

CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE DE VACAS DE DIFERENTES RAÇAS EM DISTINTAS LACTAÇÕES E CONDIÇÕES CLIMÁTICAS*

Luiz Francisco Zafalon¹
Juliana Rodrigues Pozzi Arcaro²
Antônio Nader Filho³
Josir Laine Aparecida Veschi⁴

RESUMO

Investigou-se a relação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o número de lactações dos animais em casos de mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus*, frente a distintas raças e condições climáticas, em rebanho leiteiro de animais das raças Holandesa e Pardo-suíça entre agosto de 2005 e dezembro de 2006. Os animais foram estudados em dois períodos distintos, denominados “chuvoso” e “seco”, e classificados de acordo com o número de lactações em grupo “Lac1”, formado por animais que se encontravam durante a primeira lactação; grupo “Lac 2 a 4”, composto por animais na segunda, terceira e quarta lactações; e o grupo “Lac \geq 5”, composto por animais no decorrer da quinta lactação ou superior. A determinação das células somáticas do leite foi efetuada por contagem eletrônica. Não houve diferença estatística significativa na contagem celular do leite dos quartos mamários infectados nas diferentes lactações, quando comparados os períodos chuvoso e seco ($P = 0,8473$) e também as raças dos animais ($P = 0,9153$).

Palavras-chave: *Staphylococcus aureus*, mastite bovina, contagem de células somáticas, condições climáticas

SOMATIC CELLS COUNT IN THE MILK OF DIFFERENT BREED COWS IN UNEQUAL PARITIES AND CLIMATE

SUMMARY

The relationship between somatic cells count (SCC) and the parities from cows with bovine mastitis caused by *Staphylococcus aureus*, in different breeds and climates was investigated. A dairy herd with Holstein and Brown Swiss cattle was studied from August/2005 to December/2006. The animals were studied in two different periods, rainy and dryness, and also in agreement with the parities in Group “Lac 1”, formed by animals in the first parity; Group “Lac 2 to 4” was formed by animals in the second, third and fourth parities; and Group “Lac \geq 5” was formed by animals in the course of fifth or more parities. The milk somatic cells determination was performed by electronical count. There was not statistical significant difference in the milk cell count from infected mammary quarters in the different parities, when compared with the rainy and dryness periods ($P=0.8473$) and also animal breeds ($P=0.9153$).

Key words: *Staphylococcus aureus*, bovine mastitis, somatic cell count, weather conditions

¹ Pesquisador, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP. autor para correspondência: Luiz Francisco Zafalon – Embrapa Pecuária Sudeste - Rodovia Washington Luís, Km 234, Caixa Postal 339, CEP 13560-970, São Carlos, SP, Email: zafalon@cppse.embrapa.br

² Pesquisadora, Instituto de Zootecnia, Nova Odessa, SP.

³ Professor titular, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal, SP

⁴ Pesquisadora, Embrapa Semi-árido, Petrolina, PE.

CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE DE VACAS DE DIFERENTES RAZAS EN LACTACIONES Y CONDICIONES CLIMÁTICAS DIVERSAS

RESUMEN

La relación entre el conteo de células somáticas (CCS) y el número de lactaciones de los animales, en casos de mastitis bovina causada por *Staphylococcus aureus* en vacas, con diferentes razas y condiciones climáticas fue investigada, en un rebaño lechero de ganado holandés y pardo-suizo entre agosto de 2005 y diciembre de 2006. Los animales fueron estudiados en dos períodos distintos, denominados “lluvioso” y “seco”, y clasificados de acuerdo con el número de lactaciones en grupo “Lac1”, formado por animales durante la primera lactación; grupo “Lac 2 a la 4”, compuesto por animales en la segunda, tercera y cuarta lactaciones; y el grupo “Lac \geq 5” que era compuesto por animales en transcurso de la quinta lactación o superior. La determinación de las células somáticas en la leche fue efectuada por el recuento electrónico. No ha habido diferencia estadística significativa en el recuento celular en la leche de los cuartos mamarios infectados en las diferentes pariciones, al comparar los períodos lluvioso y seco ($P = 0,8473$) y también las razas de los animales ($P = 0,9153$).

Palabras-clave: *Staphylococcus aureus*, mastitis bovina, conteo de células somáticas, condiciones climáticas.

INTRODUÇÃO

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) é uma das mais importantes causas infecciosas da mastite bovina, cuja transmissão ocorre principalmente durante a ordenha (1). Esse microrganismo está relacionado predominantemente à mastite subclínica e secundariamente a casos clínicos, além de secreção láctea com elevada contagem de células somáticas (CCS) (2).

O número de lactações ou ordem de lactação está relacionado com elevação da CCS no leite de vacas na presença de quadro infeccioso da glândula mamária (3) e a CCS pode aumentar nos meses mais quentes do ano, em virtude da menor produção de leite do animal e também pela maior possibilidade de ocorrência de infecções intramamárias. Estudos referiram diferenças significativas na CCS do leite de vacas, quando comparados períodos chuvosos e períodos com menor quantidade de chuvas (4).

A resposta das vacas à infecção intramamária pode ser influenciada pelas barreiras de defesa contra a entrada de patógenos e a capacidade em responder à agressão quando os microrganismos invadem a glândula mamária. Entretanto, observou-se que a raça do animal contribuiu com aspectos relacionados à doença, por exemplo, com os efeitos da terapia contra a mastite. Além disso, a taxa de cura após o tratamento dos animais foi dependente de características da vaca, especialmente o número de lactações do animal, com baixa resposta à terapia de vacas mais velhas (5).

O objetivo deste estudo foi verificar a relação entre a CCS e o número de lactações de animais com mastite bovina causada por *S. aureus*, considerando-se as raças dos animais e as condições climáticas existentes no local.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados animais de propriedade leiteira localizada na região de Campinas, São Paulo, com ordenha mecânica duas vezes ao dia. Realizou-se 16 visitas mensalmente à propriedade, entre agosto de 2005 e dezembro de 2006 para a investigação dos casos de mastite nos animais em lactação. O total de 137 quartos mamários infectados por *S. aureus* foram estudados, 110 dos quais de animais da raça Holandesa e 27 Pardo-suíços.

As vacas em lactação do rebanho foram submetidas à prova do *California Mastitis Test* (CMT) (6) em todas as visitas e colheram-se amostras de leite para os exames microbiológicos para a confirmação da mastite subclínica. A mastite clínica foi diagnosticada pelo teste da caneca telada e/ou pela presença de alterações macroscópicas da glândula mamária. As amostras de leite foram colhidas de vacas com mais de nove semanas em lactação (7). Não foi efetuada a colheita de amostras nos 30 dias anteriores à secagem. Considerou-se como unidade experimental o quarto mamário, assim, as amostras de leite originadas de um mesmo quarto foram utilizadas uma única vez.

Os registros dos índices pluviométricos foram realizados em períodos que antecederam as colheitas das amostras de leite (8) e os animais foram classificados de acordo com o número de lactações e com as raças às quais pertenciam. Os períodos classificados dentro de estação denominada como “seca” foram aqueles com índice pluviométrico máximo de 56,2 mm e precipitação média de 27,9 mm (Períodos 1 a 3 e 9 a 14, Figura 1), com um total de 60 quartos mamários estudados. Os períodos da estação “chuvosa” apresentaram índices pluviométricos máximos entre 76,3 mm e 193,8 mm, com precipitação média de 113,6 mm (Períodos 4 a 8 e 15 a 16, Figura 1), com um total de 77 quartos mamários estudados. A classificação dos animais de acordo com o número de lactações foi adaptada de Zafalon et al. (9). O grupo “Lac1” foi formado por animais que se encontravam durante a primeira lactação (31 quartos mamários); o grupo “Lac 2 a 4” foi composto por animais na segunda, terceira e quarta lactações (83 quartos mamários); e o grupo “Lac \geq 5”, composto por animais no decorrer da quinta lactação ou superior (23 quartos mamários).

As amostras de leite para o diagnóstico microbiológico foram colhidas em duplicatas de cada quarto mamário e em tubos de ensaio esterilizados, após a limpeza do óstio papilar com álcool etílico 70% (v/v), antes do início da ordenha. As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas com gelo e levadas ao laboratório para as atividades de isolamento e identificação dos microrganismos. As amostras de leite para a CCS foram obtidas simultaneamente às colheitas para o exame microbiológico, com acondicionamento em frascos plásticos com o conservante bronopol. A contagem celular foi realizada por contador eletrônico (Somacount 300, Bentley Instruments).

O cultivo microbiológico foi realizado pela semeadura do leite em ágar sangue ovino (5%), com incubação pelo período de 18 a 24 horas a 37°C. As colônias isoladas foram submetidas à coloração de Gram. Os cocos catalase e Gram positivos foram submetidos à prova de coagulase lenta em plasma de coelho (10), e as provas de produção de acetoína, utilização da maltose e da trealose. As colônias positivas nas provas supracitadas foram classificadas como *S. aureus* (11).

Procedeu-se à transformação logarítmica dos valores encontrados para as células somáticas do leite de quartos mamários (logaritmo base 10) (12), que foram submetidos à análise de variância, complementada pelo teste de Tukey-Kramer (13).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

S. aureus é uma das mais importantes causas de mastite bovina em todo o mundo, bem como está relacionado a várias doenças humanas como impetigo, abscessos, síndrome do

choque tóxico, endocardite e síndrome da pele escaldada (14). As enterotoxinas estafilocócicas são responsáveis por toxi-infecções alimentares em humanos e são incriminadas como fatores de virulência na mastite bovina (15).

Na Figura 1 estão ilustrados os índices pluviométricos em períodos que antecederam as colheitas de leite dos quartos mamários com mastite nos animais estudados.

Foi observado que sete períodos foram classificados como pertencentes à estação chuvosa, entre outubro de 2005 até abril de 2006 (Períodos 4 a 8) e de outubro de 2006 até dezembro de 2006 (Períodos 15 e 16). Em contraste, nove períodos foram classificados como característicos da estação seca, compreendidos entre julho e outubro de 2005 (Períodos 1, 2 e 3) e da segunda dezena de abril de 2006 ao início de outubro de 2006 (Períodos 9 a 14).

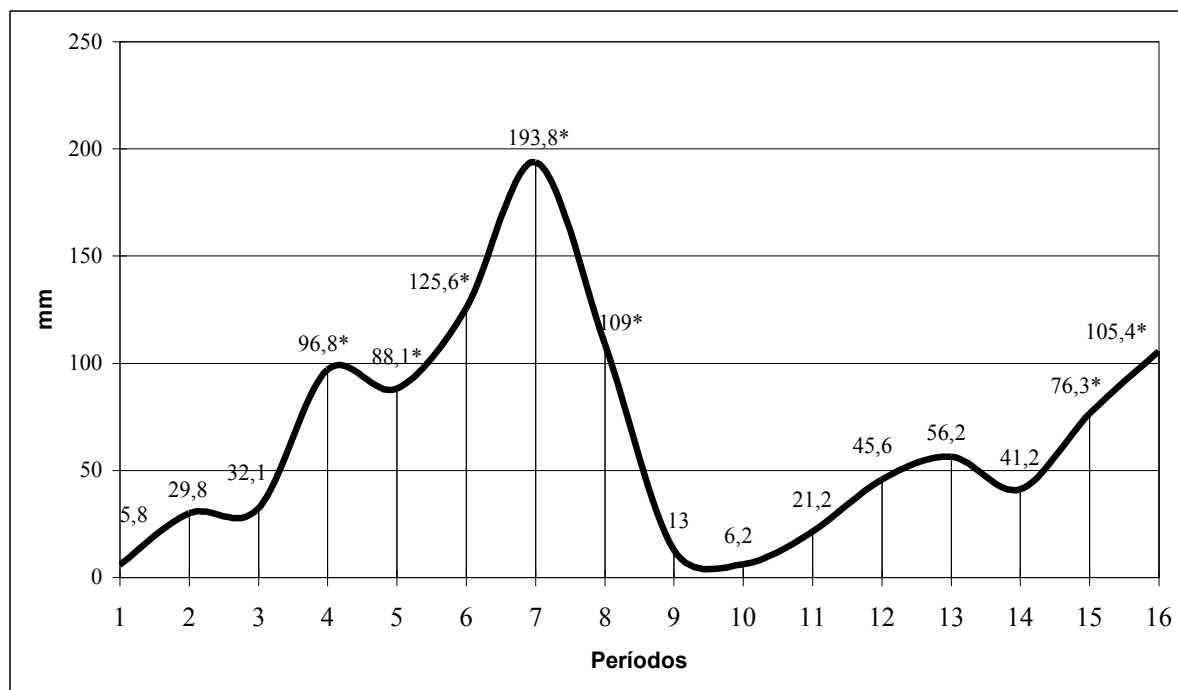


Figura 1. Índices pluviométricos (mm) na região da propriedade de origem do rebanho estudado, em períodos imediatamente anteriores às colheitas de amostras de leite (* Períodos classificados como chuvosos).

Dentre os 16 períodos acompanhados, as maiores frequências encontradas para *S. aureus* ocorreram nos períodos de chuvas, reforçando que índices pluviométricos elevados influenciam na elevação da ocorrência de mastite em vacas (16).

O estado de São Paulo possui características tipicamente tropicais e abrange seis tipos climáticos distintos, principalmente úmidos. O tipo climático predominante no estado é caracterizado como de inverno seco com temperaturas inferiores a 18°C e verão quente, com temperaturas superiores a 22°C. Este tipo de clima abrange principalmente as regiões central, leste e oeste do estado, entre as quais se encontra a propriedade estudada (17).

Na bacia leiteira de Pelotas, RS, foram investigadas as produções mensais de leite de conjunto entre setembro de 2001 e agosto de 2002. Porém, ao contrário do presente estudo, não foram verificados efeitos aparentes dos índices pluviométricos sobre os casos de mastite (18). Diferentemente, na Inglaterra e País de Gales, foram relatadas maior quantidade de infecções crônicas e menores taxas de cura de mastite nos meses do verão, provavelmente pela maior quantidade de desafios intramamários causados por diferentes microrganismos (19).

Na Tabela 1 estão apresentados os valores médios de CCS em amostras de leite de quartos mamários de animais com mastite causada por *S. aureus*, segundo as estações classificadas como “chuvosa” e “seca” em vacas Holandesas e Pardo-suíças, sob diferentes ordens de lactação. Foi verificado que durante a primeira lactação ocorreu média de CCS de 914×10^3 células/mL em período de menor ocorrência de chuvas, enquanto no período mais chuvoso a CCS média foi igual a 771×10^3 células/mL de leite. Diferentemente, em animais que apresentaram mais de uma lactação, a CCS foi superior nos períodos mais chuvosos, principalmente em vacas com cinco ou mais lactações, com contagem de $981,5 \times 10^3$ mL contra $680,6 \times 10^3$ mL aferida na estação seca.

Tabela 1. Número médio de células somáticas (médias geométricas) em leite de quartos mamários de vacas das raças Holandesa e Pardo-suíça em estações classificadas como “chuvosa”/“seca” e sob diferentes ordens de lactação.

Ordens de lactação	CCS ($\times 10^3$)							
	Estações ^{ns}				Raças ^{ns}			
	n	Chuvosa	n	Seca	n	Holandesas	n	Pardo-suíças
Lac 1 ¹	19	771	12	914	31	823	-	-
Lac 2 a 4 ²	48	729	35	726	60	705	23	790
Lac ≥ 5 ³	10	982	13	681	19	812	4	736

^{ns} Diferenças não significativas.

¹ Animais durante a primeira lactação; ² Animais com mais de uma e menos de cinco lactações; ³ Animais com cinco ou mais lactações.

Em quartos mamários com isolamento de *S. aureus*, oriundos de animais Pardo-suíços, foi detectada uma CCS média mais alta quando as vacas se encontravam em “Lac 2 a 4”, ao contrário de “Lac ≥ 5 ”, quando a CCS foi mais alta em vacas da raça Holandesa. Os resultados de animais da fase “Lac 1” não puderam ser comparados, já que nenhuma amostra foi obtida de animal Pardo-suíço durante esta fase. Entretanto, animais que se encontravam na primeira lactação da raça Holandesa foram aqueles que apresentaram maior CCS (823×10^3 /mL de leite). Após a análise estatística dos valores encontrados, não houve diferença significativa para a CCS apresentada no leite de animais em distintas fases de lactação, quando comparados entre si os períodos chuvoso e seco ($P = 0,8473$) e também as raças dos animais ($P = 0,9153$).

Coldebella et al. (20) descreveram que as vacas mais afetadas pelas temperaturas altas são de três ou mais lactações. Apesar de, no presente trabalho, estarem agrupados animais de três e quatro lactações em conjunto com os animais na segunda lactação, notou-se maior CCS em animais com mastite que apresentavam cinco ou mais lactações em períodos mais chuvosos e mais quentes. Esta CCS superior pode acarretar perdas produtivas mais abrangentes por maior agravamento do estado sanitário da glândula mamária e que poderiam justificar infecções recorrentes em animais com maior número de lactações. Vacas com maior número de lactações são mais propensas a adquirir infecções e mais difíceis de serem curadas após o tratamento da mastite estafilocócica, devido a infecções crônicas e formação de abscessos (21,22). Com efeito, os resultados do presente estudo indicam a necessidade de atenção especial aos animais com um maior número de lactações em períodos mais chuvosos, visto que podem apresentar maior propensão à mastite.

Dürr et al. (23) afirmaram que as reduções da produção de leite associadas com a CCS são menores na primeira lactação, quando comparada com as lactações seguintes. Nas vacas estudadas negativas para mastite após cultura bacteriana, a média geométrica de CCS elevou-se de 28.000 células / mL em animais na primeira lactação para 72.000 células / mL em animais com quatro ou mais lactações, e de 43.000 para 96.000 células / mL em vacas de

diferentes raças, demonstrando baixa influência do número de lactações sobre a CCS em fêmeas sadias (3).

Quanto mais elevada a CCS encontrada no leite, mais significativa a redução da produção do animal. Em vacas com um maior número de lactações, ocorrem maiores perdas na produção de leite comparativamente a animais com um menor número de lactações (24). A redução na produção em animais mais velhos decorre do estado sanitário deficiente da glândula mamária de vacas multíparas e/ou ao fim de lactação, devido a crescente exposição a possíveis infecções e danos permanentes à glândula causados por infecções prévias.

De maneira similar, Mccarthy et al. (25) não observaram efeito significativo da ordem de lactação sobre a ocorrência de infecções intramamárias, embora tenham encontrado maior tendência de infecções mamárias e de mastite clínica em animais com um maior número de lactações.

CONCLUSÕES

No presente estudo os índices pluviométricos e as raças não acarretaram elevação significativa da CCS, apesar de maior tendência de contagem em animais com cinco ou mais lactações em períodos chuvosos. O conhecimento de fatores intervenientes no grau de acometimento de um quarto mamário pela mastite em vacas pode fornecer informações a técnicos e produtores para nortear a escolha de medidas terapêuticas e de controle da doença.

REFERÊNCIAS

1. Salasia SIO, Khusnan Z, Lammler C, Zschock M. Comparative studies on pheno- and genotypic properties of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis in central Java in Indonesia and Hesse in Germany. *J Vet Sci.* 2004; 5: 103-9.
2. Kivaria FM, Noordhuizen JPTM, Nielen M. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Prev Vet Med.* 2007; 78: 274-85.
3. Laevens H, Deluyker H, Schukken YH, De Meulemeester L, Vandermeersch R, De Muelenaere L, et al. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J Dairy Sci.* 1997; 80: 3219-26.
4. Bueno VFF, Mesquita AJ, Nicolau ES, Oliveira NA, Oliveira JP, Neves RBS, et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. *Cienc Rural.* 2005; 35: 848-54.
5. Sandgren CH, Waller KP, Emanuelson U. Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation. *Vet J.* 2008; 175: 108-17.
6. Schalm OW, Noorlander DO. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *J Am Vet Med Assoc.* 1957; 130: 199-207.
7. Lescourret F, Coulon JB. Modeling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. *J Dairy Sci.* 1994; 77: 2289-301.

8. Ciiagro. Centro Integrado de Informações Agrometeorológicas. Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas; 2006 [cited 2006 Mar 23]. Available from: <<http://ciiagro.iac.sp.gov.br/ciiagroonline/>>.
9. Zafalon LF, Nader Filho A, Amaral LA, Oliveira JV, Resende FD. Alterações da composição e da produção de leite oriundo de quartos mamários de vacas com e sem mastite subclínica de acordo com o estágio e o número de lactações. *Arq Inst Biol.* 2005; 72: 419-26.
10. Ferreira LM, Nader Filho A, Oliveira E, Zafalon LF, Souza V. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. *Cienc Rural.* 2006; 36: 1228-34.
11. Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. Gram-positive cocci. In: Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST, editors. *Bergey's manual of determinative bacteriology.* Baltimore: Williams e Wilkins; 1994. p. 527-58.
12. Rysanek D, Babak V, Zouharova M. Bulk tank milk somatic cell count and sources of raw milk contamination with mastitis pathogens. *Vet Med.* 2007; 52: 223-30.
13. Sampaio IBM. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia; 1998.
14. Hata E, Katsuda K, Kobayashi H, Nishimori K, Uchida I, Higashide M, et al. Bacteriological characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from humans and bulk milk. *J Dairy Sci.* 2008; 91: 564-9.
15. Silva ER, Carmo LS, Silva N. Detection of the enterotoxins A, B and C genes in *Staphylococcus aureus* from goat and bovine mastitis in Brazilian dairy herds. *Vet Microbiol.* 2005; 106: 103-7.
16. Zafalon LF, Langoni H, Benvenuto F, Castelani L, Broccolo CR. Aspectos epidemiológicos da mastite bovina causada por *Staphylococcus aureus*. *Vet Zootec.* 2008; 15: 56-65.
17. Paes de Camargo A, Pinto HS, Brunini O, Pedro Júnior MJ, Ortolani AA, Alfonsi RR. Clima: conceituação. [cited 2008 Ago 28]. Available from: <<http://www.ciiagro.sp.gov.br/>>.
18. Martins PRG, Silva CA, Fischer V, Ribeiro MER, Stumpf Júnior W, Zanela MB. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. *Cienc Rural.* 2006; 36: 209-14.
19. Green MJ, Bradley AJ, Newton H, Browne WJ. Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: Investigations of the summer rise. *Prev Vet Med.* 2006; 74: 293-308.
20. Coldebella A, Machado PF, Demétrio CGB, Ribeiro Júnior PJ, Corassin CH, Meyer PM, et al. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas de alta produção. *Pesqui Agropecu Bras.* 2003; 38: 1451-7.

21. Faria JE, Figueiredo JB, Facury Filho EJ, Dale R, Lopasso Júnior OR. Infecção estafilocócica em vacas no final da lactação e no início da seguinte. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1996; 48: 533-41.
22. Swinkels JM, Rooijendijk JGA, Zadoks RN, Hogeveen H. Use of a partial budgeting to determine the economic benefits of antibiotic treatment of chronic subclinical mastitis caused by *Streptococcus uberis* or *Streptococcus dysgalactiae*. *J Dairy Res.* 2005; 72: 75-85.
23. Dürr JW, Cue RI, Monardes HG, Moro-Méndez J, Wade KM. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livest Sci.* 2008; 117: 225-32.
24. Hortet P, Beaudeau F, Seegers H, Fourichon C. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600000 cells /ml in French Holstein cows without clinical mastitis. *Livest Prod Sci.* 1999; 61: 33-42.
25. Mccarthy S, Berry DP, Dillon P, Rath M, Horan B. Effect of strain of Holstein–Friesian and feed system on udder health and milking characteristics. *Livest Sci.* 2007; 107: 19-28.

Recebido em: 07/12/2009

Aceito em: 18/05/2010