, respectivamente 79,0% e 83,3% mostraram-se curados.

Tabela 10 - Taxas de cura de mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* após tratamento dos quartos mamários, de acordo com a fase de lactação.

Fases	Quartos tratados	Evolução após o tratamento			
		Quartos Curados		Quartos não curados	
		n	%	n	%
1 ¹	19	15	79,0	4	21,0
2 ¹	48	40	83,3	8	16,7
Total	67	55	82,1	12	17,9

¹ Fase 1: 10 a 60 dias pós-parto; Fase 2: do início do terceiro mês após o parto até o nono mês de lactação; Qui-quadrado = 0,18 (não significativo, $p > 0,05$).

Costa *et al.* (1997) efetuaram o tratamento de vacas com mastite subclínica com cefacetril, gentamicina e cloxacilina, sendo obtidos a cura microbiológica e/ou resultados traços ou negativos ao CMT de, respectivamente, 78,6%, 86,1% e 95,4% dos quartos tratados. Os estafilococos correspondiam a 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 hidróido de penetamato associado com a dihidroestreptomicina, sulfato de frameticina e prednisolona. O tratamento foi realizado contra *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*.

Apesar destas altas taxas de cura, Sears (2001) comenta que o tratamento da mastite por *S. aureus* durante a lactação, geralmente, não é eficaz para eliminar o microrganismo. Cita-se, entre as explicações, dificuldades para os antibióticos alcançarem o local de infecção numa concentração adequada, seja pela incapacidade em manter níveis adequados até o tempo necessário para eliminar a infecção, seja por limitações farmacocinéticas como absorção, além da disponibilização da droga, grau de ionização e microrganismos intracelulares; resistência antibiótica ou desenvolvimento de resistência; “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.

As taxas de cura encontradas de 79% e 83% podem ser consideradas altas, ainda mais quando o agente etiológico relacionado é o *S. aureus*. O correto procedimento de tratamento representado pela esgota do quarto mamário, pela higienização rigorosa do óstio do teto com álcool 70% antes da infusão do antibiótico, assim como a inserção parcial da cânula e a massagem do úbere para a distribuição do medicamento podem ter sido fundamentais para a observação de tais taxas de cura. Além disso, o tratamento foi fundamentado em resultados de antibiogramas.

Foram acompanhados 68 quartos mamários que não foram tratados com gentamicina, sendo que 14 eram de vacas que se encontravam na fase 1 do período de lactação e 54 de vacas na fase 2 de lactação.

Os resultados da acidez titulável, densidade, E.S.T., E.S.D., crioscopia, teor de cloretos e teor de gordura de quartos mamários doentes e sadios, em vacas na Fase 1 do período de lactação, durante o acompanhamento da evolução destas características sem o tratamento, encontram-se na Tabela 11. Os quartos mamários com mastite subclínica apresentaram valores médios inferiores quando comparados com os valores médios dos quartos sadios para acidez titulável, extratos secos total e desengordurado e teor de gordura. Já os valores médios para a crioscopia e teor de cloretos foram superiores nos quartos com mastite subclínica, quando estes foram comparados com os quartos sadios. Após a reavaliação, as variações entre os quartos mamários doentes e os quartos sadios permaneceram próximas àquelas verificadas na avaliação anterior para a densidade, extratos secos total e desengordurado e crioscopia. As variações para acidez titulável, teor de gordura e teor de cloretos diminuíram.

Tabela 11 - Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos, com respectivas diferenças, durante a Fase 1¹, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação.

Características	Visita 1			Visita 2		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Acidez titulável (°D)	15,5	17,4	-10,92*	16,3	17,2	-5,23 ^{ns}
Densidade (g/ml)	1,032	1,032	0,00 ^{ns}	1,031	1,032	-0,10 ^{ns}
E.S.T. (%)	11,42	11,73	-2,64 ^{ns}	11,22	11,54	-2,77 ^{ns}
E.S.D. (%)	8,75	8,84	-1,02 ^{ns}	8,55	8,82	-3,06 ^{ns}
Teor de gordura (%)	2,65	2,92	-9,25 ^{ns}	2,67	2,72	-1,84 ^{ns}
Crioscopia (°H)	-0,565	-0,572	+1,22 ^{ns}	-0,559	-0,560	+0,18 ^{ns}
Teor de cloretos (%)	0,1614	0,1398	+15,45*	0,1504	0,1379	+9,06 ^{ns}

¹ Fase 1: 10 a 60 dias após o parto; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p > 0,05$); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p < 0,05$).

Os resultados da acidez titulável, densidade, E.S.T., E.S.D., crioscopia, teor de cloretos e teor de gordura de quartos mamários doentes e sadios, em animais que se encontravam na Fase 2 do período de lactação, durante o acompanhamento da evolução destas características ao não ser realizado o tratamento, encontram-se na Tabela 12. Os quartos mamários com mastite subclínica apresentaram valores médios inferiores quando comparados com os valores médios do leite de quartos sadios para acidez titulável, densidade, extratos secos total e desengordurado e teor de gordura. Já os valores médios para a crioscopia e teor de cloretos foram superiores nos quartos com mastite subclínica, quando estes foram comparados com os quartos sadios. Após a reavaliação, as variações entre os quartos mamários doentes e os quartos sadios permaneceram próximas àquelas verificadas na avaliação anterior.

Tabela 12 - Médias da acidez titulável, densidade, extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.), teor de gordura, crioscopia e teor de cloretos, com respectivas diferenças, durante a Fase 2¹, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação.

Características	Visita 1			Visita 2		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Acidez titulável (°D)	14,4	16,9	-14,79*	14,7	17,4	-15,52*
Densidade (g/ml)	1,031	1,033	-0,19*	1,031	1,033	-0,19*
E.S.T. (%)	11,19	11,86	-5,65*	10,95	11,62	-5,77*
E.S.D. (%)	8,47	8,97	-5,57*	8,47	8,99	-5,78*
Teor de gordura (%)	2,72	2,89	-5,88 ^{ns}	2,47	2,63	-6,08 ^{ns}
Crioscopia (°H)	-0,549	-0,556	+1,26*	-0,550	-0,551	+0,18 ^{ns}
Teor de cloretos (%)	0,1908	0,1536	+24,22*	0,1878	0,1558	+20,54*

¹ Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p > 0,05$); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p < 0,05$).

As variações entre quartos mamários doentes e sadios, antes e depois do tratamento, contidas nas Tabelas 11 e 12, mostram que durante a Fase 1 de lactação houve diminuições para acidez titulável, teor de gordura e teor de cloretos, enquanto na Fase 2 houve redução para teor de cloretos, podendo ser conseqüência da maior taxa de recuperação espontânea verificada na Fase 1 de lactação, como poderá ser observado posteriormente na Tabela 15.

Os resultados das frações protéicas do leite de quartos mamários doentes e dos quartos sadios, nas visitas realizadas para acompanhar a evolução das características do leite sem o tratamento da mastite subclínica, em vacas que encontravam-se na Fase 1 do período de lactação, estão contidos na Tabela 13. Os quartos mamários com mastite subclínica apresentaram valores médios inferiores quando comparados com os valores médios dos quartos sadios para proteína total, proteína verdadeira e caseína. Já o valor médio para as soroproteínas foi superior nos quartos com mastite subclínica, quando comparados com os quartos sadios. Feita a reavaliação após 21 dias, houve pequenos aumentos nas variações entre os quartos mamários doentes e os sadios para

proteína total e caseína, com redução da variação para soroproteínas. O conteúdo médio de proteína verdadeira entre quartos doentes e sadios foi igual após reavaliação.

Tabela 13 – Médias e diferenças existentes entre as frações protéicas durante a Fase 1¹, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação.

Características	Visita 1			Visita 2		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Proteína total (%)	2,63	2,66	-1,13 ^{ns}	2,95	3,10	-4,84 ^{ns}
Proteína verdadeira (%)	2,45	2,46	-0,41 ^{ns}	2,88	2,88	0,00 ^{ns}
Caseína (%)	2,08	2,13	-2,35 ^{ns}	2,25	2,32	-3,02 ^{ns}
Soroproteínas (%)	0,45	0,34	+32,35 ^{ns}	0,63	0,56	+12,50 ^{ns}

¹ Fase 1: 10 a 60 dias após o parto; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p>0,05); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios (p<0,05).

Os resultados das frações protéicas do leite de quartos mamários doentes e sadios obtidos nas visitas para acompanhar a evolução das características do leite sem o tratamento da mastite subclínica, em vacas que encontravam-se na Fase 2 do período de lactação, estão contidos na Tabela 14. Assim como na Fase 1, não houve grandes variações entre quartos sadios e doentes, com exceção para soroproteínas, cuja variação reduziu-se após 21 dias, enquanto as variações para proteína total, proteína verdadeira e caseína elevaram-se.

Tabela 14 - Médias e diferenças existentes entre as frações protéicas durante a Fase 2¹, nas duas visitas de acompanhamento do não tratamento dos quartos mamários durante a lactação.

Características	Visita 1			Visita 2		
	Doentes	Sadios	Diferença (%)	Doentes	Sadios	Diferença (%)
Proteína total (%)	3,43	3,43	0,00 ^{ns}	3,23	3,36	-3,87 ^{ns}
Proteína verdadeira (%)	3,27	3,18	+2,83 ^{ns}	2,96	3,14	-5,73 ^{ns}
Caseína (%)	2,41	2,55	-5,49 ^{ns}	2,30	2,48	-7,26 ^{ns}
Soroproteínas (%)	0,88	0,59	+49,15*	0,58	0,49	+18,37 ^{ns}

¹ Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; ^{ns} Diferenças não significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p > 0,05$); * Diferenças significativas entre quartos mamários doentes e sadios ($p < 0,05$).

As taxas de recuperação espontânea dos 68 quartos mamários não tratados encontram-se na Tabela 15. Na Fase 1, 21,4% dos quartos tiveram cura espontânea, enquanto na Fase 2 este percentual foi de 3,7%.

Tabela 15 - Evolução do quadro de mastite subclínica sem a realização do tratamento, de acordo com a fase de lactação.

Fases	Quartos mamários	Evolução durante o acompanhamento			
		Quartos curados		Quartos não curados	
		n	%	N	%
1 ¹	14	3	21,4	11	78,6
2 ¹	54	2	3,7	52	96,3
Total	68	5	7,4	63	92,6

¹ Fase 1: 10 a 60 dias após a parição; Fase 2: do início do terceiro mês pós-parto até o nono mês de lactação; Qui-quadrado = 5,13 (Diferença significativa, $p < 0,05$).

As taxas de recuperação espontânea em ambas as fases de lactação foram inferiores às encontradas por Harmon *et al.* (1986), Soback *et al.* (1990), Nickerson *et al.* (1991) e Faria *et al.* (1996), que variaram de 33% a 48%, enquanto Philpot (1979), Jones (1986) e Anderson (1988) encontraram taxas de recuperação espontânea mais baixas que a obtida na Fase 1 de lactação, com valores que variaram de 17,8% a 20,0%.

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).

Um estímulo inflamatório, seja ele infeccioso ou não, determina uma reação local representada pela liberação, ativação e síntese de mediadores químicos e manifestada por alterações hemodinâmicas e hematológicas. A grande quantidade de mediadores derivados do plasma ou das células, assim como a atuação dos mecanismos de defesa da glândula mamária, podem ser importantes para a sobrevivência ou não de microrganismos como o *Staphylococcus aureus* e influenciar na recuperação espontânea de quartos mamários com mastite subclínica.

As variações percentuais das receitas obtidas depois do tratamento e durante o acompanhamento dos quartos mamários que não foram tratados na lactação encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16 - Variações (%) das receitas oriundas da produção de leite dos quartos mamários tratados durante a lactação contra mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* e não tratados, em um intervalo de quatro semanas.

	Com Tratamento	Sem Tratamento
Fase 1 ¹	- 0,20	+ 0,82
Fase 2 ²	-13,08	+ 0,48

¹ Fase 1: 10 a 60 dias após o parto; ² Fase 2: do início do terceiro mês após o parto até o nono mês de lactação.

Os possíveis fatores responsáveis pelo tratamento durante a lactação não resultar em aumento da receita foram o não aumento da produção de leite dos quartos mamários tratados e a baixa premiação pela melhoria da contagem de células somáticas. Enquanto as contagens de 300.000 células/mL podem ser indicativas de quartos mamários infectados, os valores aqui utilizados para cálculo de premiação

consideravam pagamento de prêmios até mesmo para contagens de 500.000 células/mL de leite, fazendo com que contagens médias altas recebessem um “bônus” de premiação. Além disso, as premiações e descontos foram feitos sobre a produção de leite de pequeno número de quartos mamários, de acordo com a prevalência da mastite subclínica (oito quartos mamários).

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que o tratamento dos quartos mamários com mastite subclínica durante a Fase 2 acarretou uma maior variação negativa da receita, quando comparada com a variação da Fase 1. Para Yamagata *et al.* (1987), tratar vacas no final da lactação contra *Streptococcus agalactiae* não pareceu ser justificável devido ao pouco aumento da produção de leite que não compensou o custo do tratamento. Estes autores citaram alternativas para controle da mastite subclínica, como descarte de animais com mastite crônica e práticas de linha de ordenha. Apesar disso, Nickerson (1993) relatou estudo em que a linha de ordenha não é tão eficaz para o controle da mastite subclínica por *Staphylococcus aureus*, tendo o descarte contribuído mais acentuadamente para a redução da doença por este agente etiológico.

Referente ao descarte de animais com mastite em rebanhos com contagens de células somáticas entre 500.000 e 750.000 células/mL (contagens de leite de conjunto), algumas estratégias consideradas mais extremas deveriam ser consideradas, como a retirada da vaca da lactação ou a retirada do leite de animais com uma contagem de células somáticas mais elevada, em conjunto com outras estratégias como a “terapia da vaca seca” e medidas preventivas (ALLORE *et al.*, 1998). A retirada da vaca da lactação, entretanto, é uma estratégia que não deve ser considerada como uma regra.

O intervalo aproximado para a reavaliação dos quartos tratados foi de 21 dias, período de tempo em que não foi observado aumento de produção de leite, apesar da diminuição na contagem de células somáticas. Santos (2002) indica que, com contagem de células somáticas igual a 400.000/mL, a diminuição da produção do animal seria de 545 Kg em um período de 305 dias de lactação. Com o decréscimo para 100.000 células/mL, a diminuição da produção de leite seria de 182 Kg.

Um impacto positivo que o tratamento da mastite subclínica durante a lactação pode causar, além da melhoria da qualidade do leite aqui observada pela redução do número de células somáticas, está relacionado com o ponto de vista epidemiológico. O tratamento fez com que altas taxas de cura fossem alcançadas e a associação de medidas posteriores de manejo para prevenir novos casos de mastite, com a higiene do animal e do local onde as vacas são ordenhadas, o correto funcionamento do equipamento de ordenha e a desinfecção dos tetos após a ordenha, seriam de grande valor para a propriedade.

As variações percentuais das receitas obtidas foram positivas quando não efetuado o tratamento, apesar de não serem descartadas possíveis mudanças após o intervalo de tempo estudado, quando esta conduta proporcionaria a manutenção de fontes de infecção no rebanho e, assim, uma redução posterior mais evidente da qualidade e quantidade de leite produzido.

6 CONCLUSÕES

- 1) O tratamento dos quartos doentes não restabeleceu a produção láctea.
- 2) Após o tratamento verificou-se a redução das diferenças entre os valores das características físico-químicas estudadas, em ambas as fases de lactação, com exceção da proteína total, proteína verdadeira, caseína e do teor de gordura.
- 3) A não realização do tratamento provocou a elevação das diferenças entre os valores de extrato seco total, extrato seco desengordurado, proteína total e caseína.
- 4) A não realização do tratamento da mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus* acarretou a diminuição da contagem de células somáticas, diferentemente do não tratamento, quando os valores mantiveram-se elevados.
- 5) Após o tratamento obteve-se altas taxas de cura para a mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* em ambas as fases de lactação, enquanto a cura espontânea foi mais elevada na Fase 1 de lactação.
- 6) O não tratamento dos animais com mastite subclínica por *Staphylococcus aureus* durante o período de lactação mostrou ser a conduta economicamente mais viável, apesar do perigo que este microrganismo pode representar para a saúde pública, além do risco de aparecimento de novas infecções.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHL, A.S. et al. Cost of mastitis and its prevention in four dairy cattle herds on St. Croix, US Virgin Islands. *Journal of American Veterinary Medical Association*, Philadelphia, v.194, n.10, p.1418-1421, 1989.

ALLORE, H.G.; ERB, H.N. Partial budget of the discounted annual benefit of mastitis control strategies. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.81, n.8, p.2280-2292, 1998.

ALLORE, H.G. et al. A simulation of strategies to lower bulk tank somatic cell count below 500,000 per milliliter. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.81, n.3, p.694-702, 1998.

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 Veterinaria.*, Jaboticabal, v.4, n.1, p.105-112, 1988.

ANDERSON, K.L. Mastitis therapy and pharmacology of drugs in the bovine mammary gland. *Bovine Practice*, v.20, p.64-70, 1988.

BAILEY, T.L. et al. Using records to evaluate milk production. *Veterinary Medicine*, v.93, n.12, p.1083-1093, 1998.

BAUER, A.W.; KIRK, M.M.; SHERRIN, J.D. Antibiotics susceptibility testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, Philadelphia, v.45, p.493-496, 1966.

BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2000, Curitiba. *Anais...Curitiba: 2000.* p.85.88.

BRAMLEY, A.J. et al. *Current concepts of bovine mastitis*. National Mastitis Council, Madison, 1996. p.1-3.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes. II- Métodos físico-químicos*. Brasília, DF. 1981. 174p.

BRASIL. Ministério da Agricultura. *Instrução Normativa nº 51*. Brasília, DF. 2002.48p.

BRITO, J.R.F. et al. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.17, n.2, p.49-53, 1997.

BURAGOHAIN, J.; DUTTA, G.N. A note on the efficacy of treatment during lactation for the control of bovine mastitis. *Indian Veterinary Journal*, Madras, v.71, p.504-504, 1994.

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

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.

COSTA, E.O. et al. Avaliação da condutibilidade elétrica do leite de glândula mamária com mastite: correlação com CMT e exames microbiológicos. *Napgama*, São Paulo, ano I, n.1, p.3-8, 1998.

CULLEN, G.A. Cell count throughout lactation. *Veterinary Record*, London, v.38, p.125-128, 1968.

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*, Porto Alegre, ano 18, n.104, p.27-33, 1998.

DOMINGUES, P.F. *Produção de leite e mastite bovina subclínica por Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, e Corynebacterium bovis*. 1993. 39p. Tese de Mestrado - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Câmpus de Botucatu. Botucatu.

ENEVOLDSEN, C.; GROHN, Y.T.; THYSEN, I. Dairy cow characteristics related to *Staphylococcus aureus* isolation from quarter samples. *Journal of Dairy Research*, Cambridge, v.62, p.69-81, 1995.

FAGLIARI, J.J.; LUCAS, A.; FERREIRA NETO, J.M. Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos no “California Mastitis Test” e o exame bacteriológico. *Ciência Veterinária Jaboticabal*, Jaboticabal, v.4, n.1, p.4-5, 1990.

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.

FILIPPSEN, L.F. et al. Prevalência de mastite bovina causada por *Prototheca zopfii* em rebanhos leiteiros, na região norte do Paraná. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.29, n.1, p.87-89, 1999.

FONSECA, L.F.L. Pagamento por qualidade: situação atual e perspectivas para o setor lácteo brasileiro – parte 01. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: [2001?a].

FONSECA, L.F.L. Pagamento por qualidade: situação atual e perspectivas para o setor lácteo brasileiro – parte 02. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: [2001?b].

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

GREENE, W.A. et al. Comparison of probiotic and antibiotic intramammary therapy of cattle with elevated somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.74, n.9, p.2976-2981, 1991.

GUIDRY, A.J. Mastitis and the immune system of the mammary gland. In: ANDERSON, R.R. et al. *Lactation*. 1ed. Iowa State University Press: Bruce Larson, 1985. p.229-258.

HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HARMON, R.J. Fatores que afetam as contagens de células somáticas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. *Anais...* Curitiba: 1998. p.7-15.

HARMON, R.J. et al. Prevalence of minor udder pathogens after intramammary dry treatment. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.69, n.3, p.843-849, 1986.

HEESCHEN, W.; REICHMUTH, J. Mastitis: influence on qualitative and hygienic properties of milk. In: INTERNATIONAL MASTITIS SEMINAR, 1995, Tel Aviv. *Proceedings...* Tel Aviv: 1995. p.3.3-3.13.

HIPÓLITO, O.; FREITAS, M.G.; FIGUEIREDO, J.B. *Doenças infecto-contagiosas dos animais domésticos*. 4. ed. São Paulo: Edições Melhoramentos, 1965. p.26-37.

HOLMBERG, O. *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk. *Acta Veterinaria Scandinavica*, Copenhagen, v.45, p.1-144, 1973 (Supplement).

HOLT, J.G. et al. Gram-positive cocci. In: BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. p.544-551.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA. Salários rurais, por categoria, estado de São Paulo, abril de 2001. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br>>. Acesso em: ago. 2002.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. *Determination of the total nitrogen content of milk by the Kjeldahl method*. International Standard, 1962. (FIL-IDF 20).

JONES, G.M. Symposium: reducing somatic cell counts: meeting the 1986 challenge. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.69, n.6, p.1699-1707, 1986.

JONES, G.M. et al. Relationship between somatic cell counts and milk production. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.67, p.1823, 1984.

KEHRLI, M.E. JR; SHUSTER, D.E. Factors affecting milk somatic cell counts and their role in health of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.77, n.2, p.619-627, 1994.

KUMAR, V.; COTRAN, R.S.; ROBBINS, S.L. *Patologia básica*. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1994. 608p.

LANGENEGGER, J.; VIANNI, M.C.E.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mastite subclínica sobre a produção de leite. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.1, n.2, p.47-52, 1981.

LANGONI, H. et al. Eficácia do Leocillin^R 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.

MACDONALD, E.A. et al. Neutrophil function in vitro: diapedesis and phagocytosis. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.77, n.2, p.628-638, 1994.

MALLARD, B.A. et al. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.81, n.2, p.585-595, 1998.

MENDONÇA, C.L. et al. Etiologia da mastite bovina. *Veterinária Notícias*, Uberlândia, v.5, n.1, p.107-118, 1999.

MILKPOINT. Mercado lácteo. Cotações. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: ago. 2002.

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.; ASSUMPÇÃO, R.M.V. *Manual de soluções reagentes e solventes*. São Paulo: Edgar Blucher, 1972. 627p.

NADER FILHO, A. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Ribeirão Preto, São Paulo. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Rio de Janeiro, v.5, n.2, p.53-56, 1985.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. *Current concepts of bovine mastitis*. 4.ed., Madison, 1996, 64p.

NICKERSON, S.C. Preventing new *Staphylococcus aureus* mastitis infections. *Veterinary Medicine*, April, p.368-374, 1993.

NICKERSON, S.C.; OWENS, W.E.; BODDIE, R.L. Progress in the development of a vaccine to control mastitis. *Louisiana Agriculture*, Baton Rouge, v.34, p.20-22, 1991.

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. 101p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Câmpus de Jaboticabal. Jaboticabal.

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 & Production*, Edinburgh, v.31, n.6, p.347-361, 1999.

PHILPOT, W.N. Control of mastitis by hygiene and therapy. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.62, n.1, p.168-176, 1979.

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.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANTOS, E.C.; VILELA, M.A.P. Pesquisa de células somáticas no leite cru como critério de avaliação de qualidade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.35, n.6, p.907-919, 1983.

SANTOS, M.V. Impacto econômico da mastite – Parte 1. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/mn/radarestecnicos/artigo.asp?area=16&aera_desc=Qualidade...>. Acesso em: 23 mar. 2002.

SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *American Journal of Veterinary Research*, Chicago, v.130, n.5, p.199-204, 1957.

SEARS, P.M. *Staphylococcus aureus* mastitis. In: ANNUAL MEETING, NATIONAL MASTITIS COUNCIL, PART 1 OF 7, 32., Disponível em: <<http://www.uwrf.edu/biotech/workshop/activity/act16/annexd2.htm>>. Acesso em: 22 jun. 2001.

SMITH, K.L. Standards for somatic cells in milk: physiological and regulatory. *International Dairy Federation newsletters*, n.144, sept., p.7-9, 1996.

SOBACK, S. et al. Systemic dry cow therapy - a preliminary report. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.73, p.661-666, 1990.

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.

SUBCOMMITTEE ON SCREENING TESTS, NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Direct microscopic somatic cell count in milk. *Journal of Milk and Food Technology*, Orange, v.31, n.1, p.350-354, 1968.

TIMMS, L.L.; SHULTZ, L.H. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.70, n.12, p.2648-2657, 1987.

TYLER, J.W.; WILSON, R.C.; DOWLING, P. Treatment of subclinical mastitis. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, Philadelphia, v.8, n.1, p.17-28, 1992.

URECH, E.; PUHAN, Z.; SCHALLIBAUM, M. Changes in milk protein fraction as affected by subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.82, n.11, p.2402-2411, 1999.

VAN HORN, H.H.; WILCOX, C.J. Monitoring milk quality and udder health. In: LARGE dairy herd management. Champaign, 1992. p.475-86.

VEISSEYRE, R. *Lactologia tecnica*. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1972. 629p.

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.

WAITTIAUX, M.A. Lactancia e ordeño. 1996. Disponível em: <<http://babcock.cals.wisc.edu/des/lacS/lac5/mastitis.html#Heading2>>. Acesso em: [2001?].

YAMAGATA, M. et al. The economic benefit of treating subclinical *Streptococcus agalactiae* mastitis in lactating cows. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Philadelphia, v.191, n.12, p.1556-1561, 1987.

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. 1 CD.

ZAFALON, L.F. 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, ano II, n. 6, p. 4-6, 1999a.

ZAFALON, L.F. et al. Produção láctea de quartos mamários de vacas com elevada contagem de células somáticas. *Ars Veterinaria*, Jaboticabal, v.15, n.3, p.202-205, 1999b.

ZECCONI, A. Somatic cells and their significance for milk processing (technology). *International Dairy Federation newsletters*, n.144, sept., p.11-14, 1996.

ZEPEDA, L. et al. A linear programming assessment of the profit from strategies to reduce the prevalence of *Staphylococcus aureus* mastitis. *Preventive Veterinary Medicine*, Amsterdam, v.33, p.183-193, 1998.

APÊNDICE



Figura 1 – Dispositivo acoplado às mangueiras de leite (Seta)



Figura 2 – Distribuidor de vácuo aos latões (Seta)

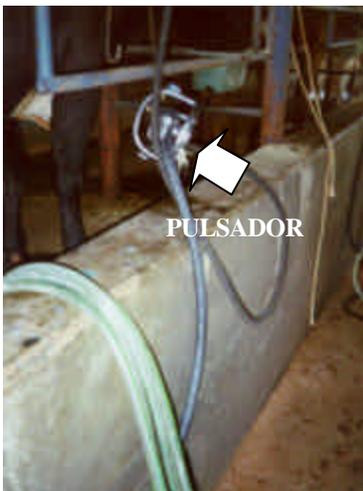


Figura 3 – Pulsador ao qual foi acoplada a mangueira dupla (Seta)

Tabela 1 – Valores mínimos (Val. Mín.) e máximos (Val. Máx.) das características estudadas durante a Fase 1 de lactação, antes e depois do tratamento.

Características	Antes do tratamento				Depois do tratamento			
	Quartos doentes		Quartos sadios		Quartos doentes		Quartos Sadios	
	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.
CCS (células x 10 ³ /mL)	144	2.900	18	351	45	444	13	122
Produção de leite (g)	1.293	3.334	1.694	3.541	672	4.371	1.174	4.124
Acidez titulável (°D)	8	21	13	24	12	21	15	20
Densidade (g/mL)	1,024	1,037	1,031	1,036	1,030	1,034	1,031	1,034
E.S.T. (%)	8,07	12,55	10,64	13,32	10,25	13,11	10,51	12,72
E.S.D. (%)	6,59	8,84	8,52	9,45	8,20	9,01	8,51	9,15
Gordura (%)	1,48	4,00	1,40	4,34	1,32	4,10	1,58	3,95
Crioscopia (°H)	-0,569	-0,529	-0,583	-0,529	-0,552	-0,535	-0,554	-0,537
Cloretos (%)	0,1456	0,2311	0,0859	0,1445	0,1136	0,1676	0,1051	0,1445
Proteína total (%)	1,94	3,20	1,96	3,13	0,91	2,54	2,05	2,64
Proteína verdadeira (%)	1,66	2,96	1,66	2,95	0,76	2,42	1,93	2,51
Caseína (%)	1,56	2,73	1,94	2,87	0,62	1,82	1,15	1,94
Soroproteínas (%)	0,12	0,75	0,04	0,56	0,14	0,94	0,37	0,78

Tabela 2 – Valores mínimos (Val. Mín.) e máximos (Val. Máx.) das características estudadas durante a Fase 2 de lactação, antes e depois do tratamento.

Características	Antes do tratamento				Depois do tratamento			
	Quartos doentes		Quartos sadios		Quartos doentes		Quartos Sadios	
	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.
CCS (células x 10 ³ /mL)	117	3.400	18	351	7	1.200	7	370
Produção de leite (g)	707	3.318	886	3.877	461	3.226	638	3.658
Acidez titulável (°D)	11	20	13	23	12	22	14	23
Densidade (g/mL)	1,028	1,034	1,027	1,036	1,028	1,036	1,028	1,037
E.S.T. (%)	9,22	14,13	9,09	14,32	9,15	13,85	9,74	14,13
E.S.D. (%)	7,67	9,49	7,42	9,94	7,80	9,92	7,94	10,23
Gordura (%)	0,88	4,82	0,76	4,58	0,86	4,87	0,87	5,05
Crioscopia (°H)	-0,612	-0,518	-0,627	-0,512	-0,554	-0,529	-0,558	-0,529
Cloretos (%)	0,1186	0,2592	0,1037	0,1825	0,0927	0,1974	0,0948	0,1736
Proteína total (%)	2,18	3,56	2,17	3,70	1,72	4,08	1,79	4,00
Proteína verdadeira (%)	1,89	3,37	1,91	3,51	1,54	3,15	1,65	3,25
Caseína (%)	1,58	2,86	1,84	2,81	0,85	2,42	0,67	2,57
Soroproteínas (%)	0,22	1,23	0,06	0,96	0,46	0,73	0,19	1,01

Tabela 3 – Valores mínimos (Val. Mín.) e máximos (Val. Máx.) das características estudadas durante a Fase 1 de lactação, durante a avaliação dos quartos não tratados e homólogos sadios com posterior reavaliação.

Características	Avaliação				Reavaliação			
	Quartos doentes		Quartos sadios		Quartos doentes		Quartos Sadios	
	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.
CCS (células x 10 ³ /mL)	45	2.500	18	200	39	1.200	8	330
Produção de leite (g)	1.100	3.156	1.160	4.252	1.344	3.298	1.338	3.794
Acidez titulável (°D)	12	20	13	22	13	20	13	20
Densidade (g/mL)	1,026	1,035	1,030	1,034	1,028	1,033	1,030	1,034
E.S.T. (%)	9,7	14,99	9,66	15,44	10,04	12,15	10,20	13,62
E.S.D. (%)	7,52	9,34	8,50	9,56	7,97	9,05	8,35	9,53
Gordura (%)	0,94	5,90	1,12	6,50	1,50	3,64	1,40	4,09
Crioscopia (°H)	-0,605	-0,547	-0,630	-0,546	-0,596	-0,531	-0,586	-0,546
Cloretos (%)	0,1274	0,2180	0,0850	0,1600	0,1120	0,1949	0,0870	0,1658
Proteína total (%)	1,83	3,60	2,29	2,98	1,92	3,54	2,69	3,75
Proteína verdadeira (%)	1,67	3,48	1,95	2,71	2,65	3,36	2,53	3,60
Caseína (%)	1,35	2,96	1,70	2,47	1,55	3,05	1,65	3,50
Soroproteínas (%)	0,32	0,68	0,16	0,60	0,31	1,31	0,10	1,02

Tabela 4 – Valores mínimos (Val. Mín.) e máximos (Val. Máx.) das características estudadas durante a Fase 2 de lactação, durante a avaliação dos quartos não tratados e homólogos sadios com posterior reavaliação.

Características	Avaliação				Reavaliação			
	Quartos doentes		Quartos sadios		Quartos doentes		Quartos Sadios	
	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.	Val. Mín.	Val. Máx.
CCS (células x 10 ³ /mL)	64	1.900	4	360	190	2.200	8	330
Produção de leite (g)	360	4.201	536	4.744	266	3.921	482	4.356
Acidez titulável (°D)	8	19	12	21	10	18	12	22
Densidade (g/mL)	1,026	1,034	1,030	1,036	1,027	1,035	1,028	1,037
E.S.T. (%)	7,71	15,11	9,23	16,65	9,01	14,40	9,37	14,69
E.S.D. (%)	6,83	9,82	8,13	10,16	7,47	9,47	7,97	9,80
Gordura (%)	0,88	5,29	1,10	6,49	0,80	5,54	0,68	5,57
Crioscopia (°H)	-0,574	-0,529	-0,583	-0,536	-0,574	-0,537	-0,587	-0,536
Cloretos (%)	0,1189	0,2577	0,1140	0,2009	0,1381	0,2574	0,1061	0,2430
Proteína total (%)	2,16	4,80	2,32	4,65	2,58	3,72	2,56	4,30
Proteína verdadeira (%)	1,90	4,58	2,11	4,47	2,15	3,50	2,50	4,14
Caseína (%)	1,53	3,24	1,78	3,49	1,35	2,87	1,65	3,86
Soroproteínas (%)	0,26	1,42	0,21	0,98	0,17	1,26	0,16	0,82

- Cálculos realizados para obtenção das variações percentuais das receitas

Fase 1 de lactação (com tratamento):

Antes do tratamento -

Número de quartos mamários sadios (152) x produção média dos quartos sadios (2,5677 l) = 390,3l/dia x 30 = 11.708,7 l/mês x 0,3511 (preço do litro do Leite C no momento do trabalho) = R\$ 4.110,93 + 4% (prêmio pela contagem de células somáticas) = **R\$ 4.275,37**.

Número de quartos mamários doentes (8) x produção média dos quartos doentes (2,14995 l) = 17,2 l/dia x 30 = 515,99 l /mês x 0,3511 = R\$ 181,16 – 3% (desconto pela contagem de células somáticas) = **R\$ 175,72**.

TOTAL = R\$ 4.275,37 + R\$ 175,72 = R\$ 4451,09

Gastos com o tratamento:

- Mão de obra: Coeficiente técnico (0,0582) x R\$ 247,05 + encargos sociais = **R\$20,56**.
- Preço unitário do antimicrobiano: R\$ 2,20 x 8 quartos x 3 dias = **R\$52,80**.
- Gastos com antibiograma: R\$ 12,50 x 8 quartos = **R\$100,00**
- Descarte de leite:

Produção média de um quarto doente (2,14995 l) + produção média dos quartos sadios (2,5677 l x 3 quartos) = 9,85 l x 8 animais x 6 dias (número dos dias de descarte) = 472,8 l x 0,3511 = **R\$166,00** (levando em consideração um quarto infectado por animal com quatro quartos produzindo).

- **TOTAL = R\$ 339,36**

Depois do tratamento

Número de quartos mamários sadios (152) x produção média dos quartos sadios depois do tratamento (2,7568 l) = 419,03 l/dia x 30 = 12.571,0 l/mês x 0,3511 = R\$ 4.413,68 + 4% (prêmio pela contagem de células somáticas) = **R\$ 4.590,23**.

Número de quartos mamários doentes (8) x produção média dos quartos doentes depois do tratamento (2,1855 l) = 17,48 l /dia x 30 = 524,52 l /mês x 0,3511 = 184,16 + 4% (prêmio pela contagem de células somáticas) = **R\$ 191,52.**

TOTAL = R\$ 4.590,23 + R\$ 191,52 = R\$ 4.781,75

Receita total obtida depois do tratamento (**R\$ 4.781,75**) (– Gastos com o tratamento (**R\$ 339,36**)) - Receita total obtida antes do tratamento (**R\$ 4.451,09**) = VARIACÃO PERCENTUAL DAS RECEITAS (- **0,20%**).

Fase 1 de lactação (sem tratamento):

Visita para avaliação da mastite subclínica:

152 x 2,8501 l = 433,2l/dia x 30 = 12.996,5 l/mês x 0,3511 = R\$ 4.563,06 + 4% = **R\$ 4.745,58**

8 x 2,35365 l = 18,83 l/dia x 30 = 564,9 l /mês x 0,3511 = R\$ 198,33 + 3% = **R\$ 204,28.**

TOTAL = 4.745,58 + R\$ 204,28 = R\$ 4.949,86

Visita para reavaliação da mastite subclínica:

152 x 2,8782 l = 437,5 l/dia x 30 = 13.124,6 l/mês x 0,3511 = R\$ 4608,04 + 4% = **R\$ 4.792,37.**

8 x 2,29605 l = 18,37 l /dia x 30 = 551,9 l /mês x 0,3511 = 193,47 + 2,5% = **R\$ 198,31**

TOTAL = 4.792,37 + R\$ 198,31 = R\$ 4990,68

Cálculos:

R\$ 4.949,86 – visita de avaliação

R\$ 4.990,68 – visita para reavaliação

Aumento de **0,82%** na receita.

Fase 2 de lactação (com tratamento):

Antes do tratamento -

$152 \times 2,4706 \text{ l} = 375,5 \text{ l/dia} \times 30 = 11.265,9 \text{ l/mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 3955,47 = \$4 = \text{R\$ } 4.113,69.$

$8 \times 1,948 \text{ l} = 15,6 \text{ l/dia} \times 30 = 467,5 \text{ l/mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 164,15 + 2,5\% = \text{R\$ } 168,25.$

TOTAL = R\$ 4.113,69 + R\$ 168,25 = R\$ 4281,94

Gastos com tratamento

- Mão de obra: Coeficiente técnico (0,0582) x R\$ 247,05 + encargos sociais = **R\$20,56**
- R\$ 2,20 x 8 quartos x 3 dias = **R\$52,80**
- Gastos com antibiograma: R\$ 12,50 x 8 quartos = **R\$100,00**
- Descarte de leite: $1,948 \text{ l} + (2,4706 \text{ l} \times 3 \text{ quartos}) = 9,36 \text{ l} \times 8 \text{ animais} \times 6 \text{ dias} = 449,27 \text{ l} \times 0,3511 = \text{R\$157,74}$ (levando em consideração um quarto infectado por animal com quatro quartos produzindo).
- **TOTAL = R\$331,10**

Depois do tratamento -

$152 \times 2,3389 \text{ l} = 355,5 \text{ l/dia} \times 30 = 10.665,38 \text{ l/mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 3.744,62 + 4\% = \text{R\$ } 3.894,40.$

$8 \times 1,8008 \text{ l} = 14,47 \text{ l/dia} \times 30 = 434,11 \text{ l/mês} \times 0,3511 = 152,42 + 4\% = \text{R\$ } 158,51$

TOTAL = 3.894,40 + R\$ 158,51 = R\$ 4.052,91

Receita total obtida depois do tratamento (**R\$ 4.052,91**) (– Gastos com o tratamento (**R\$ 331,10**)) - Receita total obtida antes do tratamento (**R\$ 4.052,91**) = VARIACÃO PERCENTUAL DAS RECEITAS (- 13,08%).

Fase 2 de lactação (sem tratamento):

Visita para avaliação da mastite subclínica:

$152 \times 2,1054 \text{ l} = 320 \text{ l /dia} \times 30 = 9.600,62 \text{ l/mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 3370,78 + 4\% = \text{R\$ } 3.505,61.$

$8 \times 1,5751 \text{ l} = 12,6 \text{ l/dia} \times 30 = 378,02 \text{ l /mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 132,72 + 2\% = \text{R\$ } 135,38.$

TOTAL = 3.505,61 + R\$ 135,38 = R\$ 3.640,99

Visita para reavaliação da mastite subclínica:

$152 \times 2,1212 \text{ l} = 322,42 \text{ l/dia} \times 30 = 9672,67 \text{ l/mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 3396,08 + 4\% = \text{R\$ } 3.531,92.$

$8 \times 1,5328 \text{ l} = 12,26 \text{ l/dia} \times 30 = 367,87 \text{ l /mês} \times 0,3511 = \text{R\$ } 129,26 - 2\% = \text{R\$ } 126,58 .$

TOTAL = 3.531,92 + R\$ 126,58 = R\$ 3.658,50

Cálculos:

R\$ 3640,99 – visita de avaliação

R\$ 3658,50 – visita para reavaliação

Aumento de **0,48%** da receita.