DANIELA BECKER BIRGEL

**Processo de secagem da glândula mamária
de bovinos da raça Holandesa:**

avaliação física da involução da mama e das características
físico-químicas, celulares e microbiológicas
da secreção láctea durante o período seco

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Departamento:

Clínica Médica

Área de concentração:

Clínica Veterinária

Orientador:

Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araújo

**São Paulo
2006**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virgínie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1739
FMVZ

Birgel, Daniela Becker

Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça Holandesa: avaliação física da involução da mama e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o período seco/ Daniela Becker Birgel. – São Paulo: D. B. Birgel, 2006.
191 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2006.

Programa de Pós-graduação: Clínica Veterinária.
Área de concentração: Clínica Veterinária.

Orientador: Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araújo.

1. Leite. 2. Período seco. 3. Características físico-químicas. 4. Células somáticas. 5. Bovino. 6. Raça Holandesa. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Processo de secagem de glândulas mamárias sadias de bovinos da raça holandesa. Avaliação clínica da involução da glândula mamária e das características físico-químicas e celulares da secreção láctea durante o período seco", protocolo nº596/2004, utilizando 12 bovinos fêmeas, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araújo, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "The drying - off period from healthy mammary gland of Holstein cows. Clinical evaluation of mammary gland involution and physicochemical and cellular characteristics of the milk in the dry period", protocol number 596/2004, utilizing 12 cows, under the responsibility of Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araújo, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 05 de janeiro de 2005

Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: **BIRGEL, Daniela Becker**

Título: Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça Holandesa: avaliação física da involução da mama e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o período seco

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Assinatura: _____ Julgamento: _____

Dedico este trabalho

*Ao meu querido **Eduardo**, companheiro de todos os momentos.
O amor e o equilíbrio do nosso lar foi fundamental para manter a tranquilidade
necessária para o término desta dissertação.
Obrigada por todo carinho, cumplicidade e a imensa dedicação
dispensada para esta dissertação*

*À minha querida **Beatriz**.
A emoção de ouvir a palavra mamãe e o som da sua risadinha
tornou esta empreitada leve e alegre.
Espero que um dia você compreenda a necessidade
de tantas e tantas horas na frente do computador*

*Aos meus pais,
Vera e Jayme,
exemplo de trabalho e dedicação. Obrigada pelo apoio, pelo amor
e por me possibilitarem uma ótima formação educacional, pois sem ela não teria conseguido
alcançar mais esta etapa profissional.*

*Aos meus irmãos
Júlio César e Thales.
obrigada por todo carinho, pelas risadas, pelas briguinhas ...*

*Aos meus queridos avós
Clara Eufride, José Becker e Paschoalina
meu eterno agradecimento por tudo que vocês significam na minha vida*

*Aos meus sogros,
Alice e Eduardo,
exemplo de união, amor e companheirismo. Obrigada por todo carinho
e a total disposição em sempre ajudar.*

*Às minhas cunhadas - irmãzinhas, Cynthia e Heloísa, e ao meu cunhado Marcos
obrigada pela amizade e por todo carinho.*

*Aos meus queridos sobrinhos
Antônio Augusto e Maria Gabriela
obrigada por todos os momentos adoráveis que dividimos quando estamos juntos*

*Às queridas crianças
Letícia, Emilie e Leonardo
voçês vieram para encher a família de alegria.*

Aos meus queridos tios, primos e amigos

*"O que somos é um presente que a vida nos dá.
O que nós seremos é um presente que daremos à
vida."*

Herbert de Souza

Ao meu orientador
Prof. Dr. Wanderley Pereira de Araujo
meus sinceros agradecimentos pela confiança no meu trabalho, pelos
ensinamentos e pela minha formação profissional.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. *Eduardo Harry Birgel*, muito obrigada pelo carinho dedicado a esta pesquisa e por todas as suas considerações fundamentais para a elaboração desta dissertação.

Aos Professores do Departamento de Clínica Médica, especialmente ao Prof. Dr. *Fernando José Benesi*, ao Prof. Dr. *Enrico Lippi Ortolani*, à Profa. Dra. *Lilian Gregory*, à Profa. Dra. *Alice Maria Melville Paiva Della Libera* e à Profa. Dra. *Maria Cláudia Araripe Sucupira*, pelos ensinamentos durante a graduação, residência e o mestrado.

A amiga *Raquel Fraga Raimondo*, companheira de todas as viagens, muito obrigada pelo carinho e sua total disposição em ajudar. Nunca esquecerei as risadas, as piadinhas ... Adorei todo nosso convívio!

Ao amigo *Fabio Celidônio Pogliani*, pela amizade e o agradável convívio na graduação, residência e pós-graduação. Obrigada por toda ajuda nas colheitas que sempre eram animadas pelo seu constante bom humor.

A amiga *Regiane Machado de Souza*, muito obrigada pelo carinho e por sua total disposição em sempre ajudar, se privando muitas vezes do convívio com seus filhos para participar nas colheitas e no processamento laboratorial das amostras desta dissertação.

As amigas *Eliza Komninou*, *Juliana Nogueira*, *Mariana Nunes* e *Nury Aymé Garcia* muito obrigada pela amizade, o convívio e por toda ajuda na colheita e no processamento laboratorial das amostras desta dissertação.

Aos amigos de Pós Graduação: *Fernanda Cyrillo*, *João Paulo Saut*, *Rogério Batista*, *Ana Paula Mazucco Prina* e *Flávio Bracale Brandespim* pela amizade e o agradável convívio.

À *Claudia Stragnolo*, obrigada pela realização do exame microbiológico das amostras desta dissertação e por todos os ensinamentos na área de microbiologia.

Ao Proprietário Sr. *Ney Scarpa* por confiar na nossa pesquisa e tão bem nos acolher na sua fazenda.

À *Rosângela* e sua filha *Jeniffer* por todo apoio no momento final desta dissertação e por cuidar com tanto carinho do nosso bem mais precioso: a Beatriz.

Aos Residentes da Clínica de Bovinos e Pequenos Ruminantes *Thales*, *Enoch* e *Frederico*, pelo harmonioso convívio.

Aos funcionários da Clínica de Bovinos *Luizinho*, *Elías*, *Edson*, *Francisco* e *Maria*, obrigada por todo apoio durante as atividades com os animais e pelo carinho demonstrado.

Aos “*estagiários do primeiro ano*” (69º Turma) obrigada pelo harmonioso convívio durante toda a residência.

As funcionárias da Biblioteca, *Elza*, *Fátima*, *Fernanda* e *Elena* pelas correções e por toda vontade em ajudar.

Meus sinceros agradecimentos a todos os meus professores da graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, obrigada por todos os ensinamentos transmitidos.

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

*“Quando você quer alguma coisa, todo universo conspira para que
você realize seu desejo.
O mundo está nas mãos daqueles que tem
coragem de sonhar, e correr o risco de viver seus sonhos”*

Paulo Coelho

RESUMO

BIRGEL, D. B. Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça Holandesa: avaliação física da involução da mama e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o período seco. [The involution of the mammary gland in Holstein cows: clinical evaluation of the udder and physicochemical, cellular and microbiological characteristics of the lacteal secretion in the dry period]. 2006. 191 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006

Com o objetivo de avaliar o processo de secagem da glândula mamária de vacas da raça Holandesa foram examinadas 44 mamas na fase final da lactação, durante a evolução do processo de secagem (dia da última ordenha; 1º, 3º, 5º, 7º, 10º, 15º, 30º e 45º dia do período seco), assim como no retorno à lactação. Antes da colheita das amostras, a glândula mamária era submetida a minucioso exame clínico por inspeção e palpação, sendo complementado pela avaliação do aspecto da secreção láctea. Após os primeiros jatos da secreção terem sido desprezados, procedia-se a sua colheita asséptica, para ser utilizada no exame microbiológico, seguida da colheita das amostras destinadas à avaliação das seguintes características físico-químicas e celulares: pH, eletrocondutividade, cloretos, lactose, gordura, proteína, sólidos totais, cálculo do índice cloreto/lactose, California Mastitis Test - CMT e do número de células somáticas. O processo de secagem determinou alterações na consistência da mama, pois no retorno da lactação a frequência de glândulas classificadas como sendo do Tipo III (firme) foi maior do que a observada antes do início da secagem e no 45º dia do período seco, e, favoreceu a recuperação dos tetos nos quais era perceptível a presença de prolapso de pequena severidade do orifício do teto, em contrapartida, o processo de secagem não influenciou na recuperação de prolapsos considerados de grande severidade, levando a conclusão que este grau de prolapso torna-se irreversível, mesmo após longos períodos sem ordenha. Numa fase inicial do processo de secagem, a abrupta retenção do leite determinou o aumento do grau de distensão da mama e dos tetos, sendo que, durante a primeira semana, observou-se uma gradual diminuição desta distensão e, a partir do 10º dia do período seco, verificou-se o aumento progressivo na frequência de mamas e tetos não distendidos, nas quais o processo de involução havia chegado

ao seu final. No decorrer do processo de involução constatou-se que o leite foi substituído por uma secreção aquosa de coloração branca ou creme clara; sendo que a partir do 7º dia, também foi observada a presença de secreção com aspecto viscoso de coloração amarelada; ao final do processo, no 45º dia do período seco, observou-se em 40,9 % das mamas uma secreção pré-colostral, com aspecto de mel ou soro lácteo. Durante o período seco, em animais, nos quais a supressão da ordenha tenha ocorrido há mais de três dias, foram observadas alterações similares às aquelas descritas nas mamites diagnosticadas durante a lactação ou nas retenções de leite, ou seja, observou-se um aumento abrupto dos valores do pH, eletrocondutividade, cloretos, índice cloretos/lactose, proteína e número de células somáticas, enquanto os teores lácteos de lactose diminuíram abruptamente. Entre o 3º e o 45º dia do período seco foram obtidos os seguintes valores para as características físico-químicas e celulares da secreção láctea de vacas sadias: pH entre 7,08 e 7,34; Eletrocondutividade entre 7,50 e 8,35 mS/cm; Cloretos entre 242,20 e 287,66 mg/dl; Lactose entre 1,20 e 2,45 g/dl; Índice Cloretos/Lactose entre 12,99 e 26,40; Gordura entre $2,27 \pm 7,97$ g/dl; Proteína entre 6,00 e 9,47 g/dl; Sólidos Totais entre 10,73 e 16,35 g/dl; Número de Células Somáticas entre 1.930.450 e 6.486.900 células/ml. A partir do 5º dia do período seco nenhuma das amostras apresentou reações negativas ao CMT e entre o 7º e o 45º dia todas as amostras apresentavam reações do CMT classificadas como duas ou três cruces. A avaliação da influência da ocorrência de mamite durante o processo de secagem nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea demonstrou ser ela parcial e restrita a alguns momentos do período seco, sendo que as diferenças entre os valores obtidos no grupo de mamas com mamite e no grupo com mamas sadias eram de pequena magnitude, impedindo o diagnóstico baseado na avaliação dos resultados obtidos nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea. Entre a última ordenha antes do seu início e o 45º dia do período seco não houve diferenças estatísticas entre as frequências de isolamentos bacterianos, enquanto o percentual de mamas com isolamento bacteriano no retorno da lactação foi menor do que o encontrado durante o processo de secagem da glândula mamária.

Palavras-chaves: Leite. Período Seco. Características físico-químicas. Células somáticas. Bovino. Raça Holandesa.

ABSTRACT

BIRGEL, D. B. The involution of the mammary gland in Holstein cows: clinical evaluation of the udder and physicochemical, cellular and microbiological characteristics of the lacteal secretion in the dry period. [Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça Holandesa: avaliação física da involução da mama e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o período seco]. 2006. 191 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006

In order to evaluate the involution of the mammary gland of Holstein cows, we examined 44 udders at the end of lactation, during the dry period (last milking, and days 1, 3, 5, 7, 10, 15, 30 and 45 of the dry period), as well as the return to lactation. The mammary glands were thoroughly examined by inspection and palpation before the collection of samples. The lacteal secretion was also inspected. After discarding the first jets of the lacteal secretion, the samples for the microbiological analysis were aseptically collected, followed by the samples for the evaluation of the physicochemical and cellular characteristics - pH, electrical conductivity, chlorides, lactose, fat, protein, total solids, chloride/lactose ratio, California Mastitis Test (CMT) and somatic cell count. The involution process was accompanied by alterations in the consistency of the udder. On the return to lactation, the frequency of udders that were classified as Type III (firm) was higher than that observed before the beginning and on the 45th day of the dry period. The involution process also favored the recovery of the teats, but it did not have any effect over severe prolapses of the teat orifices, leading us to the conclusion that severe prolapses are irreversible, even after long periods without milking. On the initial phase of the dry period, the sudden retention of milk caused a distension, of the udder and of the teats, that gradually decreased along the first week. After the 10th day of the dry period, there was an increase in the number of udders and teats that were no longer distended, indicating that the involution process had ended. Along the process of involution of the mammary gland, we observed that the milk was replaced by a white or cream colored secretion; from the 7th day, a viscous and yellowish secretion was also observed; at the end of the process, on the 45th day, we observed that 40.9% of the udders were producing a pre-colostrum secretion that looked like honey or whey. During the dry period, after the 3rd day of the cessation of lactation, the cows had alterations consistent with those observed in mastitis during lactation or milk retentions. There was a sudden increase

in pH, in electrical conductivity, in chlorides, in the chloride/lactose ratio, in protein and in the somatic cell count, as well as a sudden decrease in the lactose content. We observed the following values for the physicochemical and cellular characteristics of the lacteal secretion of healthy cows between the 3rd and the 45th day of the dry period: pH - between 7.08 and 7.34; Electrical Conductivity - between 7.50 and 8.35 mS/cm; Chloride - between 242.20 and 287.66 mg/dl; Lactose - between 1.20 and 2.45 g/dl; Chloride/Lactose Ratio - between 12.99 and 26.40; Fat - between 2.27 and 7.97 g/dl; Protein - between 6.00 and 9.47 g/dl; Total Solids - between 10.73 and 16.35 g/dl; Somatic Cell Count - between 1,930,450 and 6,486,900 cells/ml. From the 5th day of the dry period, none of the samples had negative reactions to the CMT; and between the 7th and the 45th day, all samples had a distinct positive or a strong positive reaction to the CMT. The influence of mastitis during the involution of the udder over the physicochemical and cellular characteristics of the lacteal secretion was partial and restricted to certain moments of the dry period. The differences between the values of these characteristics in udders with or without mastitis, was very small, so these analyses can not be used to diagnose mastitis. There was no statistical difference between the frequency of bacteria isolated from the last milking and from the 45th day of the dry period. The percentage of bacteria isolated from the udders was lower on the return to lactation than during the involution of the mammary gland.

Key-words: Milk, Dry Period, Physicochemical characteristics, Somatic Cells, Bovine, Holstein breed.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	18
1.1	OBJETIVOS	21
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE FÊMEAS BOVINAS	22
2.2	PERÍODO SECO	23
2.2.1	Métodos de Secagem:	24
2.2.2	Duração do Período Seco	25
2.2.3	Fisiologia da Glândula Mamária no Período Seco	27
2.2.3.1	Fase de Involução Ativa	27
2.2.3.2	Fase de Involução Constante	31
2.2.3.3	Fase de Lactogênese e Colostrogênese	32
2.2.4	Características Físico-químicas da Secreção Láctea durante o Período Seco	33
2.2.5	Características Celulares da Secreção Láctea durante o Período Seco	38
2.2.6	Infecções Intramamárias durante o Período Seco	42
2.2.6.1	Microorganismos Presentes na Glândula Mamária durante o Período Seco	45
2.2.6.2	Antibioticoterapia no Momento de Interrupção da Lactação	48
2.2.6.3	Outras Formas de Controlar Infecções no Período Seco	51
3	MATERIAL E MÉTODOS	55
3.1	CONSIDERAÇÕES GERAIS	55
3.2	MANEJO PARA A INTERRUPÇÃO DA ORDENHA	56
3.3	GRUPOS EXPERIMENTAIS	56
3.4	EXAME CLÍNICO DAS MAMAS	59
3.4.1	Exame Clínico da Glândula Mamária na Fase Final da Lactação, no 45º dia do Período Seco e no Retorno da Lactação	59
3.4.2	Exame Clínico da Glândula Mamária durante a Evolução do Processo de Secagem	61

3.5.	COLHEITA DAS AMOSTRAS DE LEITE.....	63
3.5.1	Colheita das Amostras de Leite antes da Secagem.....	63
3.5.2	Colheita das Amostras de Secreção Láctea durante o Processo de Secagem	64
3.6	DETERMINAÇÕES REALIZADAS NAS AMOSTRAS DE LEITE E NA SECREÇÃO MAMÁRIA DO PERÍODO SECO	65
3.6.1	Determinação da Concentração Hidrogeniônica – pH	65
3.6.2	Determinação dos Valores de Eletrocondutividade	65
3.6.3	Determinação dos Teores de Cloretos.....	66
3.6.4	Determinação dos Teores de Lactose, Gordura, Proteínas e Sólidos Totais	66
3.6.5	Determinação do Índice Cloretos/lactose.....	67
3.6.6	Prova de Schalm e Noorlander – California Mastitis Test (CMT)	67
3.6.7	Contagem Eletrônica do Número de Células Somáticas.....	68
3.7	EXAME MICROBIOLÓGICO	69
3.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	71
4	RESULTADOS.....	73
4.1	AVALIAÇÃO DO EXAME CLÍNICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, NA FASE FINAL DA LACTAÇÃO, NO 45 ° DIA DO PERÍODO SECO E NO RETORNO DA LACTAÇÃO.....	73
4.2	AVALIAÇÃO DO EXAME CLÍNICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, DURANTE A EVOLUÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM DA MAMA.....	84
4.3	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO.....	105
4.4	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO DE SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA, DURANTE O PROCESSO DE SECAGEM, NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA,	

	CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO.....	125
4.5	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DO EXAME MICROBIOLÓGICO DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, NA FASE FINAL DA LACTAÇÃO, DURANTE A EVOLUÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA E NO RETORNO DA LACTAÇÃO.....	147
5	DISCUSSÃO	152
5.1	AVALIAÇÃO DO EXAME FÍSICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA DURANTE O PROCESSO DE SECAGEM.....	154
5.1.1	Avaliação do Exame Físico da Glândula Mamária na Fase Final da Lactação, no 45 ° Dia do Período Seco e no Retorno da Lactação	155
5.1.2	Avaliação do Exame Clínico da Glândula Mamária de Bovinos da Raça Holandesa, Criados no Estado de São Paulo, durante a Evolução do Processo de Secagem da Mama	157
5.2	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO.....	163
5.3	AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO DE SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA, DURANTE O PROCESSO DE SECAGEM, NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO.....	170
5.4	AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DO EXAME MICROBIOLÓGICO DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO DURANTE A EVOLUÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA	173
6	CONCLUSÕES	176
	REFERÊNCIAS.....	179

1 INTRODUÇÃO

Nos bovinos de leite, mantidos em produção, mesmo aqueles com alta produção leiteira, existe a necessidade da glândula mamária ser submetida a um período de descanso entre duas lactações, pois sem este período, há uma sensível redução da produção na lactação seguinte (FOLEY et al., 1972; OLIVER; SORDILLO, 1988; SCHMIDT et al., 1988; SMITH et al., 1985). Neste período, que se convencionou chamar de período seco, a ordenha é suspensa durante algumas semanas antes do parto, sendo que a interrupção da ordenha, ou a secagem da vaca, pode ser feita de dois diferentes modos: abrupto ou intermitente. A não retirada do leite produzido pela glândula mamária desencadeia o processo fisiológico de sua involução, com drástica redução da produção de leite e sua reabsorção evidenciada por alterações nas características físico-químicas e celulares da secreção (SMITH; TODHUNTER, 1982).

As modificações fisiológicas desencadeadas com a interrupção da ordenha apresentam diferentes características na dependência do período de secagem. Assim sendo, com o objetivo de facilitar a compreensão das modificações fisiológicas no decorrer da secagem, Smith e Todhunter (1982), propuseram a divisão do período seco em três fases, sendo elas: a fase de involução ativa da glândula, a fase de involução constante e a lactogênese ou colostrogênese.

Nas referidas três fases do período seco observam-se diferenças tanto na função glandular, como na atividade das células secretoras da glândula mamária e, em decorrência disto, existem diferenças na composição química e celular da secreção glandular nos três momentos da secagem.

As mudanças na função mamária e na composição de sua secreção, durante o período seco, seriam responsáveis por interferirem de maneira positiva ou negativa na ocorrência de novas infecções da glândula mamária (SMITH; TODHUNTER, 1982), pois como existem alterações na composição da secreção durante as três fases da secagem, há variação no grau de susceptibilidade do parênquima mamário às infecções. A susceptibilidade da glândula durante o período seco foi alvo de estudo de inúmeros pesquisadores podendo citar: COSTA et al., 1994; DODD et al., 1969; DUTT et al., 1986; EBERHART, 1986; MCDONALD; ANDERSON, 1981; NATZKE et al., 1975; NEAVE et al., 1950; NICKERSON, 1989; OLIVER; SORDILLO, 1988; PRIETO, 1993; SMITH; TODHUNTER, 1982.

Entre as pesquisas que se propuseram determinar, especificamente, a porcentagem de novas infecções no período seco, encontram-se resultados discrepantes, variando entre 6% a 45,7%. A termo infecção, encontrado nos trabalhos consultados, diz respeito à presença de microorganismos ou patógenos na glândula mamária, não tendo sido o enfoque destas pesquisas

avaliar a manifestação de uma possível doença (mamite ou mastite) provocada pela presença de agentes patogênicos.

A preocupação com novas infecções no período seco está relacionada com o impacto da persistência do agente infeccioso no interior da glândula mamária. O que, segundo Natzke et al. (1975), pode levar a uma diminuição da produção leiteira na próxima lactação e piora na qualidade do leite, com aumento do número de células somáticas. Além disto, Eberhart (1986) acrescentou que o aumento da ocorrência de quartos infectados poderia resultar no aparecimento de quadros de mamites no início da nova lactação, na dependência da patogenicidade do agente etiológico, da integridade dos mecanismos de defesa da glândula, bem como das normas de manejo.

Para diminuir o número de novas infecções no período seco e eliminar os patógenos presentes no quarto mamário no processo de secagem, foi instituída a terapia da glândula mamária das vacas secas, consistindo na aplicação intramamária, em um único momento, de antimicrobianos formulados em veículos de eliminação e absorção lenta (COSTA, 1999). O procedimento recomendado seria o de aplicar, por via intramamária, o antibiótico nos quartos do úbere das vacas, no momento da interrupção da ordenha.

Apesar dessa norma de manejo ter sido amplamente adotada por diversos veterinários e criadores brasileiros, sendo, por muitos, considerada como indispensável, a terapia da vaca seca não apresenta total eficiência, tanto no que diz respeito à eliminação dos patógenos presentes antes da secagem, como também na prevenção de novas infecções no período seco. Cummins e McCaskey (1987) apontaram taxas de cura com antibioticoterapia, no momento da secagem, de 70%, valor que pode ser considerado menor do que o esperado, pois esses mesmos autores determinaram que a taxa de cura espontânea, durante o período seco era de 50%. Rindsig et al. (1978) já haviam ressaltado, anteriormente, taxas de cura espontânea maiores, chegando a 81,8%.

Em trabalho de revisão relativa a infecções da glândula mamária durante o período seco, Eberhart (1982) afirmou que o tratamento com antibióticos durante o processo de secagem não era capaz de prevenir todas as infecções durante o período, mas as menores taxas de infecção obtidas na volta à lactação inibiram a possibilidade da realização de outras pesquisas com o intuito de buscar novas formas de prevenção de mamites em vacas leiteiras.

Além da importante consideração sobre o custo/benefício relacionado à terapia indiscriminada no momento da secagem, percebe-se uma crescente preocupação com o uso intensivo de antibióticos em animais produtores de alimentos. Fagundes (2003) e Raia Júnior (2006), em suas dissertações de mestrado, detectaram a presença de resíduos de antibióticos,

utilizados no momento da interrupção da ordenha, no leite de animais que foram submetidos a um período seco de sessenta dias. O risco da presença de resíduos de antimicrobianos em alimentos está relacionado, segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO), numa possível seleção de cepas de microorganismos resistentes à antibioticoterapia, tornando-se um problema de grande importância em ambientes hospitalares e no tratamento de humanos imunossuprimidos. Segundo Costa (1999), os resíduos de penicilina (β -lactâmicos), presentes no leite, podem desencadear choque anafilático em pessoas sensíveis, além de causar prejuízo econômico, interferindo na produção de laticínios.

A recomendação do uso de terapia de vacas secas em rebanhos leiteiros do Brasil deve ser cuidadosamente analisada, por ser diferente a situação da pecuária de leite brasileira da norte-americana ou européia. A pequena produtividade da maioria dos rebanhos leiteiros nacionais e o exíguo preço por litro de leite, pago ao produtor, geram a busca constante de alternativas para aumentar a produção, mas com diminuições dos custos. A antibioticoterapia no momento da interrupção da ordenha envolve custos que podem variar de R\$20,00 a R\$100,00 por animal, na dependência do antimicrobiano escolhido. Custos que, segundo os resultados de experimentos nacionais, como o de Costa et al. (1994) e Prieto (1993), podem não ser compensadores, visto que, apesar da antibioticoterapia diminuir o número de quartos infectados durante a secagem, na volta à lactação a prevalência de patógenos nas glândulas mamárias foi igual nas tratadas e não tratadas.

Ao consultar a literatura brasileira, verificou-se que poucos trabalhos dedicaram-se ao estudo do processo de secagem da glândula mamária (COSTA et al., 1994; FAGUNDES, 2003; FARIA, 1995; PASCHOAL; ZANETTI, 2004; PASCHOAL et al., 2005; PRIETO, 1993; RAIA JÚNIOR, 2006; THIERS et al., 2000), sendo que os objetivos dessas pesquisas foram avaliar os efeitos do uso de antibióticos no tratamento e prevenção das infecções bacterianas (COSTA et al., 1994; FARIA, 1995; PRIETO, 1993), avaliar a presença de resíduos de antibióticos no leite (FAGUNDES, 2003; RAIA JÚNIOR, 2006); avaliar os efeitos de dietas ricas em selênio, vitamina A e vitamina E na resposta imune da mama e/ou na prevenção de novas infecções (PASCHOAL; ZANETTI, 2004; PASCHOAL et al., 2005) ou, ainda, avaliar o número de células somáticas no início e no final do processo de secagem da glândula mamária (THIERS et al., 2000). Apesar deste pequeno número de estudos, a terapia da vaca seca, utilizado de rotina em outros países, também, foi classificada como essencial no Brasil, sem uma adequada avaliação de suas reais necessidades, bem como de seus reais benefícios.

O perfeito conhecimento das modificações que ocorrem na glândula mamária durante a secagem e a determinação de características físico-químicas e celulares da secreção da glândula

durante o período é necessário e fundamental para que o diagnóstico precoce das doenças que acometem a mama dos bovinos seja realizado com precisão. Somente a partir da determinação dessas características poder-se-ia estabelecer a ocorrência de inflamações de origem infecciosa e avaliar criticamente a real necessidade da recomendação da antibioticoterapia de largo espectro e de longa duração por via intramamária, tanto para a cura como para a prevenção das mamites na lactação subsequente.

1.1 OBJETIVOS

A presente pesquisa teve a finalidade de estudar o processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, avaliando, conforme o delineamento experimental proposto, os seguintes aspectos:

- ✓ avaliação física da involução da glândula mamária por meio da palpação e da inspeção das mamas e dos tetos, bem como do exame da secreção láctea, durante o processo de secagem;
- ✓ avaliação das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante a evolução do processo, sendo os seguintes parâmetros determinados: valores do pH, eletrocondutividade, teores de cloretos, lactose, gordura, proteína, cálculo do índice cloretos/ lactose, número de células somáticas, reações ao California Mastitis Test – CMT e exame bacteriológico;
- ✓ avaliação da influência da mamite assim como dos distúrbios de secreção nas características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante a evolução do período seco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ANATOMIA DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE FÊMEAS BOVINAS

As glândulas mamárias são consideradas, anatomicamente, glândulas sudoríparas modificadas, especializadas para a produção de leite e os animais que a possuem são classificados zologicamente como mamíferos alimentando com leite a sua prole, sendo este alimento nutricionalmente completo para o período inicial da vida. Cada uma das quatro glândulas mamárias do úbere das vacas é composta por um sistema de ductos que conectam os alvéolos do parênquima glandular, envolvidos por tecido conjuntivo e gordura, sendo sustentado por uma cápsula fibroelástica. A proporção entre parênquima secretor e tecido conjuntivo é controlada por mecanismos hormonais. Durante a lactação, o tecido glandular da mama aumentam de volume e no término da lactação (no período seco), o tecido secretor regride, passando o tecido conjuntivo a constituir a maior proporção da glândula (FRANDSON et al., 2005).

Conforme Cecilia¹(1956 apud BIRGEL, 2004, p. 359), o úbere da vaca consiste de quatro glândulas mamárias independentes morfológica e funcionalmente, localizadas na região inguinal. Assim, todo o leite ordenhado de um quarto mamário é produzido pelo tecido glandular daquele quarto. A vascularização, o suprimento nervoso e a drenagem linfática, porém, são comuns a ambos os quartos de determinada metade, direita ou esquerda, do úbere (FRANDSON et al., 2005).

Em cada glândula, ou quarto, o leite é sintetizado continuamente pelas células glandulares, as quais são constituintes básicos dos alvéolos, que unitariamente apresenta todas as estruturas necessárias para a síntese e o escoamento de leite para um sistema de ductos que convergem, formando ductos mais calibrosos, terminando em reservatório denominado cisterna da glândula – *Sinus galactóforo* e, associado a ela, encontra-se a cisterna do teto – *sinus papillaris*. Segundo Birgel (2004), a cisterna da glândula pode conter entre 100 a 400ml de leite, na dependência da produção láctea da vaca, ao passo que a cisterna do teto tem capacidade para 30 a 40 ml de leite (figura 1).

O leite produzido pela glândula mamária e armazenado nas cisternas da glândula e do teto, bem como nos ductos galactóforos, passa, no momento da ordenha, pelo conduto do orifício

¹ CECILIA, C.A. Enciclopédia de la Leche. Madrid: Ed. Espasa-Calpes, 1956

do teto – *Ductus papillaris*, constituído por um conjunto de fibras musculares circulares, cuja contração determina a oclusão do *ductus papillaris*, formando um verdadeiro esfíncter (BIRGEL, 2004).

Fonte: Frandson et al., 2005

Figura 1 - Estruturas anatômicas internas da glândula mamária da vaca

2.2 PERÍODO SECO

Bovinos leiteiros, após um determinado período em lactação, entram em uma fase em que há um contínuo decréscimo na produção leiteira, finalizando sua produção por volta de 10 a 12 meses de lactação, mas esta média pode apresentar variações de 6 a 18 meses (FOLEY et al., 1972).

Wheelock et al. (1967) afirmaram que muitas vacas leiteiras seriam capazes de produzir

continuamente leite sem necessidade de descanso entre lactações, mas com isso, alertaram, os mencionados pesquisadores que haveria significativa diminuição da produção leiteira após cada parto.

Tal afirmação já fora aventada por outros especialistas (ANDERSON; MACLEOD, 1949; BRATLIE, 1954; CARROL, 1961; WHEELLOCK et al., 1965) de modo que se convencionou, na criação de bovinos leiteiros, permitir um período de descanso entre duas lactações, o denominado período seco, no qual se suspenderiam às ordenhas algumas semanas antes do parto, ou, de acordo com o decréscimo da produção leiteira da vaca. Este procedimento promoveria a involução da glândula mamária, com drástica redução da produção de leite e alterações nas características físico-químicas e celulares da secreção (HURLEY, 1989; NICKERSON, 1989; SCHALM et al., 1971; SMITH et al., 1967; ZIV; GORDIN, 1973).

2.2.1 Métodos de Secagem

A interrupção do processo de ordenha pode ser feita baseada em duas formas, tradicionalmente, utilizadas: interrupção abrupta da ordenha e interrupção intermitente da ordenha.

A interrupção abrupta da ordenha, em determinado dia, calculado de acordo com a data provável do próximo parto ou pela grande diminuição da produção láctea, decide-se interromper a ordenha, não voltando a realiza-la.

A interrupção intermitente da ordenha apresenta algumas variações na forma de sua aplicação, mas, basicamente, refere-se a vacas, que no procedimento de secagem serão submetidas a uma ordenha diária, realizadas em dias alternados durante duas a uma semana antes da supressão definitiva da ordenha, não sendo a seguir o animal ordenhado (DINGWELL et al., 2003).

Foley et al. (1972) recomendaram que no período de duas a uma semana antes da interrupção da ordenha sejam feitas modificações na dieta das vacas leiteiras, com o objetivo de reduzir a produção durante os procedimentos de secagem. Fonseca e Santos (2000) confirmaram esta preocupação, principalmente, em animais com produção maior do que 15 litros de leite por dia, recomendando não fornecer concentrado sete a dez dias antes da secagem, constando a alimentação apenas de volumoso (pasto de boa qualidade, feno ou silagem).

As modificações na dieta antes da secagem foram consideradas extremamente válidas,

pois interferem na eficiência imunológica da glândula mamária (BUSHE; OLIVER, 1987). Baseados em tais conceitos, Bushe e Oliver (1987) conduziram um experimento com vacas que produziam, no final da lactação cerca de 13 litros de leite por dia. Os animais foram divididos em três grupos, sendo um deles submetido à abrupta interrupção da lactação, o segundo submetido à interrupção intermitente da lactação e o terceiro grupo foi também submetido à ordenha intermitente, mas com alteração na alimentação, oferecendo apenas feno na última semana de lactação. Vacas pertencentes ao segundo grupo produziram 23% menos leite durante a última semana de lactação do que as vacas submetidas à interrupção abrupta. No entanto, a produção leiteira do terceiro grupo decresceu 69,2% (de 12,8 l passou a 4,0 l) e as amostras de leite apresentava maior número de células somáticas e das concentrações lácteas de lactoferrina, IgG e albumina. Os resultados que esses pesquisadores obtiveram, demonstraram que a abrupta alteração na dieta durante o final da lactação alterava significativamente a síntese e a secreção do leite, aumentando a proteção da glândula no início do período seco.

Alguns pesquisadores estudaram a influência da forma de interrupção da ordenha na incidência de novas infecções no período de secagem das vacas leiteiras, mas este assunto será avaliado e descrito no tópico específico de infecções no período seco.

2.2.2 Duração do Período Seco

A decisão do momento certo para a interrupção do processo de ordenha, ocasionando a involução mamária, há muitos anos é um tópico de interesse dos pesquisadores dedicados ao estudo da lactação e da produção leiteira, pois na bibliografia consultada há relatos que em 1805 já havia a preocupação para esclarecer este assunto (GRUMMER; RASTANI, 2004).

A literatura das décadas de setenta, oitenta e noventa do século passado demonstrou uma certa padronização no estabelecimento da duração do período seco, entre 45 e 60 dias, ou seja, recomendava-se que a ordenha fosse interrompida de 45 a 60 dias antes do parto. Períodos menores que 45 dias causariam a menor produção leiteira, na lactação seguinte (DIAS; ALLAIRE, 1982; ENEVOLDSEN; SORENSEN, 1992; FOLEY et al., 1972; HURLEY, 1989; OLIVER; SORDILLO, 1988; SCHMIDT et al., 1988; SMITH; TODHUNTER, 1982).

A magnitude do decréscimo da produção leiteira, após um pequeno período seco, segundo Dias e Allaire (1982), foi diferente para vacas jovens e para vacas velhas (a partir da quarta lactação), permitindo que esses autores concluíssem que animais com até quatro lactações

(considerados jovens) apresentavam maior decréscimo da produção leiteira, em consequência à menor duração do período seco. Oliver e Sordillo (1988) afirmaram que, independentemente da idade dos animais, após um período seco menor do que 45 dias ocorria um decréscimo de 33,0 % na produção leiteira em relação à produção da lactação anterior.

Wheelock, Smith e Dodd (1967) observaram que em quartos mamários que foram submetidos a uma interrupção de duas semanas na ordenha apresentavam uma produção de 20 a 40% maior do que a dos quartos, nos quais não houve supressão da ordenha, ou seja, nos que se emendaram as lactações e concluíram que a omissão do intervalo de repouso da glândula mamária, entre uma lactação e outra, determina uma menor produção na lactação subsequente. Fowler et al. (1991) discordaram desses resultados, ao afirmarem, em experimento com cabras leiteiras, no qual a total supressão do período seco não provocou decréscimo na produção leiteira da lactação seguinte.

A partir de 2000 observou-se um número crescente de pesquisas estrangeiras que avaliaram a duração ideal do período seco e a real possibilidade da exclusão desta fase de involução e repouso da glândula mamária (GULAY et al., 2003; ANNEN et al., 2004; KUHN et al., 2006), pois atualmente, as vacas leiteiras dos rebanhos dos Estados Unidos da América produzem, no pico da produção, médias de 45 a 50 litros de leite por dia, enquanto há de 30 anos atrás as vacas produziam, em média, entre 18 a 30 litros por dia, sendo que este o aumento da produção leiteira e a evidente evolução genética dos animais poderia ter ocasionado uma menor necessidade de um período de repouso da glândula mamária entre lactações.

Gulay et al. (2003) não encontraram evidências que um período seco de 30 dias provocasse redução na produção de leite da lactação seguinte, não observando, também, influência negativa no escore de condição corporal, após o parto. Em contrapartida, períodos secos maiores do que setenta dias, segundo Bachman e Schairer (2003), interferiram de modo negativo na produção leiteira, observando progressiva diminuição da produção com o prolongamento do período seco.

Assumindo outro enfoque para a duração do período de involução mamária, Grummer e Rastani (2004), pesquisaram a relação do período seco com a qualidade da produção do colostro, afirmando que a ausência do período resultaria na elaboração de um colostro sem a desejada qualidade protetora face à deficiente concentração de imunoglobulina. No entanto, um período seco de 28 dias, segundo estes pesquisadores, seria suficiente para a produção de colostro de qualidade, com teores de imunoglobulinas iguais ao colostro produzido após um período seco de 56 dias.

A seguir, em experimento realizado em 3.543 rebanhos de 42 Estados dos Estados

Unidos da América, Kuhn et al. (2006) constataram que a concentração máxima de gordura e proteína no leite era obtida em vacas com intervalos de 61 a 65 dias de período seco. Além do mais concluíram que períodos secos, menores do que 30 dias determinavam diminuição da quantidade e da qualidade do leite produzido na lactação seguinte e que períodos secos maiores do que 60 dias acarretavam em perda de produtividade, porém as perdas eram de menor proporção do que as observadas quando o período seco era mais curto.

Os diferentes resultados obtidos, atualmente, nas pesquisas dificultam a recomendação para que seja adotado um menor intervalo de repouso entre uma lactação e outra. Todavia pesquisas com modernos delineamentos experimentais deveriam ser feitas com o objetivo de determinar a duração ideal do período seco, levando-se em conta a saúde da vaca e sua produção no decorrer da vida produtiva (KUHN et al., 2006).

Na busca de maximização do período de lactação, recomenda-se, atualmente, a administração do r-BST (somatotropina bovina) em vacas leiteiras, que além de aumentar a produção entre 10 e 15 %, incrementa a persistência da lactação, agindo diretamente nas células epiteliais secretoras da glândula mamária (ANNEN et al., 2004).

2.2.3 Fisiologia da Glândula Mamária no Período Seco

Uma seqüência de modificações fisiológicas ocorre desde a interrupção da lactação até a completa involução glandular e, deste momento, até a retomada da função de produzir leite após o parto. Com o objetivo de facilitar a compreensão destas modificações durante o período seco, autores como Smith e Todhunter (1982) propuseram a divisão do período em três fases, de involução ativa, de involução constante e de colostrogênese, descritas detalhadamente a seguir:

2.2.3.1 Fase de Involução Ativa

Esta fase inicia-se após a interrupção da ordenha e tem duração aproximada de 30 dias (SMITH; TODHUNTER, 1982). Após a última ordenha, a mama continua secretando leite, que se acumula no interior da glândula, calculando-se que nos primeiros dois a três dias, o animal possa acumular de 75 a 80% de sua produção média diária, provocando um aumento da pressão

no interior dos alvéolos. O acúmulo de leite, por um período superior a 60 horas, resulta na inibição da produção láctea pelas células alveolares, induzindo à involução da mama (AKERS et al., 1990; FOLEY et al., 1972; WHEELLOCK et al., 1966).

Com o desencadeamento do processo de involução do tecido glandular, os lisossomos, no interior das células alveolares, iniciam uma autofagocitose dos constituintes celulares e durante o desenvolvimento do processo de degradação celular ocorre uma perda de contato entre as células secretoras degradadas. Neste momento há a migração de macrófagos para o tecido glandular, fagocitando as células alveolares degradadas, como também a gordura e a caseína presente na secreção láctea (SMITH; TODHUNTER, 1982). Além dos macrófagos, presentes nesta fase, observa-se também, significativo aumento do número de polimorfonucleares e linfócitos, na secreção retida na glândula mamária (MCDONALD; ANDERSON, 1981).

Dois a três dias após a interrupção da ordenha, ocorre uma gradativa diminuição do volume da secreção produzida (HURLEY, 1989), sendo que no decorrer dos primeiros dez dias do período seco há uma redução de 85% do volume da secreção da glândula mamária (ANDERSON; MACLEOD, 1949; SMITH et al., 1967).

O declínio da atividade glandular acarreta alteração da composição da secreção mamária, devido à diminuição da síntese de gordura, lactose, citrato, caseína, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina. Porém, mesmo com a diminuição da concentração de proteínas específicas do leite observa-se aumento do valor de proteína total da secreção da glândula, devido ao aumento na concentração de imunoglobulina, albumina sérica e lactoferrina. O aumento na concentração de proteínas de origem sanguínea, na secreção retida na mama, e também, dos teores de sódio e cloro da secreção foram considerados como decorrentes do relaxamento dos complexos juncionais entre as células epiteliais (HURLEY, 1989). Após trinta dias de involução da glândula mamária ocorre o restabelecimento da integridade dos complexos juncionais, reaproximando as células alveolares (OLIVER; SORDILLO, 1989).

No processo de secagem a atividade secretória das células alveolares apresenta intensa redução, mas não há bloqueio (HURLEY, 1989) e, esta característica diferencia a fisiologia da glândula mamária dos ruminantes de outros animais, como o rato e o cão, nos quais, durante a involução mamária, observa-se completa inatividade celular (OLIVER; SORDILLO, 1989).

Uma proteína sérica característica do período de involução mamária, segundo Schanbacher e Smith (1975), é a lactoferrina. Esta proteína não é específica da glândula mamária, sendo encontrada em inúmeras secreções orgânicas e nos grânulos dos polimorfonucleares neutrófilos, caracterizando-se por apresentar grande afinidade pelo ferro, elemento necessário para o crescimento normal da maioria dos patógenos, portanto, instala-se

uma satisfatória competição entre a lactoferrina e as bactérias, por este elemento químico, conferindo à referida proteína, uma importante atividade bacteriostática (SMITH; SCHANBACHER, 1977).

Welty et al. (1975) detectou na secreção da glândula mamária uma concentração de 2.000 mg/dl de lactoferrina, no período de três a quatro semanas após o início da involução da glândula mamária, aumento equivalente à magnitude de até 100 vezes maior do que a concentração de lactoferrina determinada em amostras de leite colhidas nos períodos de plena lactação. No entanto, os mesmos pesquisadores, afirmaram existir ampla variação individual na concentração láctea desta proteína, observando-se grande diminuição nos teores de lactoferrina láctea antes do parto e início de nova lactação e, por tal razão, concluíram que esta proteína teria significativa expressão, apenas durante o desenvolvimento do período de secagem.

Rainard (1986) e Naidu et al. (1991) avaliaram, “in vitro”, a ação antimicrobiana da lactoferrina concluindo ser capaz de inibir o crescimento da *Escherichia coli* e do *Staphylococcus aureus*, confirmando assim, a afirmação da lactoferrina ser uma proteína com importante função de defesa não específica da glândula mamária. Desta forma os citados pesquisadores confirmaram a sugestão apresentada por Smith e Todhunter (1982) que realçaram a participação da lactoferrina no controle da migração de macrófagos e linfócitos para o interior da mama, possuindo, então, importância tanto direta como indireta na defesa da glândula mamária.

Inúmeras pesquisas apontam o período de transição da lactação para a involução completa da mama como altamente susceptível a novas infecções (MCDONALD; ANDERSON, 1981; NATZKE, 1981; NEAVE et al., 1950; SMITH; TODHUNTER, 1982; TARGOWSKI, 1983). Baseado neste conceito, Targowski (1983) afirmou ser, o sistema imunológico da glândula mamária, um “paradoxo imunológico”, uma vez que a despeito de toda a sua complexidade, envolvendo altas concentrações de imunoglobulinas, vários fatores antibacterianos inespecíficos e o aumento do número de leucócitos são inúmeras vezes, incapazes de defender a glândula das infecções já estabelecidas. Ressalte-se que posteriormente outros pesquisadores apresentaram semelhantes afirmações (DUTT et al., 1986 NICKERSON, 1989 OLIVER; SORDILLO, 1988).

As modificações fisiológicas que ocorreriam na fase de involução ativa predisporia a mama à novas infecções. Eberhart (1982) demonstrou que na primeira semana da fase de involução ativa ocorreram 8,5% de novas infecções, na segunda semana a taxa foi de 3,3%, na terceira semana a taxa foi de 0,05% e na quarta semana não houve novas infecções no período. Deve-se ressaltar que o referido autor utilizou a denominação infecção quando ocorria o isolamento de cepas bacterianas no exame microbiológico da secreção láctea, evidenciando,

assim, a presença de microorganismos na glândula mamária.

A primeira proteção física contra a penetração de um agente microbiano no interior da cisterna do teto e da glândula é o canal do teto, *ductus papillaris* (EBERHART, 1982; NICKERSON, 1989; OLIVER; SORDILLO, 1988). A maior facilidade com que as bactérias penetram na cisterna da glândula, através do duto papilar, durante as primeiras semanas da involução do tecido mamário no processo de secagem, está associado ao aumento da susceptibilidade do tecido glandular neste período (EBERHART, 1982).

Nickerson (1989) explicou que a retenção do leite, durante os primeiros dias da fase de involução ativa, provoca um encurtamento e uma dilatação do canal do teto, facilitando a penetração bacteriana. A interrupção do processo de ordenha determina a permanência do leite no interior das cisternas e alvéolos da glândula mamária, condição que foi considerado um excelente meio para a instalação e crescimento bacteriano (SMITH; TODHUNTER, 1982), além do mais, segundo Rosenfeld (2005), a própria retenção láctea caracteriza um processo inflamatório incipiente, representando um fator etiológico predisponente à ocorrência de mamites.

A dilatação do canal do teto, *ductus papillaris*, foi confirmada por Eberhart (1986), realizando cortes histológicos do canal, destacando o lúmen dessa estrutura e demonstrando o significativo aumento do diâmetro deste conduto no sétimo dia após a interrupção da ordenha; para tanto comparou-se aos resultados obtidos no dia da interrupção da ordenha, no décimo sexto dia e no trigésimo dia após a interrupção da ordenha. Com a evolução do processo de secagem, há a formação de um tampão gorduroso ocluindo o orifício do teto, o que, segundo Dingwell et al. (2003), dificultaria a entrada de patógenos nas cisternas da mama.

No parênquima da glândula mamária foram descritas modificações relacionadas à sua proteção contra novas infecções, destacando-se: aumento da migração de macrófagos, de polimorfonucleares e de linfócitos, além do expressivo aumento da concentração de imunoglobulinas e da lactoferrina na secreção retida na glândula mamária (SMITH; TODHUNTER, 1982). Essas modificações, qualitativas e quantitativas da secreção, apresentam reduzida eficiência nas duas primeiras semanas do período seco, por que não atingiram concentração adequada e suficiente para plena atividade protetora, pois no início da secagem, as modificações são de instalação lenta, não protegendo efetivamente a glândula (SMITH; TODHUNTER, 1982). A migração de células fagocitárias (polimorfonucleares neutrófilos e macrófagos) tem como objetivo, além da proteção imunológica contra infecções, a fagocitose de células degeneradas, gordura e caseína (EBERHART, 1982; MCDONALD; ANDERSON, 1981; NEAVE et al., 1950; PAAPE et al., 2003; SMITH; TODHUNTER, 1982). Porém tanto a

gordura, como a caseína fagocitada modificam a morfologia dos fagócitos, diminuindo sua atividade frente aos patógenos (PAAPE et al., 2003).

Estudo pioneiro relacionado à dinâmica das infecções durante o período seco, apresentado por Neave et al. (1950), destacou que a fase de involução ativa pode ser considerada a fase mais susceptível à instalação de processos infecciosos na glândula mamária, comparado aos demais períodos de secagem, como também ao período de lactação. Informações como esta estimulou o desenvolvimento de uma série de pesquisas, destacadas na literatura estrangeira, principalmente inglesa e norte-americana, sobre a importância da presença de patógeno na glândula mamária durante o período da secagem e sua permanência no retorno da lactação.

Finalizando este tópico, considerou-se importante relatar a observação de Wheelock et al. (1967), afirmando que todas as modificações que ocorrem nesta fase de involução mamária independe da situação reprodutiva do animal, ou seja, estar gestante ou não.

2.2.3.2 Fase de Involução Constante

No final da fase de involução ativa, aproximadamente trinta dias após a interrupção da ordenha, inicia-se a fase de involução constante, que não apresenta limites de duração bem definidos, variando de acordo com a duração do período seco. Neste estágio a glândula apresenta-se completamente involuída, contendo volume mínimo de fluido, no qual os principais constituintes do leite apresentam concentrações muito reduzidas (MCDONALD; ANDERSON, 1981).

Em experimento, utilizando 10 vacas de corte, abatidas no 42º dia do período seco, Akers et al. (1990), verificaram haver significativa diminuição do peso da glândula mamária, redução de até 53% do peso, acompanhada de redução na quantidade de DNA das células do parênquima mamário em até 64%. A respeito das modificações encontradas, os mencionados pesquisadores afirmaram que a diminuição do peso da glândula mamária pode ser atribuída quase que exclusivamente à reabsorção da secreção láctea produzida. Mas em relação à perda de grande parte do material genético (DNA), das células secretoras, confirmaram a sugestão que seria necessário para a produção leiteira uma série de ativações celulares para a biossíntese do leite (WILDE; KNIGHT, 1989). A perda do material genético, no momento de conversão das células alveolares ativamente secretoras para células não secretoras, proporcionava um aspecto mais compacto para o alvéolo mamário (AKERS et al., 1990).

No final de 30 dias de involução da mama, a estrutura dos alvéolos continuam presentes, mesmo estando as células epiteliais, suas constituintes, sem desempenhar sua função de síntese láctea., sendo que a manutenção da estrutura alveolar proporciona à glândula mamária bovina a necessidade de um menor tempo para se preparar e voltar a secretar leite (HOLST et al., 1987).

No período de involução constante há o predomínio de linfócitos no interior da glândula, mas também, existe um grande número de macrófagos, com menor número de polimorfonucleares neutrófilos (SMITH; TODHUNTER, 1982). Neste período a incidência de novas infecções é pequena (MCDONALD; ANDERSON, 1981; SMITH; TODHUNTER, 1982), com tendência de cura espontânea (HURLEY, 1989). A menor incidência de infecções foi atribuída à maior concentrações de fatores antimicrobianos (células de defesa e lactoferrina) na secreção retida na glândula mamária e à menor probabilidade de penetração bacteriana através do orifício do teto, ocluído pela contração do esfíncter e obstruído pelo tampão muco-gorduroso depositado no orifício do teto (MCDONALD; ANDERSON, 1981).

2.2.3.3 Fase de Lactogênese e Colostrogênese

Esta fase inicia-se 15 a 20 dias antes do parto, sendo um período de regeneração e diferenciação das células epiteliais secretoras, processo fisiológico fundamental para instalação e manutenção da lactação sob controle hormonal. A principal função da glândula mamária neste período é produzir e armazenar o colostro. O volume de fluido na cisterna da glândula mamária aumenta lentamente, crescendo drasticamente 1 a 3 dias antes do parto (SMITH; TODHUNTER, 1982).

Com a retomada da atividade secretória pelas células alveolares há um gradual aumento na concentração de gordura, lactose, caseína, β -lactoglobulina, α -lactoalbumina e citrato, presentes na secreção mamária, atingindo concentrações máximas cinco dias antes do parto (OLIVER; SORDILLO, 1989; SMITH; TODHUNTER, 1982).

O acúmulo de colostro no interior da glândula mamária resulta, da mesma forma que foi descrito para a fase de involução ativa, no encurtamento e na dilatação do canal do teto, condição que também facilita a penetração por bactérias para o interior da glândula mamária. Na dilatação do conduto do teto ocorre o despreendimento do tampão presente no orifício do teto, expondo a glândula à invasão de microorganismos. Caso haja ocorrência de edema da glândula mamária, durante os preparativos para o parto, haveria uma repercussão direta no canal do teto,

contribuindo para uma menor eficiência na oclusão do duto papilar, como também do orifício do teto (NICKERSON, 1989). A maior facilidade para penetração das bactérias pelo canal do teto contribui para o estabelecimento de maior susceptibilidade da mama às infecções durante esse período; a essa situação associa-se a inibição da ação dos macrófagos e dos polimorfonucleares neutrófilos devido ao acúmulo de gordura na secreção láctea neste período (DUTT et al., 1986; NICKERSON, 1989; OLIVER; SORDILLO, 1988; PAAPE; WERGIN, 1977) e a uma sensível diminuição na concentração de lactoferrina láctea, juntamente com o aumento das concentrações de citrato (SCHANBACHER; SMITH, 1975). A lactoferrina, como afirmado anteriormente, participa do sistema de defesa da glândula mamária, enquanto o citrato é considerado um ótimo substrato para crescimento bacteriano (SMITH; TODHUNTER, 1982).

Eberhart (1982) salientou que ocorreriam 4,2% de novas infecções no período de colostrogênese, aumentando a prevalência de quartos infectados no rebanho, e, conseqüentemente acréscimo na incidência de mamites, nas primeiras semanas da lactação.

As imunoglobulinas lácteas atuam de forma eficiente, auxiliando a ação das células de defesa, como também atuam diretamente na função protetora da glândula mamária contra agentes patogênicos, causadores de mamite. Symons e Wright (1974) observaram que após seis horas da infusão de toxinas bacterianas na glândula mamária, houve o aumento da concentração de imunoglobulinas, atuando, inicialmente, a IgG1 e, mais lentamente, IgG2. Caffin e Poutrel (1988) notaram significativa correlação entre o aumento do número de células somáticas e o aumento da concentração de imunoglobulinas no leite de vacas em lactação plena, confirmando a integrada resposta contra um possível agente infeccioso. Porém essa correlação só foi observada por Sant'Ana (2004) em amostras de leite com mais de 1.500.000 células somáticas/ml.

2.2.4 Características Físico-químicas da Secreção Láctea durante o Período Seco

A literatura nacional apresenta uma série de pesquisas dedicadas a determinação de parâmetros físico-químicos do leite, entre essas características, se destacam as determinações de pH, eletrocondutividade, cloretos, lactose, proteína, gordura, sólidos totais, o índice cloreto/lactose e a celularidade do leite. Elas, adequadamente, determinadas oferecem informações adicionais sobre a saúde da glândula mamária, auxiliando, juntamente com o exame físico do úbere, o estabelecimento do diagnóstico precoce das mamites.

Pesquisadores como Amaral et al. (1988); Araujo, (1994), Benatti (2001), Birgel Junior (2006), Brito et al. (1997), Cimiano e Alvarez (1986), Costa et al. (1995), Cunha (1988), D'Angelino et al. (1988), Della Libera (1998), Estrella (2001), Ferreiro et al. (1980), Granzoti (1985), Marques (2003), Rosenfeld (2005), Sant'Anna (2004), Santos e Rodrigues (1983) e Vianni e Nader Filho (1990) se dedicaram ao estabelecimento de valores de referência dos parâmetros físico-químicos e celulares do leite de bovinos de diversas raças leiteiras criadas no Brasil. Os seguintes valores foram obtidos: pH – entre 6,5 e 6,8; eletrocondutividade – entre 4,4 e 5,9 mS/cm; teores de cloreto – entre 90 mg/dl e 130 mg/dl; teores de lactose - entre 4,48 e 4,97 g/dl; índice cloreto/lactose - entre 1,81 e 2,91; teores de proteína – entre 2,80 e 3,80 g/dl; teores de gordura – entre 2,0 e 4,75 g/dl; teores de sólidos totais – entre 9,89 e 12,73 g/dl e número de células somáticas – entre 14.000 e 680.000 células/ ml.

Entretanto, inúmeros foram os fatores fisiológicos considerados capazes de influenciar a variabilidade dos resultados, sendo os seguintes considerados por Araujo (1994): número de lactações; tipo de ordenha; fase da ordenha e intervalo entre ordenhas, além da significativa influência da fase da lactação. No decorrer do processo de involução da glândula mamária (fase da involução ativa), uma série de modificações da constituição físico-química e celular ocorrem na secreção láctea. Devido a estes fatos, os parâmetros utilizados como métodos auxiliares de diagnóstico clínico da mamite ou mastite durante a lactação, devem ser considerados com muito cuidado na fase de secagem, pois as alterações fisiológicas detectadas nesta fase, inadvertidamente, poderia considerar a amostra do leite, como proveniente de uma glândula com mamite.

A literatura brasileira especializada na área de fisiologia e patologia da glândula mamária e da produção leiteira é escassa quando se relaciona ao período seco, tornando-se ainda menor quando o assunto é a determinação dos parâmetros físico-químicos e celulares da secreção láctea durante o período de secagem. Apesar de tudo, este quadro também não é diferente fora do Brasil, embora exista um grande número de pesquisas realizadas no hemisfério norte relacionadas ao período seco das vacas leiteiras, poucos foram os que estudaram as modificações físico-químicas e celulares da secreção láctea retida na glândula mamária neste período. Porém, entre os que se dedicaram a esta proposta, nenhum utilizou os parâmetros como método complementar de diagnóstico clínico das mamites no período de secagem. A importância de se conhecer detalhadamente as modificações na secreção da glândula mamária no período seco, está intimamente relacionada à necessidade do mais rápido reconhecimento de alterações que possam ocorrer na glândula mamária. O perfeito conhecimento dos mencionados fatos, estimulariam o desenvolvimento de alternativas para combater as infecções da mama e a forma de preveni-las.

Para a descrição, neste capítulo da dissertação, dos resultados de pesquisas que estudaram inúmeros aspectos físico-químicos e celulares da secreção láctea durante o processo de secagem, optou-se por destacar com maior detalhamento as características também estudadas nesta dissertação, evitando o prolongamento de tópicos que não tenham sido objetivo da presente pesquisa.

Durante o período de involução mamária, iniciado com a interrupção da ordenha, observa-se um importante processo de degradação do material genético e citoplasmático das células alveolares (AKERS et al., 1990) e, assim, mesmo mantendo a estrutura alveolar, a atividade básica de suas células constituintes estará muito reduzida no período de secagem (HURLEY, 1989). A menor atividade secretora reflete-se, diretamente, na pequena quantidade de secreção produzida. Smith et al. (1967) mensuraram a quantidade de secreção presente na glândula mamária de seis vacas holandesas, durante os vinte e oito primeiros dias do período seco. No momento da secagem foram ordenhados, aproximadamente, 997 ml de leite por quarto mamário, quantidade que diminuiu para 215 ml após sete dias da interrupção da ordenha, 83 ml após 14 dias da interrupção, passando para 78 ml aos 21 dias e 43 ml após 28 dias da interrupção da ordenha. Hurley (1989), completando estas mensurações, afirmou que aos trinta dias de involução mamária o volume da secreção atingia valores mínimos, ou seja, 36ml.

O acúmulo de leite no dia seguinte à última ordenha determinou a incontinência láctea ou saída espontânea de leite dos 24 tetos pertencentes as seis vacas do experimento de Wheelock et al. (1967), sendo que apenas dois animais mantiveram este comportamento até o oitavo dia do período seco.

A reduzida atividade das células alveolares, a reabsorção de constituintes lácteos e a reabsorção da água, representante de 80% da composição do leite, proporcionam importantes modificações na composição da secreção no período seco (SMITH; TODHUNTER, 1982).

O leite caracteriza-se por apresentar uma ligeira acidez natural, que seria decorrente da presença de grupos ácidos de proteínas, como a caseína e a albumina, citratos, fosfatos livres e dióxido de carbonos em fase líquida (SCHALM et al., 1971). Durante o desenvolvimento de processos inflamatórios dos tecidos mamários haveria alterações da permeabilidade capilar que determinariam o aumento da concentração de íons bicarbonato e, conseqüentemente, o aumento do pH do leite de glândulas com mamite, sendo o aumento do pH proporcional à severidade e intensidade das lesões (SCHALM et al., 1971).

O **pH** da secreção do período seco também aumenta, no decorrer do processo, assim Carrol (1961), ao avaliar os valores de pH na secreção láctea de três vacas no período de secagem observou que, no dia da secagem, o valor do pH era igual a 6,66; no 2º dia após o início

do processo de secagem igual a 6,64; no 4º dia igual a 6,65; no 7º dia igual a 6,84; no 11º dia igual a 6,96; no 15º dia igual a 7,26; e no 18º dia igual a 7,43.

Com o processo de degradação celular há o relaxamento dos complexos juncionais, entre as células alveolares, facilitando a entrada de sódio e cloro que, neste momento, apresentam concentrações, na glândula mamária, similares à sanguínea (HURLEY, 1989).

O gradual aumento dos teores de **cloretos**, na secreção da glândula mamária do período seco, foi mensurado por Carrol (1961), obtendo os seguintes valores: 150 mg/dl no dia da secagem; 160 mg/dl no 2º dia após a secagem; 190 mg/dl no 4º dia após a secagem; 250 mg/dl no 7º dia; 260 mg/dl no 11º dia; 330 mg/dl no 15º dia; e 390 mg/dl no 18º dia do período seco. Wheelock et al. (1967) também observaram o aumento dos teores de cloretos na secreção do período de involução, assim, no 1º dia da secagem, os teores de cloretos mensurados por estes autores variaram entre 100 e 150 mg/dl, passando para cerca de 200 a 300mg/dl no 8º dia do período seco, permanecendo neste patamar, mas sujeito a pequenas variações individuais, até o 16º dia do processo de secagem.

Os componentes lácteos, sintetizados pelas células alveolares, estão em menor concentração no período seco, devido a reduzida atividade celular (HURLEY, 1989). Dentre estes produtos cabe destacar a **lactose**, dissacarídeo, composto de glicose e galactose, que apresenta importante função, juntamente com o cloro, o sódio e o potássio, de controle osmótico do leite (SCHALM et al., 1971). Quartos mamários com mamite apresentam maiores concentrações de cloretos na secreção láctea, em decorrência disso, com a função de manter a pressão osmótica, ocorre a inibição da síntese de lactose pelas células alveolares (SCHALM et al., 1971). Com base nessa avaliação concluiu-se que o leite proveniente de uma glândula com mamite, apresenta maior concentração de cloretos e menor concentração de lactose.

A concentração de lactose na secreção da glândula mamária no período de secagem foi mensurada por Hurley (1989), variando de 4,5g/dl antes da secagem, para 3,83g/dl no 1º dia do processo de secagem, diminuindo gradativamente até o 30º dia do período seco, com valores de 2,16 g/dl no 3º dia; 0,68g/dl no 7º dia; 0,55g/dl no 11º dia; 0,60 g/dl no 18º dia; e 0,83g/dl no 30º dia. Anteriormente a Hurley (1989), Wheelock et al. (1967) haviam obtido resultados semelhantes, com valores de 4 g/dl, no 1º dia do processo de secagem, decrescendo para 1 g/dl no 8º dia, e mantendo concentrações ao redor deste valor até o 16º dia do processo de secagem.

A **gordura** láctea, sintetizada nas células alveolares da mama, é composta, quase em sua totalidade por triglicerídeos, sendo 50% destes triglicerídeos formados por ácidos graxos de cadeia curta, acetato e butirato, originários da fermentação de forragens e outros alimentos ricos em fibras. Os outros 50% dos triglicerídeos são sintetizados a partir de ácidos graxos de cadeia

longa provindos diretamente da dieta, sem sofrerem alterações no trato digestivo, ou mobilizados da gordura corporal (BRITO; DIAS, 1998).

Assim como a lactose, que diminui gradativamente durante a involução mamária esperava-se que a gordura, também sintetizada pelas células alveolares, sofresse diminuição no período seco. No entanto, Wheelock et al. (1967) afirmaram que a gordura não apresenta um modelo coerente de comportamento com evoluir do período seco, existindo intensa variabilidade individual em sua concentração.

Considerando os seis animais que pertenceram ao experimento de Smith et al. (1967), a concentração de gordura na secreção láctea no 1º dia seco foi de 4 g/dl, sendo que, a partir do 4º dia do processo de secagem, existiram diferenças nas concentrações de gordura entre os seis animais estudados. As concentrações de gordura no 4º dia do período seco foram, para duas vacas, 2 g/dl; para três vacas 4 g/dl; e para uma vaca 8g/dl. No 8º dia as concentrações continuaram variando de acordo com o animal, segundo Smith et al. (1967), com valores, para três vacas, de 2 g/dl; para uma vaca 4g/dl; e para duas vacas 8 g/dl. Com 16 dias do processo de secagem, dois animais apresentavam teores de gordura na secreção láctea de 1g/dl; outros dois, teores de 2 g/dl e, um animal, teores de 9 g/dl.

Na descrição anterior dos resultados do experimento de Smith et al. (1967), considerou-se importante ressaltar, o método de colheita das amostras, sendo assim, nos dias de colheita, procedia-se à retirada manual do leite, separando a secreção de acordo com o quarto mamário produtor, mas, no momento de processamento laboratorial, alíquotas de igual volume de cada quarto mamário do mesmo animal eram misturadas, totalizando uma única amostra proveniente dos quatro quartos mamários. Por tanto, as concentrações de gordura foram determinadas representando o animal e não a glândula mamária.

Hurley (1989) também comentou a importância da variação individual na concentração de gordura, apesar de não expressá-la em números. Em seu experimento, a concentração de gordura no dia anterior à interrupção da ordenha foi de 4,1g/dl, passando a 3,3g/dl, no 1º dia do processo de secagem; a 4,1g/dl no 3º dia; a 5,5g/dl no 7º dia; a 4,0g/dl no 11º dia; a 1,5g/dl no 18º dia; e a 0,5g/dl no 30º dia do processo de secagem.

Entre as substâncias sintetizadas pelas células alveolares, também merece destaque as **proteínas**, sendo a caseína, a principal delas, representando 80% da proteína total secretada no leite. Além da caseína, estão presentes no leite a β -lactoglobulina e α -lactoalbumina, que juntas correspondem a 10% do total de proteínas no leite (FONSECA; SANTOS, 2000). Os 10% restantes da proteína total são constituídos de albumina e imunoglobulinas de origem plasmática, e suas quantidades na mama apresentam íntima relação com alterações na

permeabilidade dos vasos, estando aumentada nos processos inflamatórios (SANT'ANA, 2004).

Durante o período seco, Hurley (1989) destacou a diminuição da síntese de proteínas alveolares (caseína, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina), mas mesmo assim, ocorreu um expressivo aumento da proteína total devido a maior concentração de proteínas plasmáticas, sendo a principal delas a lactoferrina, considerada específica no processo de involução mamária.

Ziv e Gordin (1973) mensuraram os teores de proteína total em amostras lácteas colhidas no 14º dia após o início do período seco, determinando o valor médio de 10 g/dl, aumentando para 15g/dl no 28º dia do período seco; e 25 g/dl no 38º dia. Hurley (1989) confirmou o aumento da proteína total durante o processo de involução mamária, com valores de 4,5 g/dl antes da secagem; 4,8g/dl no 1º dia do processo de secagem; 6,9 g/dl no 3º dia; 9,3 g/dl no 7º dia; 10,3 g/dl no 11º dia; 8,5 g/dl no 18º dia; e 18,8 g/dl no 30º dia.

A lactose, a gordura e a proteína total, bem como, outros compostos nitrogenados, açúcares e cinzas são componentes do denominado **sólidos totais** do leite (SCHALM et al., 1971). Ziv e Gordin (1973), em experimento utilizando amostras de secreção da glândula mamária de 54 quartos mamários, estabeleceram que no 14º dia do período seco a concentração de sólidos totais era de 18 g/dl; no 28º dia do período seco era de 20 g/dl; e no 38º dia era de 25 g/dl.

2.2.5 Características Celulares da Secreção Láctea durante o Período Seco

No leite, proveniente de uma glândula mamária sadia, observa-se a presença de um conjunto de células, representadas, principalmente, por leucócitos e células epiteliais. Os leucócitos provêm do sangue através de diapedese para o tecido mamário, onde devem fazer o controle preliminar das agressões que sofre o referido tecido, enquanto que as células epiteliais resultam da descamação dos alvéolos e ductos da glândula mamária. O conjunto dessas células é denominado de células somáticas, sendo determinadas por sistemas específicos de contagem (ARAUJO, 1994).

Entre os leucócitos, as células da série monócitos/macrófagos representam a principal população de células ativas na glândula mamária, não infectada, de bovinos. Face a dificuldade em se diferenciar os macrófagos nas amostras de leite, por suas características morfológicas e tintoriais, por muito tempo eles foram classificados como células epiteliais (JENSEN; EBERHART, 1981; LEE et al., 1980; MCDONALD; ANDERSON, 1981), as quais encontram-

se em pequena quantidade no leite de bovinos, tanto durante a lactação plena, como durante o processo de secagem (LEE; OUTERIDGE, 1981).

As células somáticas representam a segunda barreira protetora da glândula mamária, defendendo-a de infecções após microorganismos patogênicos transporem a primeira barreira protetora (canal do teto e substâncias antimicrobianas do *ductus papillaris*) e adentrarem nas cavidades da glândula mamária (NICKERSON, 1989; PAAPE; CAPUCO, 1997). A principal forma de defesa dos macrófagos e dos polimorfonucleares neutrófilos, presentes na mama, é a fagocitose (PAAPE; CAPUCO, 1997), que, segundo Leitner et al. (1995), seria estimulada por substâncias liberadas pelos patógenos, as quais condicionam a migração dos leucócitos para as estruturas orgânicas inflamadas do úbere, com a finalidade de combater, controlar ou debelar a infecção.

As inflamações de origem infecciosa são consideradas como o principal fator que influenciaria o significativo aumento de células somáticas no leite (PAAPE; CAPUCO, 1997), mas, fatores fisiológicos como a fase final da lactação, também resultam em um maior número de células somáticas. O repentino aumento da pressão intramamária, após a interrupção da ordenha, gera um estímulo para migração dos leucócitos para as cavidades e ductos da glândula, tendo maior facilidade de passagem por entre as células alveolares, conseqüentemente um maior contingente de células será detectado na mama (LEE; OUTERIDGE, 1981). Tais considerações foram concordantes com as afirmações de Hurley (1989) a respeito do abrupto aumento do número de leucócitos detectável nos primeiros três dias do processo de secagem, com tendência a decrescer após 18 dias da supressão da ordenha.

Em 1949, Anderson e Macleod já haviam verificado o efeito da supressão da ordenha sobre os resultados da **contagem de células somáticas** no leite, e concluíram que a interrupção da lactação por 10 dias determinava aumento de 27 vezes do número de células somáticas, sendo que, nesse período, a média geométrica do número de células somáticas dos animais examinados passou de menos de 100.000 células somáticas/ml para 4.860.000 células somáticas/ml.

Em 1954, Bratlie verificou fato semelhante ao acompanhar o período seco de oito vacas, determinando no 1º dia desse período 900.000 células somáticas/ml, passando para 8.600.000 células somáticas/ml nas amostras de secreção obtidas após 70 dias de supressão da ordenha.

McDonald e Anderson (1981) também verificaram que nos primeiros 10 dias após o início da interrupção da ordenha ocorria aumento dos valores da contagem de células somáticas de 100.000 células somáticas/ml para valores que oscilavam entre 2.000.000 e 5.000.000 de células somáticas/ml. A seguir, entre o 10º e o 25º dia do processo de secagem, haveria uma gradual diminuição da contagem de células somáticas na secreção, sendo que estes valores

oscilavam entre 1.000.000 e 3.000.000 de células somáticas/ml. Os autores explicaram que o aumento do número de células somáticas deve-se ao maior fluxo dos leucócitos do sistema circulatório para a mama, combinado à reabsorção da porção líquida da secreção retida na glândula, ou seja, um maior número de células presentes em um menor volume de secreção.

Em 1989, Hurley acompanhou a evolução do número de células somáticas, durante a fase de involução ativa do período seco, obtendo os seguintes resultados: 25.110 células somáticas/ml no dia da interrupção da ordenha; 216.402 células somáticas/ml no 1º dia do processo de secagem; 910.247 células somáticas/ml no 3º dia; 4.391.410 células somáticas/ml no 7º dia; 4.404.553 células somáticas/ml no 11º dia; 3.147.101 células somáticas/ml no 18º dia; 6.619.402 células somáticas/ml no 25º dia; e 4.402.481 células somáticas/ml, no 30º dia do processo de secagem.

No período de involução ativa, segundo Nickerson (1989), 43% da população leucocitária encontrada na mama era constituída por macrófagos, 38% por linfócitos e 19% por polimorfonucleares neutrófilos. Estas informações discordaram de McDonald e Anderson (1981) que afirmaram ser os polimorfonucleares neutrófilos, após os macrófagos, a segunda maior população de células encontradas na secreção da glândula durante a involução ativa. No 7º dia do período seco, Nickerson (1989) observou que a contagem de células somáticas foi, de aproximadamente, 1.800.000 células somáticas/ml, aumentando para valores que variaram de 2.500.000 a 3.000.000 células somáticas/ml após trinta dias de involução. A ocorrência de infecções no período seco, segundo o mesmo autor, poderia determinar grande aumento do número de células somáticas, atingindo cerca de 30.000.000 de células somáticas/ml, e, ao invés de macrófagos, os polimorfonucleares neutrófilos seriam predominantes na população celular.

Thiers et al. (2000), em experimento com amostras colhidas na fase inicial do período seco (sete a dez dias), verificaram que a secreção retida na glândula possuía 2.812.906 células somáticas/ml (2.064.518 polimorfonucleares/ml e 748.388 mononucleares/ml), enquanto que, dez dias antes do parto, a média do número de células somáticas foi igual a 535.454 células somáticas/ml (338.710 polimorfonucleares/ml e 197.744 mononucleares/ml). A proporção maior de polimorfonucleares discordou dos resultados apresentados por McDonald e Anderson (1981) e Nickerson (1989) que afirmaram serem os monócitos/macrófagos as células predominantes durante a fase de involução ativa e a fase de colostrogênese do período seco.

Segundo Thiers et al. (2000), o número de células somáticas de quartos mamários infectados, durante o período inicial da secagem, não era maior do que os resultados obtidos em quartos não infectados. Amostras de secreção de glândulas com isolamento de microorganismos

apresentaram em média 2.196.777 células somáticas/ml, enquanto glândulas, cujas amostras não houve isolamento bacteriano, apresentaram em sua secreção valor médio de 2.812.906 células somáticas/ml. Estes pesquisadores observaram que essa situação não se repete nas fases de pré-parto, parto e início da lactação, quando o leite de glândulas acometidas por processo infeccioso era significativamente maior do que o obtido em quartos sadios, concordando com Della Libera (1998). Além do mais, posteriormente, estes resultados foram confirmados por diversos pesquisadores, entre eles: Birgel Junior (2006), Estrella (2001) e Marques (2003).

O teste do **CMT** – California Mastitis Test, desenvolvido por Schalm e Noorlander (1957), é muito utilizado para estimar, indiretamente, o número de células somáticas no leite. Este teste baseia-se na capacidade que a soda (NaOH), associada a agentes tensoativos aniônicos, como o alquilarsulfonato, têm em destruir as células somáticas presentes no leite, liberando o DNA nuclear, tornando a mistura leite/reativo viscosa. O grau de viscosidade da reação foi classificado de acordo com Schalm et al. (1971), sendo os critérios de interpretação descritos no quadro 9 do item material e métodos desta dissertação.

O teste do CMT, face às suas características e resultados é rotineiramente utilizada como exame subsidiário ao diagnóstico clínico das mamites e em programas de melhoria da qualidade do leite, devido a íntima relação do aumento do número de células somáticas com a perda na qualidade do leite, diminuindo o seu rendimento industrial e seu tempo de prateleira (FONSECA; SANTOS, 2000). As alterações nas características físico-químicas do leite, com grande número de células somáticas estão, diretamente, relacionadas aos danos no tecido mamário, causados pela atividade dos leucócitos, na tentativa de controlar ou eliminar o agente causador da inflamação (AKERS; THOMPSON, 1987; CAPUCO et al., 1986).

O resultado positivo do teste do CMT não indica, necessariamente, a presença ativa de um agente infeccioso na glândula mamária, sendo capaz de identificar, segundo Prieto (1993), 77,5% dos quartos infectados. Porém glândulas infectadas podem apresentar resultado do teste do CMT negativo, Costa et al. (2001) relataram que 44,25% das amostras que não tiveram reação no CMT estavam infectadas por *Corynebacterium sp.*

Independente da existência de um processo infeccioso na glândula mamária há uma tendência natural para ocorrer aumento do número de células somáticas na fase final da lactação, no período de secagem e na fase colostrar, nestes casos os quartos mamários livres de infecção teriam resultado do teste do CMT positivo (CARROL, 1961; SCHALM; NOORLANDER, 1957).

Prieto (1993) afirmou que, no dia da interrupção da ordenha, aproximadamente, 60% das amostras eram positivas no teste do CMT. Considerando as mesmas amostras, 17,2% delas

tiveram reações consideradas uma cruz, 14,7% duas cruzes, 28,0% três cruzes e apenas 33,8% tiveram reações negativas. Ressalte-se que reações traços (6,4%) foram consideradas por Prieto (1993) como resultados negativos.

2.2.6 Infecções Intramamárias durante o Período Seco

O período em que as vacas leiteiras estão secas, entre duas lactações é um momento difícil para evidenciar a ocorrência de mamites, havendo pouca probabilidade para o perfeito estabelecimento do diagnóstico das infecções intramamárias, pois, nesta fase da produção leiteira, geralmente, as vacas permanecem em piquetes isolados e afastados, onde aguardam o momento do parto, não existindo a necessária preocupação permanente ou periódica da avaliação da involução mamária que garantiria a produtividade da próxima lactação. A conduta de se examinar o úbere a secreção das glândulas mamárias, durante a secagem, no intuito de determinar a ocorrência de alterações que gerariam intervenções preventivas ou curativa, não é considerada rotineira na pecuária leiteira do Brasil.

Eberhart (1982) ponderou que muitos pesquisadores consideravam extremamente importante manter a saúde da glândula mamária no período seco, principalmente devido ao impacto que novas infecções no período provocam na lactação seguinte. Tal ponderação baseou-se na experiência de Neave et al. (1950) que estudaram a dinâmica das infecções da glândula mamária durante o período de secagem, concluindo que entre 40 e 50% dos quartos infectados durante a secagem permaneciam infectados no retorno da lactação e verificando que na metade destes animais a infecção persistiu e que eles na nova lactação manifestavam evidentes sintomas de mamite. Essas observações foram, a seguir, confirmadas por Dodd et al. (1969); Naatzke et al. (1975) e Neave et al. (1950).

A persistência de bactérias numa glândula mamária considerada clinicamente sadio pode levar a alterações na qualidade do leite, de acordo com a patogenicidade do agente em questão (BIRGEL JUNIOR, 2006), além disto, esse fato foi considerado um fator, que na dependência da relação hospedeiro - parasita - ambiente, poderia tornar-se determinante para a ocorrência das mamites (BIRGEL, 1982).

Na pecuária leiteira paulista considerou-se que a prevalência de quartos mamários infectados, não apresentando alterações evidenciadas pelo exame físico do úbere, principalmente, pela consistência do parênquima, aspecto e cor da secreção, oscilava entre 50 e

70 %. Araújo (1994) observou que 66,7% (101/144) das mamas, consideradas clinicamente sadias, apresentavam isolamento bacteriano, fato confirmado com menores percentis por Della Libera (1998) que encontrou isolamento positivo em 46% das amostras e Costa et al. (2001) que encontrou isolamento de microorganismos em 55,75% das amostras de secreção láctea.

Infecções intramamárias também podem ocorrer em novilhas no período pré-parto, Costa et al. (1999a) isolaram bactérias de 73,18% das amostras de secreção pré-colostral de novilhas, sendo que 64,25% das infecções eram causadas por *Staphylococcus* coagulase negativa, 5,03% por *Streptococcus* sp. e 2,23% por *Corynebacterium* sp. Após o parto 47,62% dos quartos estavam infectados, sendo 60% deles por *Staphylococcus* sp., 19,05% por *Streptococcus* sp. e 14,29% por *Corynebacterium* sp.

Algumas pesquisas do hemisfério norte, como as de McDonald (1982), Munch-Petersen (1970) e Oliver e Sordillo (1988), também destacaram que glândulas mamárias de novilhas poderiam conter bactérias no período que antecede ao parto, porém a prevalência era menor do que a determinada no Brasil. Tanto McDonald (1982) como Oliver e Sordillo (1988) afirmaram que a prevalência de infecção da glândula mamária antes do parto, em novilhas, era de 21% e 22%, respectivamente, sendo a maioria causada por *Staphylococcus* coagulase negativa. Embora a glândula estivesse infectada, em 1970, Munch-Petersen não preconizaram o tratamento desses casos, afirmando a evidente tendência da cura espontânea no decorrer das semanas em lactação. Tal observação viria a ser confirmada por Costa et al. (1999).

Novas infecções da glândula mamária podem ocorrer durante o período seco com incidência variando entre 6% e 45,7% (BROWNING et al., 1994; MCDONALD, 1982; NATZKE et al., 1975; NEAVE et al., 1950; OLIVER et al., 1956), sendo que, as vacas em que as amostras de leite das quatro glândulas do úbere apresentavam-se livres de microorganismos no momento de interrupção da ordenha, apresentariam menores chances de se infectarem durante a secagem (NEAVE et al., 1950; RINDSIG et al., 1978). Neave et al. (1950) afirmaram categoricamente, que apenas 20,3% dos quartos livres de microorganismos provenientes de vacas que não apresentavam patógenos nos outros três quartos mamários, infectaram-se no processo de secagem, em contraposição, 45,7% dos quartos não infectados, mas provenientes de vacas que possuíam pelo menos um quarto cujas amostras de leite foram isolados microorganismos no momento da interrupção da ordenha, infectaram-se durante o processo de secagem.

A incidência de infecções durante o período de involução da mama foi considerada, pelos pesquisadores Nickerson et al. (1990), seis vezes maior do que a detectada durante as várias fases da lactação. Apesar de não ter sido, ainda, determinada de forma definitiva as frequências

da incidência de infecções da glândula mamária no período seco, na pecuária leiteira do Brasil, resultados de pesquisas pioneiras como as apresentadas por Costa et al. (1994) e Prieto (1993) revelaram, em levantamentos epidemiológicos, não ocorrer aumento do número de quartos infectados na secagem, mas ao contrário, a diminuição, baseando-se essa conclusão na comparação da porcentagem de quartos infectados durante a lactação e a obtida no período seco.

Costa et al. (1994), em seu experimento, descreveram que, durante a lactação, 79,86% dos quartos estavam infectados, enquanto que, no período seco, 70,59% dos quartos estavam infectados. Ao passo que Prieto (1993) constatara que 67,5% (106/157) das glândulas estavam infectadas na fase final da lactação, enquanto que no período seco, entre sete e dez dias após a interrupção da lactação, apenas 59,5% (91/153) das glândulas encontravam-se nesta situação, ressaltando que sete a dez dias após o parto - na fase colostrar da lactação - a porcentagem de glândulas infectadas era praticamente a mesma observada no período da secagem, ou seja, 57,5% (77/134). Todavia, cabe ressaltar que este pesquisador afirmou que nenhuma das infecções presentes no período seco evoluiu para mamite até dez dias após o retorno à lactação.

Dentre os três períodos que compõem o processo de secagem da glândula mamária, o momento em que ocorre sua involução ativa seria o mais susceptível às infecções. Neave et al. (1950) afirmaram que entre as novas infecções detectadas, 67,1% delas ocorreriam no período de involução ativa e apenas 9,2% ocorreriam na fase de involução constante e colostrogênese.

Os resultados das pesquisas correlacionando a ocorrência de infecção da mama com os métodos de interrupção da lactação, abrupta ou intermitente, demonstraram, desde o trabalho pioneiro de Wayne e Macy (1933), não haver diferenças entre os dois métodos de interrupção da lactação, no que se diz respeito a ocorrência de uma maior número de infecções no período seco (MCDONALD, 1982; NATZKE et al., 1975; OLIVER; DODD; NEAVE, 1956; PRIETO, 1993; WAYNE; MACY, 1933).

Embora não se tenha evidenciado diferenças significativas entre os métodos de secagem e a incidência de infecções durante o processo de secagem, Oliver; Dodd e Neave (1956) detectaram que o maior volume de leite produzido pela glândula mamária antes da supressão da ordenha aumentaria a possibilidade de novas infecções durante o processo de secagem. Natzke et al. (1975) não encontraram relação entre a produção leiteira e a incidência de infecções no período seco, mas observou que vacas com produção menor que 4 litros antes da secagem possuíam um número maior de glândulas infectadas antes da interrupção da ordenha, comparado a vacas que produziam mais de 9 litros. McDonald (1982) relatou, tendo como base os resultados do seu experimento, que vacas que produziram até 3,0 litros no momento da secagem, apresentavam 18,4% de novas infecções no período seco, ao passo que vacas produzindo de 3,0

a 6,0 litros no mesmo momento apresentavam 30,9% de novas infecções, resultado semelhante foi obtido em vacas com produção de 6 a 9 litros e, finalmente, estabeleceu que animais com produção maior do que 9,0 litros apresentavam 43,4% de novas infecções no período seco.

2.2.6.1 Microorganismos Presentes na Glândula Mamária durante o Período Seco

Os agentes bacterianos que tem sido isolados na secreção mamária de vacas leiteiras no período seco, basicamente, pertencem aos três principais gêneros bacterianos encontrados no leite de animais com ou sem mamite, sendo eles os *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.* e *Corynebacterium sp.*, além destes, alguns pesquisadores isolaram germes coliformes (BERRY; HILLERTON, 2002; BROWNING et al., 1990; CUMMINS; MCCASKEY, 1987; EBERHART, 1982; EDWARDS; JONES, 1966; KING, 1981; NATZKE et al., 1975; NEAVE et al., 1950; OLIVER; SORDILLO, 1988; PRIETO, 1993; REITER et al., 1970; RINDSIG et al., 1978; SCHULTZE; MERCER, 1976; SCHULTZE, 1983; SMITH; TODHUNTER, 1982; WARD; SCHULTZ, 1974; WILLIAMSON et al., 1998; ZADOKS et al., 2000). A análise da bibliografia compulsada demonstrou a existência de uma grande variabilidade na prevalência dos gêneros bacterianos isolados da secreção das glândulas mamárias do período seco.

Eberhart (1982) demonstrou, ao avaliar a prevalência dos agentes microbianos da secreção da glândula mamária durante o período seco, que os índices de prevalência dos patógenos isolados na secreção apresentavam grande variabilidade em diferentes fases deste período. Na primeira semana do período seco, das 18 infecções que ocorreram, 39% foram causadas por *Streptococcus sp.* (com exceção ao *Streptococcus agalactiae*) e 55,5% por germes coliformes. Na segunda semana do período seco, das sete novas infecções que ocorreram, 28,6% eram causadas por *Streptococcus sp.* (exceto o *Streptococcus agalactiae*); 28,6% por germes coliformes; 28,6% eram por *Staphylococcus aureus* e 14,2% não puderam ser identificados. Após 30 dias de período seco, 62,5% das infecções eram determinadas por *Streptococcus sp.* (exceto o *Streptococcus agalactiae*) e 37,5% causadas por germes coliformes. Resultados antagônicos foram obtidos por Smith e Todhunter (1982) durante o período de involução ativa da glândula, pois eles determinaram maior prevalência de glândulas infectadas por *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*, enquanto que na fase de colostrogênese, predominaram glândulas infectadas por *Streptococcus sp.*, não sendo, entretanto, isolados cepas de *Streptococcus agalactiae*, além do mais, foram isolados germes coliformes.

Neave et al. (1950) estabeleceram, de forma pioneira, que no período seco 47,25% (43/91) dos quartos mamários estavam infectados por *Streptococcus sp.* (com exceção ao *Streptococcus agalactiae*) e 36,3% (33/91) por *Staphylococcus sp.*, sendo as infecções por coliformes raras, constituindo 4,4% (4/91) das infecções. Além do mais, os referidos pesquisadores ponderaram que a prevalência do gênero bacteriano, presente na secreção do período seco, era diferente do que a determinada durante o período da lactação, no qual 68% dos quartos infectados apresentaram *Staphylococcus sp.*, 17,4% *Streptococcus agalactiae* e 15,2% *Streptococcus sp.* Semelhantes resultados, destacando serem as bactérias do gênero *Streptococcus* (excluindo cepas de *Streptococcus agalactiae*) os agentes patogênicos predominantes na glândula mamária de vacas leiteiras no período seco, foram obtidos nos experimentos delineados por King (1981), Reiter et al. (1970), Schultze e Mercer (1976) e Williamson et al. (1998). Ward e Schultz (1974), confirmando estes resultados, afirmaram que dos 120 novos quartos infectados, instalados no período seco, 47% deles se deviam a cepas de *Streptococcus uberis*, 32% deles de *Staphylococcus aureus*, 15% a infecções por germes coliformes e apenas 6% por cepas de *Streptococcus agalactiae*. Além disso, os autores observaram que a maioria dos quartos infectados por *Streptococcus sp.* pertenciam a vacas com mais de oito anos de idade, de maneira diferente, as infecções por *Staphylococcus aureus* apresentaram distribuição homogênea, independentes da influência dos fatores etários.

Com resultados diferentes sobre o gênero bacteriano mais frequentemente isolados da secreção láctea de glândulas mamárias de vacas secas, Oliver e Sordillo (1988) e Schultze (1983) detectaram, em seus experimentos, um crescente número de quartos infectados por *Staphylococcus* coagulase negativa, no decorrer do processo de secagem, mas observaram que estas infecções desapareceram no primeiro mês da lactação. Entretanto, Browning et al. (1990) e Rindsig et al. (1978) concluíram ser maior a prevalência de quartos infectados por *Staphylococcus aureus*, no período seco. Rindsig et al. (1978) ao estudarem a distribuição de cepas bacterianas na secreção láctea verificaram que 73,3% (11/15) dos quartos estavam infectados por *Staphylococcus aureus*, 13,3% (2/15) por *Streptococcus agalactiae*, 6,7% (1/15) infectados por outras espécies de *Streptococcus* e 6,7% (1/15) por coliformes. Essa distribuição, também, foi confirmada por Browning et al. (1990), mas com menor magnitude, ao observarem que das novas infecções que ocorreram no período seco, 58% delas foram por *S. aureus* e 29% foram por *Streptococcus uberis*.

No Brasil, Prieto (1993) realizou pesquisa avaliando a ocorrência da infecção da mama no final da lactação e no início do período seco, observando que, dez dias após a interrupção da ordenha, dos 59,5% (91/153) quartos infectados, foram isolados: 43% (39/91) de *Staphylococcus*

sp.; 29,7% (27/91) de *Corynebacterium sp.*; 12,1% (11/91) de *Streptococcus sp.* e 15,4% (14/91) continham dois dos agentes anteriormente citados. Na fase final da lactação (sete a dez dias antes da secagem), os mesmos pesquisadores haviam constatado que das 67,5% (106/157) glândulas infectadas, 40,6% (43/106) delas estavam infectadas por *Staphylococcus sp.*; 50% (53/106) por *Corynebacterium sp.*; 2,8% (3/106) por *Streptococcus sp.* e 6,6% (7/106) das infecções eram por associação mista.

Edwards e Jones (1966) afirmaram que quartos com isolamento positivo de bactérias não patogênicas, como consideraram as cepas de *Corynebacterium sp.* e *Staphylococcus coagulase negativa*, apresentavam uma menor taxa de novas infecções no decorrer do processo de involução da glândula mamária. Rindsig et al. (1978), confirmando estes resultados, concluíram que quartos dos quais se isolava *Corynebacterium bovis*, antes da secagem, apresentaram menores taxas de novas infecções no período seco; essas taxas de novas infecções foram de 2,9% em glândulas infectadas por *Corynebacterium bovis* e de 4,5% de novas infecções para quartos não infectados. Browning et al. (1990) confirmaram a opinião dos autores anteriormente citados, e, especificaram que quartos infectados por *Corynebacterium bovis* eram mais resistentes às ações patogênicas do *Staphylococcus aureus*, entretanto, eram menos resistentes a infecções por *Streptococcus sp.* Ressalte-se que Zadoks et al. (2000) também confirmaram a maior resistência dos quartos infectados por *Corynebacterium bovis* ao *Staphylococcus aureus*.

A respeito do significado que a presença do *Corynebacterium sp.* possa ter para o retorno da lactação de glândulas que apresentaram esse agente no período seco, Cummins e McCaskey (1987) afirmaram que, ao voltarem em lactação, o leite produzido por estas glândulas não apresentou maior número de células somáticas, como também, essas mamas não produziram menos leite do que as glândulas que não estiveram infectadas durante o processo de secagem. Além disso, esses pesquisadores acrescentaram que este agente pode ser encontrado no período seco em glândulas que estão infectadas por *Staphylococcus sp.* e/ou *Streptococcus sp.*

Finalmente, caberia ser destacada a opinião de inúmeros pesquisadores que se dedicaram ao estudo da patogenicidade das bactérias que infectavam o úbere no período seco, os quais afirmaram que a presença de bactérias do gênero *Corynebacterium sp.* e *Staphylococcus coagulase negativa*, durante o período seco, não era considerada prejudicial ao tecido da glândula mamária (BERRY; HILLERTON, 2002; BROWNING et al., 1990; CUMMINS; MCCASKEY, 1987; EDWARDS; JONES, 1966; OLIVER; SORDILLO, 1988; RINDSIG et al., 1978; ZADOKS et al., 2000).

2.2.6.2 Antibioticoterapia no Momento de Interrupção da Lactação

Com o objetivo de eliminar microorganismos presentes em quartos mamários no momento da interrupção da ordenha, prevenir novas infecções no período seco e diminuir a prevalência de infecções no retorno da lactação, tem sido recomendado por inúmeros pesquisadores a denominada terapia da vaca seca, utilizando diversas formulações antibióticas de longo espectro e de longo período de atividade (EBERHART, 1986; BERRY; HILLERTON, 2002; HASSAN et al., 1999; WATANABE, 1999).

A terapia da vaca seca foi utilizada pela primeira vez por Pearson (1951) em algumas glândulas que estavam infectadas no dia da interrupção da ordenha. Desde então a terapia tem sido realizada na forma seletiva, em glândulas de alguns animais selecionados, ou, em todas as glândulas que serão submetidas à secagem, sendo a última forma, atualmente, mais recomendada (DINGWELL et al., 2003). Após a retirada de todo leite presente na mama, limpa-se os tetos com uma solução desinfetante e procede-se a aplicação intramamária de uma bisnaga com antibiótico específico para o período. As formulações antimicrobianas utilizadas para vacas secas apresentam maiores concentrações do que a recomendada para vacas em lactação, homogeneizadas em meios mais oleosos ou em veículos de depósito, sendo projetados para terem ação prolongada, mantendo as concentrações adequadas do princípio ativo utilizado (SMITH, 1994).

Segundo Berry e Hillerton (2002) e Dingwell et al. (2003) a antibioticoterapia de longa – ação, seja geral ou seletiva, antes da secagem, é utilizada em 99% dos rebanhos nos Estados Unidos da América; 82,8% dos rebanhos no Reino Unido; 76,5% dos rebanhos do Canadá e 75% dos rebanhos da Holanda. Inúmeros pesquisadores apontam as vantagens do uso da terapia indiscriminada, em todos os quartos mamários antes da secagem, garantindo a diminuição da prevalência de quartos infectados no rebanho, variando esta diminuição, na dependência do pesquisador entre 50 e 90% (BARRAGRY, 1994; EBERHART, 1986; CUMMINS; MCCASKEY, 1987; FONSECA; SANTOS, 2000; HASSAN et al., 1999; BERRY; HILLERTON, 2002; NATZKE et al., 1975; NICKERSON et al., 1999; PARKINSON et al., 2000; RINDSIG et al., 1978; SMITH; TODHUNTER, 1982; WARD; SCHULTZ, 1974).

Como pioneiro em estudos da antibioticoterapia da vaca seca no Brasil, Prieto (1993) concluiu que o grupo de animais submetidos a tratamento com 500 mg de cloxacilina benztatínica homogeneizada em um veículo de liberação lenta, no momento da interrupção da ordenha, tiveram uma diminuição do número de quartos infectados durante o período seco (34 quartos

mamários estavam infectados na fase final da lactação passando a 15 quartos infectados após uma semana do período seco), diferentemente dos animais que não foram submetidos à terapia da vaca seca (de 25 quartos infectados passaram a 29 quartos infectados após sete dias de secagem). Mas, após o parto, novamente houve a equivalência no número de quartos infectados, nos dois grupos experimentais, o grupo de animais tratados antes da secagem e o grupo dos não tratados. O mencionado pesquisador ressaltou que do grupo de vacas submetidas à antibioticoterapia da vaca seca, de 15 quartos infectados aos sete dias do período seco, esse grupo passou a ter 20 quartos infectados após o parto, e, no grupo dos animais não tratados, o número de 29 quartos infectados aos sete dias do período seco diminuiu para 18 quartos infectados no pós – parto. Os resultados obtidos pelo pesquisador brasileiro permitiram que se concluísse não haver diferença na prevalência de infecção, após o parto, entre o grupo de secagem abrupta com antibiótico e sem antibiótico.

Assim, se confirmou as afirmações feitas, em 1988, por Oliver e Sordillo ao comprovarem que a antibioticoterapia no momento da interrupção da ordenha não protegia a glândula mamária de infecções nas últimas semanas antes do parto e no retorno da lactação.

Prieto (1993), em continuação à suas conclusões, salientou que a diminuição do número de quartos infectados após o parto nas vacas do grupo que não receberam tratamento no momento da interrupção da ordenha, confirmou a existência de eliminação espontânea dos patógenos presentes no período seco, representando um mecanismo fisiológico de cura espontânea. Afirmação concordante com os princípios que foram apresentados, em 1987, por Cummins e McCaskey ao verificarem a ocorrência de cura espontânea em, aproximadamente, 50% dos quartos infectados no período seco.

Em pesquisa realizada no Brasil, Costa et al. (1994) determinou que a prevalência de quartos infectados, durante a lactação, em fazendas que não utilizavam tratamento antes da secagem, era de 79,86%, e durante o período seco, a prevalência era de 70,59%, ao passo que nas propriedades que realizavam tratamento de vaca seca, em todos os quartos mamários antes da secagem, a prevalência de quartos infectados durante a lactação era de 71,69% e durante o processo de secagem de 57,6%. Tais resultados permitiram que os pesquisadores concluíssem que a terapia de vaca seca contribuiu para a diminuição das taxas de quartos infectados no rebanho.

A opinião dos pesquisadores relacionada à terapia da vaca seca, procurando a eliminação de agentes bacterianos na glândula mamária, como também a diminuição de novas infecções no período seco ou da ocorrência de mamites no retorno da lactação, sofreu significativas mudanças de conceito e de orientação no decorrer do tempo. Em 1951, Pearson, idealizador da terapia da

vaca seca a recomendava para a secagem de glândulas mamárias infectadas no momento da interrupção da ordenha, e, em 1983, Cagienard estabeleceu que o tratamento de todos os quartos mamários antes da secagem apresentava melhores resultados em propriedades com alta prevalência de sinais evidentes de mamites durante a lactação, não apresentando, necessariamente, bons resultados em propriedades apenas com alta prevalência de quartos infectados durante a lactação. Com semelhante conceito, Browning et al.(1994) e Osteras et al (1994) recomendaram que o tratamento antes da interrupção da ordenha fosse aplicado nos quatro quartos mamários de vacas que mais frequentemente apresentavam mamite. Williamson et al. (1998) também recomendaram o uso estratégico de antibióticos após a última ordenha, baseados no critério de elevado número de células somáticas no leite, antes da interrupção da ordenha. Além do mais, este pesquisador advertiu que fazendas com baixa prevalência de quartos infectados não justificariam o uso de antibióticos.

Berry e Hillerton (2002) e Dingwell et al. (2003) destacaram a existência de crescente preocupação relacionada ao uso indiscriminado de antibióticos, no momento da secagem, tanto devido ao custo do medicamento e ao custo benefício de tratar quartos não infectados, como também pela eliminação de agentes microbianos não patogênicos que poderiam ser considerados protetores contra a infecção por agentes de maior patogenicidade. Além disso, os referidos autores salientaram a problemática da emergência de resistência bacteriana aos antibióticos e a presença de resíduos de antibiótico na carne e no leite oferecido à população.

Os resíduos de antibióticos, além de interferirem na manufatura de alguns produtos lácteos, poderiam causar hipersensibilidade em humanos e determinar o aparecimento de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos. Aproximadamente 3,5% das pessoas tratadas com doses terapêuticas de sulfonamidas exibem reações adversas a essas drogas e mais de 10% são alérgicas a penicilina e seus metabólitos (FONSECA; SANTOS, 2000).

Em 1997, a Organização Mundial de Saúde (OMS) alertou que o uso indiscriminado de antibióticos no manejo de animais direcionados à produção de alimentos de consumo humano, deveriam ser reavaliadas e sua prática inibida, diminuindo os riscos de seleção e difusão de infecções por microorganismos resistentes aos antibióticos. Na declaração da OMS estimou-se que 50% dos antimicrobianos produzidos em um país destinavam-se ao uso em criações de animais ou no plantio de vegetais e controle de pragas.

O período seco preconizado como ideal por proporcionar a glândula mamária o tempo necessário para a involução, seu preparo para a colostrogênese e retorno à lactação, não constituiu com segurança a garantia de isenção de resíduos de antibióticos no leite no retorno à lactação, se estes animais tiverem sido submetidos à terapia da vaca seca (FAGUNDES, 2003).

Tal afirmação baseou-se na verificação que 19,4% das amostras de leite colhidas dez dias após o parto apresentavam resíduos de antibiótico, sendo estas amostras provenientes de animais com período seco de 60 a 70 dias, os quais tiveram suas lactações interrompidas de forma abrupta e com a aplicação de medicamento a base de penicilina ou cefalosporina, específicos para uso no momento da secagem. Fagundes (2003) considerou que com a evolução tecnológica para atuar na prevenção de infecções na glândula mamária durante todo o período seco, foram utilizadas concentrações e excipientes (veículos) que prolongam a persistência do antibiótico na glândula, o que consequentemente passou a constituir um risco à saúde dos consumidores, devido a possível presença de resíduos no leite de consumo.

A presença de resíduo de antimicrobiano no leite de animais com período seco de 60 dias também foi detectada por Raia Júnior (2006), em 23,2% das amostras de leite, colhidas na volta à lactação, após, aproximadamente, 65 dias do tratamento feito na interrupção da lactação.

2.2.6.3 Outras Formas de Controlar Infecções no Período Seco

O canal do teto constitui a primeira barreira física contra infecções, não permitindo que os patógenos adentrem na glândula (MCDONALD, 1982). No período seco, a ausência da ordenha facilitaria que microorganismos se estabeleçam no canal e na pele do teto, beneficiados, principalmente, pela ausência de desinfecção rotineira dos tetos, como ocorre para as vacas lactantes. Os microorganismos presentes na pele e no canal do teto seriam, segundo McDonald (1982), responsáveis pela maioria das infecções que possam ocorrer no período seco.

Natzke et al. (1972) e Oliver; Dodd e Neave. (1956) apontaram os benefícios da imersão dos tetos em solução desinfetante, antes e após a ordenha, diminuindo a prevalência de quartos infectados tanto durante a lactação, como no período seco. Ward e Schultz (1974), durante a primeira semana da secagem, imergiram 801 tetos, uma vez ao dia, em solução desinfetante a base de iodophor a 1% (10.000 ppm de iodo), mas não encontraram diferença relacionada a quantidade de quartos infectados após a secagem, quando comparado com quartos mamários que não foram submetido a esse procedimento de antisepsia do teto.

Merece, também, ser destacada a importância do canal do teto como proteção contra invasão de microorganismos na glândula mamária durante o período seco (COUSINS et al., 1980). Cousins et al. (1980) confirmaram de forma categórica essa afirmação, quando imergiram

os tetos de vacas leiteiras durante o processo de secagem, em uma suspensão com *Streptococcus sp.* nos seguintes momentos relacionados: durante a primeira, a segunda, a terceira e a quarta semana do período seco. Os resultados demonstraram que mais glândulas tornaram -se infectadas quando o desafio era feito na primeira e na segunda semana do processo de secagem. Embora, quando se inoculava a bactéria no interior da cisterna do teto, utilizando-se uma cânula, praticamente todos os quartos tornavam-se infectados. Assim, Cousins et al. (1980) concluíram que o canal do teto era realmente muito importante para a proteção contra infecções e que ele poderia ser mais facilmente penetrado nas duas primeiras semanas do período seco.

Como mecanismo de proteção natural da glândula mamária, durante o período seco, ocorreria a formação de um tampão de queratina obstruindo o orifício do teto, que apresenta em sua composição lipídios originários da gordura do leite, que além de proteção mecânica, possui atividade antimicrobiana (DINGWELL et al., 2003). A rapidez com que se forma o tampão de queratina seria variável na dependência do quarto mamário, sendo que 50% dos tetos teriam seus orifícios ocluídos por este tampão no sétimo dia do período seco, e, estes quartos seriam 1,8 vezes mais resistentes às infecções (DINGWELL et al., 2003). A formação do tampão de queratina estaria relacionada ao volume da produção leiteira na fase final da lactação, pois, vacas que produziam mais de 21 litros de leite antes da secagem apresentavam, na segunda semana do período seco, 40% dos tetos com o tampão de queratina, porém, quando a produção era menor que 21 litros, 70% dos tetos apresentavam esta barreira no mesmo período, por tal razão se confirmaria a importância de se utilizar manobras para a redução na produção leiteira antes da secagem. Estimou-se que apenas 5% dos tetos não apresentam o tampão de queratina após sessenta dias de secagem (DINGWELL et al., 2003).

Na tentativa de se conseguir uma proteção semelhante à do tampão de queratina no orifício do teto, foram desenvolvidos os selantes internos e externos ao canal do teto (EBERHART, 1986; DINGWELL et al., 2003; MCDONALD, 1982). Segundo Dingwell et al. (2003) os selantes internos de tetos eram constituídos por sal inorgânico, geralmente de bismuto, dissolvidos em parafina, o qual é introduzido no interior do canal do teto, ocluindo este orifício. Os mencionados pesquisadores consideraram os resultados animadores com o uso do selante interno, observando, durante a sua utilização no período seco, apenas 3,5% de novas infecções mamárias, valor significativamente menor do que a incidência de 32% de infecções em quartos mamários submetidos somente a antibioticoterapia após a última ordenha.

O selante externo de teto, segundo Dingwell et al. (2003), consiste em uma fita de acrílico aplicada sobre o orifício do teto, embora apresentasse bons resultados no controle de infecções no período seco, existiria um maior número de limitações relacionadas à pequena

persistência no orifício do teto, durante o período seco.

Além da busca de formas para diminuir a penetração de bactérias pelo canal do teto, alguns pesquisadores se dedicaram a técnicas para acelerar a involução mamária, garantindo maior resistência imunológica da glândula contra a bactéria invasora (EBERHART, 1986). A infusão intramamária de soluções de colchicina (derivada de plantas alcalóides) ou de endotoxina de *Escherichia coli*, segundo Eberhart (1986), apresentou bons resultados, provocando redução no volume da secreção glandular (40% menos secreção no sétimo dia do período seco, segundo Oliver e Sordillo, 1989). Além disso, provocaram, nas glândulas tratadas, diminuição na quantidade de citrato presente na secreção mamária, aumento no número de células somáticas e da concentração de imunoglobulinas e lactoferrinas. Oliver e Sordillo (1989) acrescentaram que com a infusão de colchicina e endotoxina houve 50% menos isolamento de patógenos (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus sp.*) nas amostras da secreção láctea durante as fases de involução ativa e involução constante da mama no período seco, mas não existiu diferenças significativas na fase de colostrogênese.

Alguns pesquisadores afirmaram que existiam vitaminas e minerais que quando oferecidos às vacas durante o período seco, poderiam influenciar na susceptibilidade da glândula mamária dentro deste período e na volta à lactação (EBERHART, 1986; PASCHOAL; ZANETTI, 2004; PASCHOAL et al., 2005).

Eberhart (1986) apontou a existência de pesquisas que indicaram a suplementação de vitamina A e do β – caroteno com a finalidade de promover maior resistência a glândula mamária durante o período seco. Paschoal e Zanetti (2004), confirmaram em parte essas afirmações, ao verificarem que a suplementação de 180.000 UI de vitamina A por dia, durante trinta dias antes do parto, diminuiria em 6,9% a incidência de mamite, nas doze primeiras semanas de lactação analisadas.

A redução da incidência de mamite após o parto também foi confirmada por Eberhart (1986) com a administração, durante 30 dias antes do parto, de vitamina E e selênio. Entretanto, Paschoal et al. (2005) não confirmaram os resultados da suplementação de selênio e vitamina E, pois em seu experimento, com a suplementação de 2,5mg de selênio e 1000 UI de vitamina E ao dia, durante 30 dias antes do parto, não observaram qualquer alteração na taxa de mamite, nas doze primeiras semanas de lactação analisadas.

Neste momento, ao se completar este capítulo da dissertação foi conveniente apresentar uma proposição de Eberhart (1982): “independente do manejo utilizado no momento da interrupção da ordenha (secagem abrupta ou intermitente, com ou sem o uso de antibiótico), ou do manejo empregado no decorrer do processo de involução mamária (imersão dos tetos em

solução desinfetante, uso dos selantes de teto) torna-se improvável a obtenção de bons resultados quando não se associarem à cuidados básicos relacionados a qualidade do local que as vacas serão mantidas e das condições do manejo das vacas leiteiras.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Na presente pesquisa foram utilizados 44 quartos mamários considerados sadios de 14 vacas da raça Holandesa, no terço final de gestação, ou seja, todas as vacas encontravam-se em fase final de lactação (período variando entre 270 e 370 dias). Esses animais foram criados e mantidos em uma propriedade leiteira localizada na cidade de Paraibuna, região sudoeste do Estado de São Paulo.

A seleção dos animais/ mamas foi baseada no histórico dos mesmos, não sendo utilizados aqueles que apresentaram episódios recorrentes de mamite, ou que receberam qualquer medicação intra-mamária há pelo menos dois meses antes do início do experimento. Na seleção foram excluídas as glândulas mamárias que apresentassem alterações das características macroscópicas do leite, como presença de grumos e/ ou alterações da cor do leite, detectadas na prova do fundo escuro; e que, na palpação da glândula mamária realizada, após a ordenha, apresentassem alterações de consistência que pudessem estar relacionadas à existência de quadro de mamite, conforme as recomendações de Birgel (1982).

As 14 vacas selecionadas produziam, na fase final da lactação, entre 4 e 8 litros de leite por dia, sendo que a produção leiteira média desses animais, em 305 dias de lactação, era de cerca de 6.000 litros de leite.

Segundo o manejo leiteiro dessa propriedade, nos animais que se encontravam no terço inicial e médio da lactação eram submetidos a três ordenhas por dia, passando com o declínio da produção observada no terço final da lactação a serem realizadas apenas duas ordenhas diárias.

A ordenha mecânica era realizada em sala de ordenha do tipo espinha de peixe que permitia que doze vacas fossem ordenhadas simultaneamente. Antes da ordenha, os funcionários limpavam os tetos das vacas com água e, a seguir, os secavam com toalhas de papel, não necessariamente uma para cada teto. Não era feito de forma sistematizada o teste do fundo escuro. Após a ordenha, os tetos eram mergulhados em uma solução antisséptica a base de iodo.

Os animais selecionados foram mantidos em pastos formados por capim Tanzânia (*Panicum maximum* Jacq. cv. Tanzânia - 1) ou Brachiaria (*Brachiaria decumbens*), juntamente com outras vacas em final de lactação ou com pequena produção leiteira (menor do que 8 litros/dia). Antes dessas duas ordenhas diárias, as vacas recebiam uma suplementação de concentrado e volumoso, balanceada de acordo com a produção leiteira daquele lote. O

concentrado era composto por farelo de milho, farelo de trigo, farelo de soja, farelo de algodão, polpa cítrica e uréia, esta mistura era fornecida na quantidade de 2 kg por animal por dia, sendo fracionada em 1 kg de manhã e 1 kg de tarde. Dependendo da disponibilidade, o volumoso fornecido era o capim elefante picado ou a silagem de milho. Em primeiro lugar distribuía-se para as vacas o concentrado e, após completo consumo do concentrado fornecia-se o volumoso.

3.2 MANEJO PARA A INTERRUPÇÃO DA ORDENHA

Na semana anterior à interrupção da lactação, as vacas selecionadas foram separadas do restante do lote e encaminhadas para um piquete composto por capim Tanzânia. Os animais continuavam sendo ordenhados duas vezes ao dia e a suplementação oferecida antes da ordenha passou a ser apenas o volumoso (capim elefante ou silagem de milho), não sendo mais fornecido concentrado.

Uma semana após a modificação na alimentação, interrompeu-se a ordenha de forma abrupta e sem a utilização de terapia por via intra-mamária, com antibióticos de largo espectro e de longa duração. Após a interrupção da ordenha, não era mais fornecido volumoso suplementar, sendo, o capim Tanzânia, presente no piquete, a única fonte de alimento dos animais.

3.3 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Na presente pesquisa foram utilizadas no acompanhamento do processo de secagem 44 quartos mamários considerados sadios de 14 vacas da raça Holandesa, sendo que destas vacas não foram utilizados as mamas consideradas perdidas. No exame clínico inicial constatou-se que 12 mamas estavam atrofiadas indicando a perda de função, provavelmente, devido a quadros anteriores de mamites, que não foram corretamente diagnosticados e/ou tratados. Deve ser ressaltado que estas alterações nas glândulas excluídas não estavam relacionadas à lactação a ser interrompida, mas a lactações anteriores.

As 44 glândulas mamárias foram examinadas durante a fase final da lactação e evolução do processo de secagem da mama, sendo que além do exame físico da mama foram colhidas amostras de secreção láctea para as análises físico-químicas, celulares e bacteriológicas.

O exame das mamas e colheita de material realizados no momento denominado de fase final da lactação correspondeu às avaliações efetuadas entre quatro e dois dias antes do início do processo de secagem da glândula mamária.

Até o dia da supressão da ordenha e início do período seco os animais foram ordenhados

duas vezes ao dia, sendo que o momento denominado de última ordenha correspondeu às avaliações realizadas durante a segunda ordenha do dia a partir do qual ocorreu a interrupção da lactação, ou seja, após o momento denominado última ordenha, as mamas não foram mais ordenhadas.

Após o parto, entre sete e trinta dias após o retorno à lactação, as mamas dessas vacas foram submetidas a exame clínico e colhidas amostras da secreção láctea para as análises físico-químicas, celulares e bacteriológicas de 26 quartos mamários, pertencentes a sete vacas deste experimento. No quadro 1 foram discriminados os momentos e o número de quartos avaliados durante a pesquisa.

Momentos de Colheita			Número de Quartos Avaliados
1	Na Fase Final da Lactação		44
2	Durante o processo de secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	44
3		1º Dia da Secagem	44
4		3º Dia da Secagem	44
5		5º Dia da Secagem	44
6		7º Dia da Secagem	44
7		10º Dia da Secagem	44
8		15º Dia da Secagem	44
9		30º Dia da Secagem	44
10		45º Dia da Secagem	44
11	No Retorno da Lactação		26

Quadro 1 - Constituição do grupo experimental para avaliar a influência do processo de secagem na glândula mamária de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Ao final da fase experimental, considerando a evolução clínica da mama durante o processo de secagem, as glândulas foram divididas em três grupos: **grupo composto por mamas**

sadias que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem, **grupo composto por mamas que apresentaram distúrbio da secreção mamária** durante o transcorrer do processo de secagem e **grupo de mamas nas quais diagnosticou-se mamite** durante a evolução do período seco. No quadro 2 foram discriminados os momentos e o número de quartos mamários avaliados distribuídos segundo as condições de saúde verificadas durante a evolução do processo de secagem da mama:

Momentos de Colheita		Sadia	Distúrbio da Secreção	Mamite
Na Fase Final da Lactação		20	12	12
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	12	12
	1º Dia da Secagem	20	12	12
	3º Dia da Secagem	20	12	12
	5º Dia da Secagem	20	12	12
	7º Dia da Secagem	20	12	12
	10º Dia da Secagem	20	12	12
	15º Dia da Secagem	20	12	12
	30º Dia da Secagem	20	12	12
	45º Dia da Secagem	20	12	12
No Retorno da Lactação		12	7	7

Quadro 2- Constituição dos grupos experimentais para avaliar a influência da condição de saúde da glândula mamária, durante o processo de secagem da mama de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Os critérios pra a classificação das mamas nos três grupos foram os seguintes:

- I. Os quartos mamários que não apresentaram alterações na palpação de suas estruturas e alterações macroscópicas do leite, como presença de grumos, foram classificados como quartos sem distúrbios no processo de secagem, ou seja, sadios;
- II. As mamas que apresentaram, em apenas um momento da secagem, alterações

macroscópicas do leite, como presença de grumos, mesmo que não apresentassem alterações perceptíveis na palpação da glândula mamária, foram separadas das mamas consideradas sadias durante o processo de secagem e agrupadas formando um grupo de mamas com distúrbio da secreção;

- III. Os quartos que apresentaram alterações macroscópicas do leite, em mais de um momento do período de secagem, sendo, acompanhados ou não por alterações perceptíveis pela palpação da glândula mamária, foram classificados em um grupo de mamas que apresentaram mamite durante a evolução do período seco.

3.4 EXAME CLÍNICO DAS MAMAS

3.4.1 Exame clínico da glândula mamária na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação

As glândulas mamárias foram examinadas, conforme preconizado por Birgel (2004), por meio da inspeção, palpação e a avaliação complementar pelo exame do leite. O exame físico da mama, conforme será detalhado a seguir, foi realizado em três momentos: na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação.

Os exames do leite foram realizados, imediatamente, antes da ordenha, e, após a limpeza dos tetos com solução anti-séptica preparada com clorexedine. Um a dois jatos de leite eram ordenhados de cada glândula mamária, observando-se a secreção observada em um recipiente preto, facilitando a avaliação da presença de alterações macroscópicas das características do leite, como presença de grumos ou alteração da cor.

Durante a palpação da glândula mamária, realizada imediatamente após a ordenha, avaliou-se, particularmente, a consistência do parênquima da glândula, a resistência à introdução do dedo na cisterna da glândula (*sinus lactifer*) e a presença de um cordão no interior da cisterna do teto (*sinus papillaris*). A avaliação das diferentes estruturas mamárias deve ser realizada após a ordenha, visto que, a repleção de leite na cisterna da glândula e cisterna do teto dificulta, ou, impede a correta palpação das referidas estruturas orgânicas.

Na avaliação da consistência da glândula mamária palpou-se, inicialmente, o úbere como um todo e, logo após, o parênquima de cada quarto mamário. A classificação dos tipos de consistências do parênquima glandular foi baseada na padronização estabelecida pela Escola Superior de Veterinária – Hannover. Dentro desta classificação, as diferentes consistências mamárias são representadas em algarismos romanos, conforme visualizado no quadro 3.

Tipos de Consistência	Características da Palpação
I – Macia	mama de consistência semi-mole, que confere à glândula mamária uma sensação de palpação delicada e macia
II – Macia	consistência semi-mole que confere à glândula mamária uma sensação delicada e macia, na qual pode-se palpar uma fina granulação representada pelos ácinos glandulares
III – Firme	mamas apresentando uma consistência firme, na qual é possível a palpação de pequenos nódulos fibrosos, dispersos pelo parênquima glandular
IV – Fibrosada	mamas que à palpação apresentam consistência fibrosa, podendo ser encontrados grandes nódulos fibrosos com diâmetro variando de 5 a 8 cm dispersos pelo parênquima da glândula, podendo a mama apresentar reuniões desses nódulos formando extensas áreas de endurecimento difuso do tecido mamário
V – Fibrosada	glândula mamária de consistência dura, por fibrosamento extenso e difuso do parênquima, atingindo lóbulos ou mesmo um lobo glandular
VI - Pastosa	glândula mamária acometida por mamite aguda, caracterizada por calor, dor e consistência pastosa causada pelo edema, com impossibilidade de preguar-se a pele sobre a mama
VII – Pastosa	glândula mamária com edema fisiológico do período pré ou pós-parto, caracterizando-se por suaves sinais de calor e dor, com evidenciado tumor representado por edema de intensidade variável (a consistência é pastosa com impossibilidade do preguamento da pele sobre a mama)

Quadro 3 - Classificação das características da palpação da consistência da glândula mamária. São Paulo, 2006

Após a palpação do parênquima glandular, foi realizada a avaliação da cisterna da glândula mamária (*sinus lactifer*), para isto introduziu-se a extremidade do dedo indicador no interior da cisterna da glândula, sendo as glândulas classificadas segundo a resistência para a introdução do dedo, como descrito no quadro 4.

Classificação	Características da Palpação da Cisterna da Glândula
ausência de resistência	mamas que não apresentam qualquer dificuldade para a introdução do dedo na cisterna da glândula
pequena resistência	mamas que apresentam pequena resistência à introdução do dedo na cisterna da glândula
grande resistência	mamas que apresentam grande resistência à introdução do dedo na cisterna da glândula

Quadro 4 - Classificação das características da palpação da cisterna da glândula mamária (*sinus lactifer*). São Paulo, 2006

Com o intuito de se avaliar as características do epitélio de revestimento interno da

cisterna do teto (*sinus papillaris*), foi feito o rolamento do teto entre os dedos polegar, indicador e médio, sendo a classificação do resultado deste exame descrita no quadro 5.

Classificação	Características da Palpação da Cisterna do Teto
Ausência de Cordão	a sensação da existência de um cordão endurecido no interior do teto não era perceptível
Cordão Perceptível	era perceptível a presença de um delicado cordão endurecido no interior do teto
Cordão de espessura considerável	era perceptível a presença de um cordão endurecido de espessura considerável no interior do teto

Quadro 5 - Classificação das características da palpação da cisterna do teto (*sinus papillaris*).
São Paulo, 2006

Finalizando a avaliação das características morfológicas estudadas durante o exame clínico do úbere de vacas leiteiras, classificou-se por inspeção direta das condições do orifício do teto a ocorrência de prolapso do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto (*ductus papillaris*), sendo classificado de acordo com os itens expostos no quadro 6.

Classificação	Características da Inspeção do conduto do orifício do teto
Ausência de prolapso	o conduto do orifício do teto não apresenta prolapso do seu epitélio de revestimento
Prolapso de pequena severidade	a presença de prolapso de pequena extensão do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto era perceptível
prolapso de grande severidade	a presença de prolapso de grande extensão do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto era perceptível

Quadro 6 - Classificação das características do prolapso do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto (*ductus papillaris*) - São Paulo – 2006

3.4.2 Exame clínico da glândula mamária durante a evolução do processo de secagem

O exame clínico da glândula mamária, durante a evolução do processo de secagem, foi realizado no dia da última ordenha, bem como no 1º dia; no 3º dia; no 5º dia; no 7º dia; no 10º dia; no 15º dia; no 30º dia e no 45º dia do processo de secagem.

Antes da colheita das amostras de leite, a glândula mamária era submetida a minucioso

exame clínico por inspeção e palpação, caracterizando a plenitude e a distensão da mama e dos tetos, bem como determinar a consistência e presença de edema da glândula mamária, sendo a avaliação complementada pela observação da ocorrência da ejeção espontânea do leite, verificando o aspecto da secreção láctea para assinalar sua coloração, consistência e a presença de grumos. A classificação utilizada para caracterizar essas observações foi descrita nos quadros 7 e 8.

<u>Plenitude e Distensão da Mama</u>	
1	mama não distendida, pequena e vazia, pele pode ser pregueada
2	mama moderadamente distendida, com pouco conteúdo líquido no seu interior, sendo possível pregar a pele
3	mama distendida, com conteúdo líquido no seu interior, pele pode ser pregueada com certa dificuldade
4	mama extremamente distendida e repleta de leite, impedindo que a pele fosse pregueada
<u>Ocorrência e Extensão do Edema da Mama</u>	
1	ausente
2	restrito a base do teto ou na porção distal da glândula
3	difuso por toda glândula
4	estendendo-se até o abdômen
<u>Avaliação dos Tetos</u>	
1	não distendidos, pequenos e vazios
2	moderadamente distendidos, com conteúdo líquido (flutuação) mas paredes relaxadas
3	distendidos, com conteúdo líquido (flutuação), paredes tensas, brilhantes mas preservando ainda as pregas da pele
4	extremamente distendidos, com paredes tensas, lisas e luzidias

Quadro 7 – Classificação das características da mama e dos tetos avaliados durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de bovinos. São Paulo, 2006

<u>Avaliação do Aspecto da Secreção Láctea</u>	
1	leite com coloração branca ou creme clara
2	aquosa de coloração branca ou creme clara, mantendo o aspecto de leite
3	viscosa de cor amarelada
4	secreção pré-colostral com aspecto de soro lácteo ou mel
5	coloostro
<u>Presença de grumos</u>	
B	com grumos pequenos
C	com alguns grumos grandes
D	com inúmeros grumos grandes
E	predomínio de massas purulentas
F	fibrina

Quadro 8 – Classificação utilizada para avaliação da secreção láctea durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de bovinos. São Paulo, 2006

3.5 COLHEITA DAS AMOSTRAS DE LEITE

3.5.1 Colheita das amostras de leite antes da secagem

As amostras utilizadas para a determinação físico-química e microbiológica do leite na fase final da lactação, no dia da interrupção da ordenha e no retorno da lactação foram colhidas dentro da sala de ordenha, imediatamente antes da retirada do leite.

Antes da colheita das amostras de leite eram realizados os procedimentos de preparo dos animais para ordenha, conforme descritos anteriormente, e, a inspeção dos primeiros jatos de leite, utilizando-se uma caneca de fundo escuro. Após o exame macroscópico do leite fazia-se a anti-sepsia da extremidade do teto, particularmente, do orifício do teto, utilizando-se um chumaço de algodão embebido em álcool 70 %, de acordo com os padrões recomendados em boletim da *International Dairy Federation* (1981). A seguir, eram desprezados os primeiros jatos de leite,

de tal forma a evitar que resíduos de anti-sépticos contaminassem as amostras, para então realizar a colheita do material destinado ao exame microbiológico, usando frascos plásticos estéreis com capacidade para 5ml de leite, mas usualmente o frasco era preenchido até a metade de sua capacidade, evitando o contato do leite com a tampa do frasco e outras possíveis contaminações da amostra.

As amostras destinadas à determinação das características físico-químicas e celulares do leite foram colhidas, na seqüência, em tubos de plástico descontaminados de íons, sendo a quantidade da colheita padronizada em 100 ml, para isto utilizaram-se dois tubos de plástico, com capacidade para 60 ml de leite, para as colheitas das amostras de cada quarto mamário. Cerca de 40 ml da amostra de 100 ml de leite era transferido, dentro da sala de ordenha, para frascos de plástico contendo uma pastilha do conservante bronopol, sendo então a amostra homogeneizada até a total dissolução da pastilha. Essas amostras permaneciam em temperatura ambiente, sendo enviados, no dia seguinte para o Laboratório de Fisiologia da Lactação do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite – Departamento de Produção Animal da ESALQ, localizado em Piracicaba. Neste local eram realizadas as determinações dos teores de lactose, gordura, proteína, sólidos totais e do número de células somáticas do leite. As determinações foram analisadas dentro do prazo estabelecido para esse exame – no máximo sete dias após a colheita.

Os 60 ml de leite restantes, juntamente com as alíquotas retiradas para exame microbiológico eram acondicionadas em caixas de isopor e mantidas refrigeradas, com gelo reciclável, durante o transporte até o momento de serem processadas e analisadas nos laboratórios do Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades de Ruminantes – CPDER, do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Ao chegar no laboratório, congelava-se, a -20°C , o material destinado ao exame microbiológico e, iniciava-se o processamento das amostras com 60 ml de leite colhidos: mensurações de pH, determinações dos valores de eletrocondutividade, dos teores de cloretos e realizava-se o teste do CMT (California Mastitis Test). Essas análises eram concluídas em até 24 horas após a colheita.

3.5.2 Colheita das amostras de secreção láctea durante o processo de secagem

As amostras utilizadas para a determinação físico-química e microbiológica da secreção láctea durante o processo de secagem, foram colhidas fora da sala de ordenha, evitando estímulos sonoros e visuais do momento da ordenha, o que proporcionaria a liberação de ocitocina e ejeção

do leite.

Antes da colheita das amostras da secreção das glândulas mamárias, era realizada a inspeção e a palpação do úbere e dos tetos, seguindo-se a limpeza e anti-sepsia dos tetos, da mesma forma como foi descrito para as colheitas realizadas antes da supressão da ordenha. Em seguida era feita a inspeção dos primeiros jatos de leite, utilizando-se uma caneca de fundo escuro, classificando o aspecto do leite conforme foi especificado no quadro 8.

Após a anti-sepsia da extremidade do teto, com álcool 70 %, desprezava-se os dois primeiros jatos de secreção, para então se fazer a colheita do material em alíquotas destinadas ao exame microbiológico e avaliação das características físico-químicas e celulares. A quantidade de secreção láctea retirada para determinações físico-químicas e celulares foi padronizada em 100 ml. Contudo, conforme o avanço do processo de secagem, algumas glândulas mamárias não apresentavam mais esta quantidade de secreção, impossibilitando, em alguns casos, a realização da determinação de todos os parâmetros propostos nesta pesquisa. As determinações de pH, eletrocondutividade, bem como do teor de cloretos foram consideradas primordiais quando se obtinha quantidade insuficiente de secreção láctea. As determinações dos teores lácteos de lactose, gordura, proteína e sólidos totais bem como do número de células somáticas necessitavam de uma quantidade mínima de 40 ml de secreção, como em alguns casos esta quantidade não foi alcançada, não existiu a possibilidade de realização das análises.

3.6 DETERMINAÇÕES REALIZADAS NAS AMOSTRAS DE LEITE E NA SECREÇÃO MAMÁRIA DO PERÍODO SECO

3.6.1 Determinação da concentração hidrogeniônica – pH

A determinação da concentração hidrogeniônica da secreção láctea foi realizada utilizando-se um potenciômetro modelo DM-20 da Digimed, calibrado para a temperatura ambiente e em soluções com pH 6,86 e pH 4,01. Após a estabilização da temperatura das amostras, equilibrando-se com temperatura do ambiente, as amostras foram adequadamente homogeneizadas e submetidas à determinação do pH. Após cada determinação, procedeu-se a limpeza do eletrodo com água destilada e a sua secagem com lenço de papel.

3.6.2 Determinação dos valores de eletrocondutividade

A determinação dos valores de eletrocondutividade foi efetuada utilizando-se o aparelho

Milku Mastitron, que mede a capacidade dos íons cloro, sódio e potássio existentes no leite de conduzirem corrente elétrica. Antes do início das determinações, o equipamento é calibrado com uma solução de cloreto de potássio a 0,1 N., à 25°C, e o valor lido no equipamento ajustado para 12,9 mS/cm.

As amostras de secreção láctea de cada glândula mamária eram depositadas diretamente no receptáculo do equipamento, em quantidade suficiente (aproximadamente 10 ml) para cobrir os eletrodos do receptáculo, permitindo que ocorresse a passagem de corrente elétrica, sendo a condutividade registrada, automaticamente, em um visor digital e o resultado expresso em mS/cm (miliSiemens por cm). Após a leitura, procedia-se à limpeza do equipamento com água destilada e a sua secagem com lenço de papel.

3.6.3 Determinação dos teores de cloretos

A determinação dos teores de cloretos na secreção láctea foi realizada utilizando-se o analisador de cloretos modelo 925 da Corning, por titulação coulométrica. O aparelho analisador de cloretos apresenta um circuito composto de eletrodos de prata que ao receberem uma corrente elétrica e liberavam íons de prata numa taxa constante e a reação com cloretos ocorria em meio ácido, por essa razão emprega-se um tampão ácido.

Após a calibração do equipamento, adicionavam-se 100 µl de leite numa solução tampão ácida, momento em que o equipamento era acionado e os íons de cloro presentes no leite reagiam com os íons de prata liberada no meio ácido, formando o cloreto de prata. Ao mesmo tempo era acionado um cronômetro. Nesta reação havia o consumo dos íons cloro, presentes na secreção láctea dissolvido na solução tampão. Consumidos os cloretos da secreção láctea apareceriam os íons de prata livres que seriam reconhecidos por um eletrodo específico que interromperia a corrente elétrica responsável pela liberação dos íons de prata, parando o cronômetro. O tempo registrado pelo cronômetro é diretamente proporcional ao conteúdo de cloreto na amostra analisada. Os resultados foram expressos em mMol/l e convertidos nessa pesquisa pelo fator de 3,55 para unidade expressa em mg/dl.

3.6.4 Determinação dos teores de lactose, gordura, proteínas e sólidos totais

As amostras de secreção láctea, antes do início da análise, eram mantidas em banho-maria à 38°C durante 15 minutos, homogeneizadas, manualmente, sendo as determinações dos teores de lactose, gordura, proteínas e sólidos totais na secreção láctea realizadas por radiação

infravermelha utilizando-se o equipamento BENTLEY 2000 da Empresa Bentley Instruments Inc.. Uma alíquota de secreção láctea, depois de ser aspirada pelo equipamento BENTLEY 2000, é exposta a uma fonte de radiação infravermelha provocando a emissão de um espectro de ondas, sendo que os constituintes da secreção láctea (lactose, gordura, proteína e sólidos totais) que apresentam pico máximo da absorbância entre 2 µm e 15 µm são identificados e quantificados pelo equipamento. Os resultados foram expressos em g/dl.

3.6.5 Determinação do índice cloretos/lactose

O índice cloreto/lactose foi obtido conforme preconizado por Vanlandingham et al (1941) mediante a divisão do valor de cloretos expresso em mg/dl pelo valor da lactose expresso em mg/dl e multiplicado por 100, sendo os resultados apresentados em porcentagem (%).

$$\text{Índice} = \frac{\text{Cloretos}}{\text{Lactose} *} \times 100$$

* Os valores de lactose expressos em g/dl devem, anteriormente à divisão, ser multiplicados por 1000 e assim transformados em mg/dl.

3.6.6 Prova de Schalm e Noorlander – California Mastitis Test (CMT)

A avaliação indireta da celularidade do leite de cada quarto mamário foi realizada pela prova descrita por Schalm e Noorlander (1957) e denominada de *California Mastitis Test* (CMT).

Desenvolvida a partir do Teste de Whiteside, essa prova baseia-se na capacidade que os agentes tensoativos aniônicos, como o alquilarisulfonato, têm em destruir as células somáticas do leite, liberando o ácido desoxirribonucleico (DNA) presente no núcleo dessas células, resultando no aumento da viscosidade e/ou gelificação da mistura do reativo com a amostra do leite. Para melhorar a visualização da prova, inclui-se um corante a base de púrpura de bromocresol que permite, também, avaliar o pH da amostra.

Para a realização da prova utilizaram-se placas especiais contendo quatro receptáculos e neles colocavam-se 2 ml de leite e 2 ml do reativo de CMT (FATEC ®), sendo a mistura homogeneizada, por aproximadamente 10 segundos, com movimentos circulares, para a seguir ser realizada a avaliação dos resultados, segundo o grau de intensidade da viscosidade desenvolvida. A interpretação desta prova foi apresentada no quadro 9, obedecendo as normas preconizadas por SCHALM et al. (1971).

Escore	Descrição da Reação	Interpretação dos resultados
- - - Negativo	A mistura permanece líquida após a homogeneização dos componentes da reação	0 a 200.000 células/ml, das quais 0 a 25% são leucócitos polimorfonucleares.
(+) - - Traços	Discreto aumento da viscosidade, mas sem tendência à formação de gel, a maior viscosidade pode ser melhor observada pela inclinação da placa. Esta reação desaparece com a movimentação contínua do fluido	150.000 a 550.000 células/ml, das quais 30 a 40% são leucócitos polimorfonucleares.
+ - - Fracamente positivo	Há aumento da viscosidade sem tendência a formação de gel, o que deixa o centro do receptáculo descoberto durante a movimentação da mistura. A interrupção dos movimentos circulares permite que a mistura se distribua sobre o receptáculo, cobrindo seu fundo.	400.000 a 1.500.000 células/ml das quais 40 a 60% são leucócitos polimorfonucleares.
+ + - Nitidamente positivo	A mistura torna-se, imediatamente, viscosa com a formação de gel, que deixa o centro do receptáculo descoberto durante a movimentação. Quando os movimentos circulares são interrompidos a mistura se espalha de novo homogeneamente sobre toda a base do receptáculo, evidenciando-se estrias viscosas	800.000 a 5.000.000 de células/ml, das quais 60 a 70% são leucócitos polimorfonucleares.
+ + + fortemente positivo	Ocorre gelificação imediata e evidente com abaulamento convexo da superfície da mistura no centro do receptáculo, durante a movimentação. Geralmente, esse abaulamento se mantém, mesmo após cessados os movimentos de homogeneização. A viscosidade da mistura é tão espessa que adere ao fundo do receptáculo	Contagem celular maior do que 5.000.000/ml, das quais 70 a 80% são leucócitos polimorfonucleares.

Quadro 9 - Interpretação da Prova California Mastitis Test – CMT (Schalm et al., 1971)

3.6.7 Contagem eletrônica do número de células somáticas

As amostras de leite, antes do início da análise, eram mantidas em banho-maria à 38°C, durante 15 minutos, e a seguir, homogeneizadas, manualmente, sendo a contagem de células somáticas realizada por citometria de fluxo, utilizando-se o equipamento SOMACOUNT 500 da Empresa Bentley Instruments Inc..

Nesse procedimento uma alíquota de leite, depois de ser aspirada pelo equipamento SOMACOUNT 500, era misturada com o corante brometo de etídio que cora o DNA do núcleo

das células somáticas. Essas células coradas, quando expostas a uma fonte luminosa de laser, fluoresciam, sendo convertidas no tubo multiplicador do equipamento em impulsos elétricos que foram registrados e os resultados expressos em milhares de células somáticas por mililitro (número de células somáticas $\times 10^3/\text{ml}$).

3.7 EXAME MICROBIOLÓGICO

Após serem descongeladas, as amostras de leite foram semeadas com alça de platina calibrada para a capacidade de 10 μl em Meio de Ágar-sangue e Meio de Edwards.

O Meio de Ágar-sangue favorece o crescimento da maioria das bactérias patogênicas encontradas no leite, enquanto o Meio de Edwards é um meio seletivo, com base de ágar-sangue, utilizado para isolamento e reconhecimento de bactérias do gênero *Streptococcus*.

As placas de Petri foram divididas de modo a permitir a semeadura de oito amostras de leite e incubadas a 37°C, sendo a avaliação para a identificação das bactérias realizadas com 24, 48 e 72 horas após a semeadura. Nas amostras que apresentaram crescimento bacteriano procedeu-se à contagem das unidades formadoras de colônia, sendo o resultado obtido multiplicado pelo fator de calibração da alça de platina igual a 100 e os valores expressos em unidades por ml.

Após 24 horas de incubação procedeu-se à identificação dos gêneros das bactérias que apresentaram crescimento no Meio de Ágar-sangue, sendo a identificação baseada nos resultados do exame bacterioscópico e do teste de catalase.

O exame bacterioscópico foi realizado em lâminas coradas pelo método de Gram, sendo que a avaliação morfológica e tintorial microscópicas permitia a diferenciação entre cocos gram positivos (*Staphylococcus* e *Streptococcus*) e outras bactérias gram negativas.

O teste da catalase permitiu que bactérias do gênero *Staphylococcus* e do gênero *Corynebacterium* fossem diferenciadas de bactérias do gênero *Streptococcus*, pois somente as bactérias do gênero *Staphylococcus* e do gênero *Corynebacterium* são reagentes positivas a esse teste, ou seja, possuem a enzima catalase. O teste foi realizado colocando-se uma gota de água oxigenada a 3% em uma lâmina e emulsionando, nesta gota, uma colônia de bactéria a ser identificada, sendo que a formação imediata de bolhas de oxigênio indica a presença da enzima catalase, sendo o teste considerado positivo.

As amostras classificadas como pertencentes ao gênero *Staphylococcus*, após a realização do exame bacterioscópico e do teste da catalase, foram submetidas ao teste de coagulase. No teste de coagulase foi realizado para verificar a capacidade de bactérias do gênero

Staphylococcus coagular o plasma sangüíneo. A prova foi realizada, incubando a 37°C durante 24 horas, um preparado com 0,5ml de plasma de coelho e uma colônia de *Staphylococcus*, sendo que a verificação da coagulação deste plasma, em 24 horas, indica prova positiva. Esta prova permite a diferenciação de *Staphylococcus* coagulase positiva, considerados mais patogênicos, dentre os quais o de maior importância é o *S. aureus*, dos *Staphylococcus* coagulase negativa que são menos patogênicos para a glândula mamária. Adicionalmente a este teste foi utilizado o STAPHY-TEST® da Empresa Probac do Brasil, que permite a diferenciação do *Staphylococcus aureus* das demais espécies de *Staphylococcus*, sendo este teste baseado na capacidade do *Staphylococcus aureus* aglutinar hemácias de carneiro previamente sensibilizadas com hemolisina e fibrinogênio. Deve ser ressaltado que o STAPHY-TEST® foi realizado para identificar o *Staphylococcus aureus* dos demais *Staphylococcus* coagulase positiva. Assim, a reação positiva do STAPHY-TEST® e do teste de coagulação do plasma de coelho permitiu a identificação do *Staphylococcus aureus*, enquanto o resultado negativo do STAPHY-TEST® e positivo do teste de coagulação do plasma de coelho permitiu afirmar que a bactéria era *Staphylococcus* coagulase positiva diferente do *S. aureus*.

Complementando o exame bacteriológico, passadas 48 e 72 horas de incubação, procedeu-se a nova avaliação das culturas que apresentaram crescimento no Meio de Ágar-sangue, sendo objetivo principal desta avaliação a identificação das bactérias do gênero *Corynebacterium*. A identificação das bactérias presentes foi realizada com o auxílio do exame bacterioscópico e do teste de catalase.

A identificação das espécies bacterianas foi realizada para os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, não sendo realizada para o gênero *Corynebacterium* por dificuldades de se estabelecer uma metodologia que oferecesse uma identificação confiável para este grupo de bactérias.

Para a identificação de espécies do gênero *Staphylococcus* utilizou-se a prova da urease para verificar a presença da enzima urease, a prova de redução do nitrato para verificar a capacidade da bactéria reduzir nitrato a nitrito, prova de metabolização da arginina e fermentação dos seguintes açúcares: trealose, manitol, manose, xilose, maltose, lactose, sacarose e rafinose.

Para a identificação de espécies do gênero *Streptococcus* utilizou-se a prova de hidrólise da esculina, Prova de CAMP, crescimento bacteriano a 45°C, crescimento em NaCl a 6,5%, prova de hidrólise do hipurato, prova de metabolização da arginina e fermentação dos seguintes açúcares: trealose, manitol, lactose e rafinose.

A prova de hidrólise da esculina foi realizada utilizando o Meio de Edwards (meio seletivo para *Streptococcus*). Nesta prova as colônias bacterianas que cresceram neste meio

devem ser espalhadas e, a seguir a placa deve ser incubada pelo período de 24 a 48 horas, sendo a prova considerada positiva quando o meio, ao redor das colônias bacterianas, ficar enegrecido.

A prova de CAMP foi utilizada para diferenciar os *Streptococcus* do grupo B, dentre eles o *S. agalactiae*, das demais espécies de *Streptococcus*.

As técnicas utilizadas para identificação e diferenciação das espécies bacterianas foram realizadas segundo as recomendações de Lennette et al. (1985) e Cowan e Steel (1985), sendo os resultados obtidos comparados com os resultados presentes em tabelas de identificação bacteriana do Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology (HOLT et al., 1994).

3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Com o objetivo de avaliar a influência da fase da lactação e da evolução do processo de secagem nas características estudadas durante o exame clínico das mamas optou-se, na análise estatística dos resultados, por usar o teste de Duas Proporções, com níveis de significância igual a 5 % ($p \leq 0,05$), conforme recomendaram BERQUÓ et al. (1981).

Para avaliar a influência da fase da lactação e da evolução do processo de secagem da glândula mamária nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo foram calculados os valores da média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação de cada parâmetro analisado, de acordo com os preceitos de estatística descritiva indicados por BERQUÓ et al. (1981), sendo, para esta finalidade, utilizado o programa computacional Microsoft Excel XP®.

Considerando quer no delineamento experimental desta dissertação as amostras eram dependentes, pois foram colhidas das mesmas glândulas mamárias ao longo do tempo, conferindo um caráter longitudinal à amostragem e que os dados não apresentavam uma Distribuição Normal optou-se pela utilização da metodologia estatística baseada nas Equações de Estimação Generalizadas – EEG (ARTES; BOTTER, 2005). Deve ser ressaltado que o caráter longitudinal da amostragem não permitiu a utilização de testes não paramétricos, pois estes exigem como pré-condição que as amostras sejam independentes.

Dentro das Equações de Estimação Generalizadas considerou-se o modelo de quase-verossimilhança o mais adequado, uma vez que este modelo permite a utilização de dados com distribuição não gaussiana e com comportamento longitudinal. O modelo de quase-verossimilhança não assume nenhuma forma específica para a distribuição de probabilidade da variável analisada, exigindo apenas que se faça uma hipótese sobre a relação entre a média e a variância da mesma (PAULA, 2004). Para a aplicação deste modelo estatístico utilizou-se o

programa de computação R Statistical Package versão 2.2.0.

A análise estatística descritiva com a finalidade de avaliar a influência da condição de saúde da glândula mamária (sadia, distúrbio de secreção e mamite) durante o processo de secagem nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea foi realizada utilizando, também, o programa computacional Microsoft Excel XP[®], sendo calculados os valores da média, desvio padrão e amplitude de variação de cada parâmetro analisado, de acordo com os preceitos de estatística descritiva indicados por BERQUÓ et al. (1981). Considerando que neste delineamento experimental as amostras eram independentes, pois os dados a serem comparados foram obtidos de mamas diferentes, aplicou-se, inicialmente, o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar se as variáveis estudadas apresentavam uma Distribuição Normal. Verificou-se que apenas a variável lactose apresentava Distribuição Gaussiana, aplicando-se na análise o Teste de Regressão Linear para a comparação entre os pares de médias. Para as demais variáveis estudadas (pH, eletrocondutividade, cloretos, índice cloretos/ lactose, gordura, proteína, sólidos totais e número de células totais), mesmo após transformação numérica para logaritmo na base 10, rejeitou-se a hipótese de Distribuição Normal.

Desta forma, para avaliar a influência da condição de saúde da glândula mamária (sadia, distúrbio de secreção e mamite) durante o processo de secagem optou-se pela utilização da metodologia estatística, baseada nos Modelos Lineares Generalizados, conforme recomendou Paula (2004).

Baseada nos princípios da regressão linear, a metodologia estatística dos Modelos Lineares Generalizados permite a análise de dados cuja distribuição não seja Gaussiana, sendo a Distribuição Gama aquela que melhor se adaptou as variáveis pH, eletrocondutividade, cloretos, índice cloretos/ lactose, gordura, proteína, sólidos totais e número de células totais. Antes da aplicação dos testes estatísticos o índice cloretos/lactose e o número de células somáticas sofreram transformação numérica para logaritmo na base 10, buscando um melhor ajuste ao Modelo de Distribuição Gama. Para a aplicação deste modelo estatístico utilizou-se o programa de computação R Statistical Package versão 2.2.0.

Complementando a análise estatística, utilizou-se, conforme recomendaram Berquó et al. (1981), o teste de Duas Proporções, com níveis de significância menor ou igual a 5%, para avaliar os percentuais de reações obtidas com o uso do California Mastitis Test – CMT, bem como para avaliar os resultados obtidos no exame microbiológico.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DO EXAME CLÍNICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, NA FASE FINAL DA LACTAÇÃO, NO 45 ° DIA DO PERÍODO SECO E NO RETORNO DA LACTAÇÃO

No gráfico 1 e tabela 1 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da palpação da **consistência da glândula mamária** na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação.

Durante a fase final da lactação, verificou-se que 36,4 % (16/44) das mamas apresentavam uma consistência semi-mole, que conferia à glândula mamária uma sensação delicada e macia, na qual podia-se palpar uma fina granulação representada pelos ácinos glandulares (Tipo II – Macia), enquanto 56,8 % (25/44) das mamas apresentavam uma consistência firme, na qual era possível a palpação de pequenos nódulos fibrosos dispersos pelo parênquima glandular (Tipo III – Firme).

A comparação das frequências das consistência da glândula mamária no final da lactação com aquelas observadas no 45º dia do período seco, iguais a 27,3 % (14/44) para mamas do Tipo II - Macia e 70,5 % (31/44) para mamas do Tipo III - Firme, não demonstrou diferenças estatísticas significantes.

No retorno da lactação, entretanto, observou-se alteração nas frequências dos tipos de consistência da glândula mamária, evidenciando diminuição na frequência de mamas classificadas como sendo do Tipo II - Macia (0,0 % - 0/26) e aumento da frequência de mamas classificadas como sendo do Tipo III - Firme (92,3 % - 24/26).

Uma análise da frequência de mamas que apresentavam uma consistência fibrosa, na qual podiam ser encontrados grandes nódulos fibrosos pelo parênquima glandular (Tipo IV – Fibrosada) evidenciou que o período seco da glândula mamária não influenciou os resultados, sendo que a frequência de mamas classificadas como sendo do Tipo IV- Fibrosada oscilou entre 2,2 (1/44) e 7,7 % (2/26).

ab – letras não coincidentes, considerando a fase da lactação e do período seco, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 1 - Avaliação da influência da fase da lactação e do período seco da glândula mamária nos resultados da palpação da consistência da glândula mamária de vacas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 1 - Avaliação dos resultados da palpação da **consistência da mama** de bovinos da raça Holandesa obtidos na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação, distribuídos segundo a influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem. São Paulo, 2006

Momento da Avaliação	Condição de Saúde	Consistência da Glândula Mamária					
		Tipo II Macia		Tipo III Firme		Tipo IV Fibrosada	
Na Fase Final da Lactação	Sadias	45,0 % (9/20)	a	50,0 % (10/20)	a	5,0 % (1/20)	a
	Distúrbios de Secreção	41,7 % (5/12)	a	58,3 % (7/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	16,7 % (2/12)	a	66,7 % (8/12)	a	16,7 % (2/12)	a
No 45º Dia do Período Seco	Sadias	35,0 % (7/20)	a	65,0 % (13/20)	a	0,0 % (0/20)	a
	Distúrbios de Secreção	25,0 % (3/12)	a	75,0 % (9/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	16,7 % (2/12)	a	75,0 % (9/12)	a	8,3 % (1/12)	a
No Retorno da Lactação	Sadias	0,0 % (0/12)	a	100,0 % (12/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Distúrbios de Secreção	0,0 % (0/7)	a	100,0 % (7/7)	a	0,0 % (0/7)	a
	Mamites	0,0 % (0/7)	a	71,4 % (5/7)	a	28,6 % (2/7)	a

a – letras coincidentes, na mesma coluna e considerando somente as comparações dentro de cada momento de avaliação (fase da lactação, 45º dia período seco ou retorno da lactação), significam diferença estatística não significativa ($p > 0,05$)

No gráfico 2 e tabela 2 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da palpação da **cisterna da glândula mamária** (palpação do *sinus lactifer*) na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação. Durante esta avaliação, observou-se que o período seco não determinou alterações perceptíveis na palpação da cisterna da glândula, sendo que nos momentos avaliados neste estudo verificou-se que entre 63,6 e 77,3 % das mamas não apresentavam resistência para a introdução do dedo na cisterna da glândula, entre 19,2 e 25,0 % apresentavam uma pequena resistência e entre 2,3 e 11,5 % apresentavam uma grande resistência para a introdução do dedo na cisterna da glândula mamária.

a – letras coincidentes, considerando a fase da lactação e do período seco, significam diferença estatística não significativa ($p > 0,05$)

Gráfico 2 - Avaliação da influência da fase da lactação e do período seco da glândula mamária nos resultados da palpação da **cisterna da glândula mamária** (palpação do *sinus lactifer*) de vacas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 2 - Avaliação dos resultados da palpação da **cisterna da glândula mamária** (palpação do *sinus lactifer*) de bovinos da raça Holandesa obtidos na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação, distribuídos segundo a influência da condição de saúde da glândula mamária, durante o processo de secagem. São Paulo, 2006

Momento da Avaliação	Condição de Saúde	Palpação da Cisterna da Glândula Resistência à introdução do dedo na cisterna					
		ausência de resistência		pequena resistência		grande resistência	
Na Fase Final da Lactação	Sadias	50,0 % (10/20)	a	35,0 % (7/20)	a	15,0 % (3/20)	a
	Distúrbios de Secreção	75,0 % (9/12)	a	8,3 % (1/12)	a	16,7 % (2/12)	a
	Mamites	75,0 % (9/12)	a	25,0 % (3/12)	a	0,0 % (0/12)	a
No 45º Dia do Período Seco	Sadias	85,0 % (17/20)	a	10,0 % (2/20)	a	5,0 % (1/20)	a
	Distúrbios de Secreção	83,3 % (10/12)	a	16,7 % (2/12)	ab	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	58,3 % (7/12)	a	41,7 % (5/12)	b	0,0 % (0/12)	a
No Retorno da Lactação	Sadias	58,4 % (7/12)	a	33,3 % (4/12)	a	8,3 % (1/12)	a
	Distúrbios de Secreção	100,0 % (7/7)	b	0,0 % (0/7)	a	0,0 % (0/7)	a
	Mamites	57,1 % (4/7)	ab	14,3 % (1/7)	a	28,6 % (2/7)	a

ab – letras não coincidentes, na mesma coluna e considerando somente as comparações dentro de cada momento de avaliação (fase da lactação, 45º dia período seco ou retorno da lactação) significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

No gráfico 3 e tabela 3 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da palpação da **cisterna do teto** (*sinus papillaris*) na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação.

Durante a fase final da lactação, verificou-se que em 72,7 % (32/44) dessas glândulas não foi perceptível a sensação da existência de um cordão endurecido no interior do teto, enquanto em 20,5 % (9/44) das mamas examinadas foi perceptível a presença de um delicado cordão endurecido no interior do teto.

A comparação das freqüências dos resultados da palpação dos tetos no final da lactação com aquelas observadas no 45º dia do período seco, iguais a 75,0 % (33/44) para mamas nas quais não foi perceptível a sensação da existência de um cordão endurecido no interior do teto e iguais a 25,0 % (9/44) para mamas nas quais foi perceptível a presença de um delicado cordão endurecido no interior do teto, não demonstrou diferenças estatísticas significantes.

No retorno da lactação, entretanto, evidenciou-se um aumento na freqüência de mamas nas quais não foi perceptível a sensação de um cordão intracisternal (96,2 % - 25/26) e uma diminuição da freqüência de mamas nas quais foi perceptível a presença de um delicado cordão endurecido no interior do teto (3,8 % - 1/26).

A análise da freqüência de mamas nas quais foi perceptível a presença de cordão endurecido de espessura considerável no interior do teto, evidenciou que os resultados oscilaram entre 0,0 % (0/44) e 6,8 % (3/44), sem que qualquer diferença estatística significativa fosse constatada.

ab – letras não coincidentes, considerando a fase da lactação e do período seco, significam diferença estatística significante ($p \leq 0,05$)

Gráfico 3 - Avaliação da influência da fase da lactação e do período seco da glândula mamária nos resultados da palpação da cisterna do teto (*sinus papillaris*) de vacas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 3 - Avaliação dos resultados da palpação da **cisterna do teto** (*sinus papillaris*) de bovinos da raça Holandesa obtidos na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação, distribuídos segundo a influência da condição de saúde da glândula mamária, durante o processo de secagem. São Paulo, 2006

Momento da Avaliação	Condição de Saúde	Palpação da Cisterna do Teto					
		Ausência de Cordão		Cordão Perceptível		Cordão de espessura considerável	
Na Fase Final da Lactação	Sadias	65,0 % (13/20)	a	25,0 % (5/20)	a	10,0 % (2/20)	a
	Distúrbios de Secreção	75,0 % (9/12)	a	25,0 % (3/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	83,3 % (10/12)	a	8,3 % (1/12)	a	8,3 % (1/12)	a
No 45º Dia do Período Seco	Sadias	85,0 % (17/20)	a	15,0 % (3/20)	a	0,0 % (0/20)	a
	Distúrbios de Secreção	75,0 % (9/12)	a	25,0 % (3/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	58,3 % (7/12)	a	41,7 % (5/12)	a	0,0 % (0/12)	a
No Retorno da Lactação	Sadias	100,0 % (12/12)	a	0,0 % (0/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Distúrbios de Secreção	100,0 % (7/7)	a	0,0 % (0/7)	a	0,0 % (0/7)	a
	Mamites	85,7 % (6/7)	a	14,3 % (1/7)	a	0,0 % (0/7)	a

a – letras coincidentes, na mesma coluna e considerando somente as comparações dentro de cada momento de avaliação (fase da lactação, 45º dia período seco ou retorno da lactação) significam diferença estatística não significante ($p>0,05$)

No gráfico 4 e tabela 4 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da ocorrência de **prolapso do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto** (*ductus papillaris*) na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação.

Na fase final da lactação, verificou-se que em 70,5 % (31/44) das mamas inspecionadas, o conduto do orifício do teto não apresentava prolapso do seu epitélio de revestimento, enquanto em 20,5 % (9/44) das mamas era perceptível a presença de prolapso de pequena severidade.

A comparação dessas frequências com aquelas observadas no 45º dia do período seco, demonstrou aumento na frequência de mamas nas quais o conduto do orifício do teto não apresentava prolapso do seu epitélio de revestimento (90,9 % - 40/44) e uma diminuição da frequência de mamas nas quais era perceptível a presença de prolapso de pequena severidade (2,3 % - 1/44).

A análise da frequência de mamas que apresentavam prolapso de grande severidade do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto evidenciou que os resultados oscilaram entre 6,8 % (3/44) e 11,5 % (3/26), sem que qualquer diferença estatística significativa fosse constatada.

No retorno da lactação, entretanto, a frequência de mamas que não apresentavam prolapso do seu epitélio de revestimento diminuiu (65,4 % - 17/26), enquanto a frequência de mamas nas quais era perceptível a presença de prolapso de pequena severidade (23,1 % - 6/26) retornou aos patamares observados na fase final da lactação.

ab – letras não coincidentes, considerando a fase da lactação e do período seco, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 4 - Avaliação da influência da fase da lactação e do período seco da glândula mamária na ocorrência e severidade do **prolapso do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto** (*ductus papillaris*) de vacas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 4 - Avaliação dos resultados da ocorrência e da severidade do **prolapso do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto** (*ductus papillaris*) de bovinos da raça Holandesa obtidos na fase final da lactação, no 45º dia do período seco e no retorno da lactação, distribuídos segundo a influência da condição de saúde da glândula mamária, durante o processo de secagem. São Paulo, 2006

Momento da Avaliação	Condição de Saúde	Inspeção do orifício do teto					
		ausência de prolapso		prolapso de pequena severidade		prolapso de grande severidade	
Na Fase Final da Lactação	Sadias	70,0 % (14/20)	a	25,0 % (5/20)	a	5,0 % (1/20)	a
	Distúrbios de Secreção	83,3 % (10/12)	a	16,7 % (2/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	58,3 % (7/12)	a	16,7 % (2/12)	a	25,0 % (3/12)	a
No 45º Dia do Período Seco	Sadias	95,0 % (19/20)	a	5,0 % (1/20)	a	0,0 % (0/20)	a
	Distúrbios de Secreção	100,0 % (12/12)	a	0,0 % (0/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Mamites	75,0 % (9/12)	a	0,0 % (0/12)	a	25,0 % (3/12)	a
No Retorno da Lactação	Sadias	83,3 % (10/12)	a	16,7 % (2/12)	a	0,0 % (0/12)	a
	Distúrbios de Secreção	57,1 % (4/7)	a	14,3 % (1/7)	a	28,6 % (2/7)	b
	Mamites	42,9 % (3/7)	a	42,9 % (3/7)	a	14,2 % (1/7)	ab

ab – letras não coincidentes, na mesma coluna e considerando somente as comparações dentro de cada momento de avaliação (fase da lactação, 45º dia período seco ou retorno da lactação) significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

4.2 AVALIAÇÃO DO EXAME CLÍNICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, DURANTE A EVOLUÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM DA MAMA

No gráfico 5 e tabela 5 foram apresentados os resultados relativos à palpação do grau de **plenitude e distensão da mama**, durante a evolução do processo de secagem.

No dia da última ordenha, antes do início do processo de secagem, verificou-se que 97,7 % (43/44) das mamas examinadas apresentavam uma moderada distensão, com pouco conteúdo no seu interior e nas quais era possível preguear a pele, enquanto 2,3 % (1/44) das mamas foram classificadas como distendidas, com conteúdo no seu interior e nas quais a pele podia ser pregueada com certa dificuldade.

Durante a evolução do processo de secagem observou-se que o grau de plenitude e distensão da mama sofreu significativas variações. Em uma fase inicial do processo de secagem, constatou-se o aumento do grau de distensão da mama, pois no primeiro dia após seu início houve um significativo aumento da frequência de mamas classificadas como distendidas (22,7% - 10/44) e diminuição da frequência de mamas classificadas como moderadamente distendidas (77,3 % - 34/44).

Após a distensão inicial da mama, observou-se que, com a evolução do processo de secagem, ocorria significativa diminuição do grau de plenitude e distensão, pois a frequência de mamas classificadas como distendidas diminuiu gradativamente com a evolução do período seco, passando de 22,7 % (10/44), encontradas no 1º dia após o início da secagem, para 4,5 % (2/44) no 7º dia e 0,0 % (0/44) no 30º dia do período seco. Em consequência a essa diminuição do grau de plenitude e distensão da mama, observou-se que entre o 1º e o 7º dia após o início da secagem ocorria um aumento da frequência de mamas classificadas como moderadamente distendidas e entre o 7º e 45º dia do início do processo de secagem a diminuição da frequência com que as mamas eram assim classificadas.

Paralelamente às alterações retro-referidas, constatou-se que a partir do 7º dia após o início do processo de secagem ocorria gradual aumento de mamas não distendidas, pequenas e vazias e nas quais a pele podia ser pregueada, sem maiores dificuldades e que correspondiam, neste momento, a 2,3% (1/44) do total de mamas examinadas. Entre o 10º dia e o 15º dia do processo de secagem, verificou-se que a frequência de mamas classificadas como não distendidas aumentou, respectivamente, para 18,2% (8/44) e 20,5% (9/44), enquanto no 30º dia e no 45º dia do processo, esta frequência foi igual a 61,4% (27/44) das mamas examinadas.

Complementando a avaliação do grau de plenitude e distensão da mama, foi verificado que no 45º dia do processo de secagem ocorria um aumento do percentual de mamas distendidas (9,1% - 4/44), sendo que este aumento estava relacionado às modificações na mama, observadas durante a fase preparatória do parto, ou seja, a proximidade do parto.

Gráfico 5 - Influência do processo de secagem da glândula mamária nos resultados obtidos durante a palpação do grau de **plenitude e distensão da mama** de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 5 - Resultados obtidos na avaliação do grau de **plenitude e distensão da mama**, por palpação, durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Plenitude e Distensão da Mama			
	não distendida	moderadamente distendida	distendida	extremamente distendida
Última Ordenha	0,0 % a (0/44)	97,7 % a (43/44)	2,3 % ab (1/44)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	77,3 % b (34/44)	22,7 % c (10/44)	0,0 % a (0/44)
3º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	79,5 % bc (35/44)	20,5 % c (9/44)	0,0 % a (0/44)
5º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	86,4 % abc (38/44)	13,6 % cd (6/44)	0,0 % a (0/44)
7º Dia da Secagem	2,3 % a (1/44)	93,2 % ac (41/44)	4,5 % abd (2/44)	0,0 % a (0/44)
10º Dia da Secagem	18,2 % b (8/44)	79,5 % bc (35/44)	2,3 % ab (1/44)	0,0 % a (0/44)
15º Dia da Secagem	20,5 % b (9/44)	77,3 % b (34/44)	2,3 % ab (1/44)	0,0 % a (0/44)
30º Dia da Secagem	61,4 % c (27/44)	38,6 % d (17/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
45º Dia da Secagem	61,4 % c (27/44)	29,5 % d (13/44)	9,1 % b (4/44)	0,0 % a (0/44)

abcd – letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Na tabela 6 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da ocorrência de **edema na mama** de fêmeas bovinas da raça Holandesa, durante a evolução do processo de secagem, sendo verificado que, durante o período estudado, não foi diagnosticado em nenhuma oportunidade a existência de edema.

Tabela 6 - Resultados obtidos na avaliação do grau de **edema da mama** durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Edema da Mama			
	ausente	restrito a base da mama	difuso por toda a mama	estendendo-se até o abdômen
Última Ordenha	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
3º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
5º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
7º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
10º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
15º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
30º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
45º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)

a – letras coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística não significativa ($p > 0,05$)

No gráfico 6 e tabela 7 foram apresentados os resultados relativos à **avaliação da distensão dos tetos** de fêmeas bovinas da raça Holandesa durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária.

No dia da última ordenha antes do início do processo de secagem da mama, verificou-se que 75,0 % (33/44) dos tetos examinados apresentavam moderada distensão com flutuação no seu interior e paredes relaxadas, enquanto 25,0 % (11/44) dos tetos foram classificados como distendidos, com flutuação no seu interior, paredes tensas e brilhantes, mas preservando ainda as pregas de pele.

Durante a evolução do processo de secagem da mama, observou-se que a avaliação dos tetos sofreu significativas variações. Numa fase inicial do processo de secagem constatou-se o aumento do grau de distensão dos tetos, pois no 1º dia da secagem houve um significativo aumento da frequência de tetos classificados como extremamente distendidos com paredes tensas, lisas e luzidios (9,1 % - 4/44), enquanto no 3º dia da secagem houve um significativo aumento da frequência de tetos classificados como distendidos com flutuação no seu interior, paredes tensas e brilhantes, mas preservando ainda as pregas de pele (63,6 % - 28/44). Em contra-partida a esse aumento, observou-se, nesses primeiros dias do período seco, uma diminuição da frequência de tetos classificados como moderadamente distendidos.

A partir do 7º dia do processo de secagem observou-se a diminuição do grau de distensão dos tetos, pois a frequência de tetos classificados como distendidos, encontrados no 7º dia, igual a 63,6 % (28/44), diminuiu gradativamente para 18,2 % (8/44) no 15º dia e 0,0 % (0/44) no 30º dia do processo de secagem da mama. Verificou-se, também, que a partir do 10º dia do processo de secagem nenhum teto foi classificado como extremamente distendido.

Paralelamente a estas alterações, constatou-se que a partir do 10º dia após o início do processo de secagem ocorria gradual aumento de tetos não distendidos, pequenos e vazios, sendo que entre o 10º e 30º dia do processo de secagem a frequência de tetos classificados como não distendidos aumentou de 4,5 % (2/44) para 59,1 % (26/44).

Complementando esta avaliação dos tetos, foi verificado que no 45º dia do processo de secagem ocorria um aumento do percentual de tetos classificados como distendidos, com flutuação no seu interior, paredes tensas e brilhantes, mas preservando ainda as pregas de pele (9,1% - 4/44), sendo que este aumento esteve relacionado às modificações no úbere, observadas durante a fase preparatória do parto, ou seja, a proximidade do parto.

Gráfico 6 - Influência do processo de secagem da glândula mamária nos resultados obtidos durante a **avaliação da distensão dos tetos** de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 7 - Resultados obtidos na avaliação da **palpação dos tetos** durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Avaliação dos Tetos			
	não distendido	moderadamente distendido	distendido	extremamente distendido
Última Ordenha	0,0 % a (0/44)	75,0 % a (33/44)	25,0 % abc (11/44)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	52,3 % bc (23/44)	38,6 % a (17/44)	9,1 % b (4/44)
3º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	27,3 % d (12/44)	63,6 % d (28/44)	9,1 % b (4/44)
5º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	27,3 % d (12/44)	61,4 % de (27/44)	11,4 % b (5/44)
7º Dia da Secagem	0,0 % a (0/44)	31,8 % bd (14/44)	63,6 % d (28/44)	4,5 % ab (2/44)
10º Dia da Secagem	4,5 % a (2/44)	54,5 % c (24/44)	40,9 % ae (18/44)	0,0 % a (0/44)
15º Dia da Secagem	29,5 % b (13/44)	52,3 % bc (23/44)	18,2 % b (8/44)	0,0 % a (0/44)
30º Dia da Secagem	59,1 % c (26/44)	40,9 % cd (18/44)	0,0 % c (0/44)	0,0 % a (0/44)
45º Dia da Secagem	61,4 % c (27/44)	29,5 % d (13/44)	9,1 % b (4/44)	0,0 % a (0/44)

abcd – letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

No gráfico 7 e tabela 8 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da ocorrência de **ejeção espontânea** de secreção láctea dos tetos de fêmeas bovinas da raça Holandesa, durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária.

Em decorrência à distensão das mamas e dos tetos pelo acúmulo de leite após a interrupção da ordenha, observou-se, no 1º dia e no 3º dia do processo de secagem, a ocorrência de ejeção espontânea de secreção láctea em 29,5 % (13/44) dos tetos avaliados. Com o evoluir do processo de secagem da mama este percentual diminuiu, sendo que no 15º dia do processo de secagem a ejeção espontânea foi observada em 9,1% (4/44) dos tetos avaliados, enquanto que no 30º dia do processo de secagem ocorreu em somente 2,3% (1/44) dos tetos.

Complementando esta avaliação, verificou-se que no 45º dia do período seco a ejeção espontânea de leite não foi observada em nenhuma das mamas avaliadas.

Gráfico 7 -Influência do processo de secagem da glândula mamária nos resultados obtidos durante a avaliação da ocorrência da **ejeção espontânea** de secreção láctea dos tetos de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 8 - Resultados obtidos na avaliação da ocorrência da **ejeção espontânea** de secreção láctea dos tetos, durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Ocorrência da Ejeção Espontânea de Secreção Láctea			
	Sadio	Distúrbio de Secreção	Mamite	Total
Última Ordenha	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	15,0 % ab (3/20)	33,3 % b (4/12)	50,0 % b (6/12)	29,5 % b (13/44)
3º Dia da Secagem	30,0 % b (6/20)	25,0 % ab (3/12)	33,3 % bc (4/12)	29,5 % b (13/44)
5º Dia da Secagem	10,0 % ab (2/20)	25,0 % ab (3/12)	8,3 % ac (1/12)	13,6 % bc (6/44)
7º Dia da Secagem	10,0 % ab (2/20)	25,0 % ab (3/12)	16,7 % abc (2/12)	15,9 % bc (7/44)
10º Dia da Secagem	15,0 % ab (3/20)	25,0 % ab (3/12)	16,7 % abc (2/12)	18,2 % bc (8/44)
15º Dia da Secagem	10,0 % ab (2/20)	16,7 % ab (2/12)	0,0 % a (0/12)	9,1 % cd (4/44)
30º Dia da Secagem	0,0 % b (0/20)	8,3 % ab (1/12)	0,0 % a (0/12)	2,3 % ad (1/44)
45º Dia da Secagem	0,0 % b (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/44)

abcd – letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

No gráfico 8 e tabela 9 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da **quantidade de secreção láctea** presente na mama de fêmeas bovinas da raça Holandesa, durante a evolução do processo de secagem.

Conforme pode ser visualizado na tabela 9 e no gráfico 9, até o 5º dia do início do processo de secagem em 100,0 % (44/44) das mamas era possível a ordenha de mais de 100ml de secreção láctea. A partir do 15º dia do processo de secagem evidenciou-se uma diminuição da quantidade de secreção presente na mama, sendo que entre o 15º e o 30º dia do período seco observou-se que a frequência de mamas nas quais era possível a ordenha de mais de 100 ml de secreção diminuiu de 86,4 % (38/44) para 47,7 % (21/44).

A avaliação dos resultados relativos à quantidade de secreção láctea no 45º dia do processo de secagem evidenciou que em somente 34,1 % (15/44) das mamas era possível a ordenha de mais de 100 ml, enquanto em 25,0 % (11/44) das mamas obteve-se menos de 10 ml, em 25,0 % (11/44) das mamas entre 10 e 40 ml; em 9,1 % (4/44) das mamas entre 40 e 70 ml e em 6,8 % (3/44) das mamas obteve-se entre 70 e 100 ml de secreção láctea.

Gráfico 8 - Influência do processo de secagem da glândula mamária nos resultados obtidos durante a avaliação da **quantidade de secreção láctea** presente na mama de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 9 - Resultados obtidos na avaliação da **quantidade de secreção láctea** presente na mama, durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Quantidade de Leite na Mama				
	> 100 ml	70 – 100 ml	40 – 70 ml	10 – 40 ml	≤ 10 ml
Última Ordenha	100,0 % a (44/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	100,0 % a (44/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
3º Dia da Secagem	100,0 % a (44/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
5º Dia da Secagem	100,0 % a (44/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
7º Dia da Secagem	97,7 % ab (43/44)	0,0 % a (0/44)	2,3 % ab (1/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
10º Dia da Secagem	97,7 % ab (43/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	2,3 % a (1/44)	0,0 % a (0/44)
15º Dia da Secagem	86,4 % b (38/44)	4,5 % ab (2/44)	4,5 % ab (2/44)	4,5 % a (2/44)	0,0 % a (0/44)
30º Dia da Secagem	47,7 % c (21/44)	11,4 % b (5/44)	11,4 % b (5/44)	22,7 % b (10/44)	6,8 % a (3/44)
45º Dia da Secagem	34,1 % c (15/44)	6,8 % ab (3/44)	9,1 % b (4/44)	25,0 % b (11/44)	25,0 % b (11/44)

abc – letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

No gráfico 9 e tabela 10 foram apresentados os resultados relativos à avaliação do **aspecto da secreção láctea** das mamas de fêmeas bovinas da raça Holandesa, durante a evolução do processo de secagem.

No dia da última ordenha antes do início do processo de secagem da mama, verificou-se que 100,0 % (44/44) das glândulas mamárias examinadas apresentam uma secreção láctea cujo aspecto era de leite.

Durante a evolução do processo de secagem da mama observou-se que o aspecto da secreção láctea sofreu significativas variações. Numa fase inicial do processo constatou-se a diminuição da frequência de secreções classificadas como leite, sendo que a mesma foi substituída por uma secreção aquosa de coloração branca ou creme clara, mas que, ainda, mantinha o aspecto de leite. No 1º dia da secagem observou-se que a frequência de secreção semelhante ao leite foi igual a 97,7 % (43/44) e secreção aquosa branca ou creme, mantendo, ainda, o aspecto de leite foi igual a 2,3 % (1/44), enquanto no 7º dia após o início do processo de secagem os percentuais de mamas com secreção de leite foi igual a 45,5 % (20/44) e com secreção aquosa com aspecto de leite foi igual a 36,4 % (16/44).

Com o transcorrer do período seco observou-se que a frequência de mamas com secreção de leite continuou a diminuir, pois no 30º dia de secagem observou-se este tipo de secreção em somente 9,1 % (4/44) das mamas, enquanto que no 45º dia do período seco, este tipo de secreção não foi mais observado em nenhuma das glândulas mamárias avaliadas. Relativo a ocorrência de secreções com aspecto aquoso, no 30º dia do período seco observou-se uma frequência igual a 61,4 % (27/44) nas mamas avaliadas.

Paralelamente a essas alterações, verificou-se que a partir do 7º dia do período seco 18,2 % (8/44) das mamas apresentavam uma secreção com aspecto viscoso de coloração amarelada, sendo que entre o 10º e o 45º dia do processo de secagem esse aspecto de secreção foi observado entre 18,2 % (8/44) e 29,5 % (13/44) das mamas examinadas.

Complementando a avaliação do aspecto da secreção láctea, foi verificado que a partir do 30º dia do processo de secagem ocorria um aumento do percentual de mamas que apresentavam uma secreção pré-colostral, cujo aspecto era semelhante a mel ou ao soro lácteo, sendo que esta condição foi observada em 11,4 % (5/44) das mamas no 30º dia do período seco e em 40,9 % (18/44) das mamas no 45º dia do período seco.

Gráfico 9 - Influência do processo de secagem da glândula mamária no aspecto da secreção láctea presente na mama de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 10 - Resultados obtidos na avaliação do **aspecto da secreção láctea** presente na mama, durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Aspecto da Secreção Láctea			
	Leite	Aquoso	Viscoso	Pré-colostro
Última Ordenha	100,0 % a (44/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	97,7 % a (43/44)	2,3 % a (1/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
3º Dia da Secagem	75,0 % b (33/44)	25,0 % b (11/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
5º Dia da Secagem	72,7 % b (32/44)	27,3 % b (12/44)	0,0 % a (0/44)	0,0 % a (0/44)
7º Dia da Secagem	45,5 % c (20/44)	36,4 % b (16/44)	18,2 % b (8/44)	0,0 % a (0/44)
10º Dia da Secagem	34,1 % c (15/44)	38,6 % b (17/44)	27,3 % b (12/44)	0,0 % a (0/44)
15º Dia da Secagem	34,1 % c (15/44)	38,6 % b (17/44)	27,3 % b (12/44)	0,0 % a (0/44)
30º Dia da Secagem	9,1 % d (4/44)	61,4 % c (27/44)	18,2 % b (8/44)	11,4 % b (5/44)
45º Dia da Secagem	0,0 % e (0/44)	29,5 % b (13/44)	29,5 % b (13/44)	40,9 % c (18/44)

abcde – letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

No gráfico 10 e tabela 11 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da **ocorrência de grumos na secreção láctea** de fêmeas bovinas da raça Holandesa, durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária.

Conforme pode ser visualizado na tabela 11 e no gráfico 10, a partir do 3º dia do início do processo de secagem, verificou-se a presença de grumos na secreção láctea, em diferentes frequências, durante todos os momentos acompanhados. No período compreendido entre o 3º e o 7º dia do processo de secagem, observou-se maiores porcentagens de grumos na secreção láctea comparado aos demais momentos, com frequências respectivamente iguais a 15,9% (7/44); 31,8% (14/44) e 25,0% (11/44). A partir do 10º dia do processo de secagem, evidenciou-se uma diminuição na frequência de grumos na secreção láctea, sendo que entre o 10º e o 30º dia do período seco observou-se que a frequência de grumos variou de 6,8% (3/44) para 9,1% (4/44).

Complementando esta avaliação, verificou-se que no 45º dia do período seco 11,4% (5/44) das mamas apresentaram grumos em suas secreções.

Gráfico 10 - Influência do processo de secagem da glândula mamária na **ocorrência de grumos na secreção láctea** de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 11 - Resultados obtidos na avaliação da **ocorrência de grumos na secreção láctea** durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Ocorrência de Grumos na Secreção Láctea			
	Sadio	Distúrbio de Secreção	Mamite	Total
Última Ordenha	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/44)
1º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/44)
3º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	33,3 % b (4/12)	25,0 % ab (3/12)	15,9 % bc (7/44)
5º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	33,3 % b (4/12)	83,3 % c (10/12)	31,8 % b (14/44)
7º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	16,7 % ab (2/12)	75,0 % c (9/12)	25,0 % bd (11/44)
10º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	8,3 % ab (1/12)	16,7 % ab (2/12)	6,8 % ac (3/44)
15º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	25,0 % ab (3/12)	6,8 % ac (3/44)
30º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	33,3 % b (4/12)	9,1 % c (4/44)
45º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	8,3 % a (1/12)	33,3 % b (4/12)	11,4 % cd (5/44)

abcd – letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

No gráfico 11 e tabela 12 foram apresentados os resultados relativos à avaliação das **características dos grumos** presentes na secreção láctea durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, considerando nesta avaliação somente as 47 secreções lácteas, nas quais foram detectadas a presença de grumos. Verificou-se que 36,2 % (17/47) dessas secreções apresentavam presença de pequenos grumos (classificadas como B), 36,2 % (17/47) dessas secreções apresentavam presença de alguns grumos grandes (classificadas como C), 19,1 % (9/47) dessas secreções apresentavam presença de inúmeros grumos grandes (classificadas como D) e 8,5 % (4/47) dessas secreções apresentavam predomínio de massas purulentas (classificadas como E).

Gráfico 11 - Avaliação das **características dos grumos** presentes na secreção láctea durante o processo de secagem da mama de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 12 - Resultados obtidos na avaliação das **características dos grumos na secreção láctea** durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita	Características dos Grumos na Secreção Láctea			
	B	C	D	E
Última Ordenha	0,0 % (0/0)	0,0 % (0/0)	0,0 % (0/0)	0,0 % (0/0)
1º Dia da Secagem	0,0 % (0/0)	0,0 % (0/0)	0,0 % (0/0)	0,0 % (0/0)
3º Dia da Secagem	28,6 % (2/7)	42,9 % (3/7)	14,3 % (1/7)	14,3 % (1/7)
5º Dia da Secagem	21,4 % (3/14)	57,1 % (8/14)	7,1 % (1/14)	14,3 % (2/14)
7º Dia da Secagem	45,5 % (5/11)	18,2 % (2/11)	36,4 % (4/11)	0,0 % (0/11)
10º Dia da Secagem	100,0 % (3/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
15º Dia da Secagem	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	66,7 % (2/3)	33,3 % (1/3)
30º Dia da Secagem	25,0 % (1/4)	50,0 % (2/4)	25,0 % (1/4)	0,0 % (0/4)
45º Dia da Secagem	60,0 % (3/5)	40,0 % (2/5)	0,0 % (0/5)	0,0 % (0/5)

A avaliação dos resultados apresentados na tabela 12, relativo a avaliação das **características dos grumos** na secreção láctea durante o período seco não evidenciou variações significativas que pudessem ser relacionadas com a evolução do processo de secagem da glândula mamária.

No gráfico 12 foram apresentados os resultados relativos à avaliação das **características dos grumos** presentes na secreção láctea, de acordo com o estado de saúde da mama, de fêmeas bovinas da raça Holandesa, durante a evolução do processo de secagem.

Na secreção láctea de mamas com distúrbio de secreção durante o processo de secagem, verificou-se com maior frequência a ocorrência de secreções que apresentavam presença de pequenos grumos (classificadas como B), correspondendo a 50,0 % (6/12) do total das alterações encontradas e secreções que apresentavam presença de alguns grumos grandes (classificadas como C), correspondendo a (41,7 % - 5/12) do total das alterações encontradas. Ao avaliar-se a

freqüência de secreções que apresentavam inúmeros grumos grandes (classificadas como D) e predomínio de massas purulentas (classificadas como E) verificou-se que eram pouco freqüentes, respectivamente, iguais a 8,3 % (1/12) e 0,0 % (0/12).

Na secreção láctea de mamas nas quais foi diagnosticado mamite durante o processo de secagem, verificou-se, também, que secreções que apresentavam presença de pequenos grumos (classificadas como B) e que apresentavam presença de alguns grumos grandes (classificadas como C) foram mais freqüentemente observadas, correspondendo, respectivamente, a 31,4 % (11/35) e 34,3 % (12/35) do total das alterações encontradas. Ao avaliar a freqüência de secreções que apresentavam inúmeros grumos grandes (classificadas como D) e predomínio de massas purulentas (classificadas como E) verificou-se que esse tipo de secreção foi observada com relativa freqüência, respectivamente, iguais a 22,9% (8/35) e 11,4% (4/35).

Gráfico 12 - Avaliação das **características dos grumos** presentes na secreção láctea durante o processo de secagem, de acordo com a condição de saúde da mama de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

4.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO

Para avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea foram considerados somente os 20 quartos mamários que não apresentaram alterações na palpação de suas estruturas e alterações macroscópicas da secreção láctea, ou seja, as mamas consideradas sadias. A análise dos resultados apresentados no gráfico 12 e na tabela 13 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos valores do **pH** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas entre o 1º e o 3º dia do início do processo de secagem verificou-se que os valores do pH aumentaram, abruptamente, passando de $6,76 \pm 0,2$ para $7,08 \pm 0,27$. A partir desse momento observou-se, um gradual aumento dos valores do pH, sendo que em amostras colhidas entre o 10º e o 45º dia do início do processo de secagem verificou-se a tendência à estabilização dos valores que oscilaram entre $7,24 \pm 0,25$ e $7,30 \pm 0,25$. No retorno da lactação os valores de pH foram semelhantes aos encontrados na fase final da lactação.

abcdefg – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 13 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos valores de **pH** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 13 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos valores de **pH** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

	Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média	Desvio Padrão	Mediana	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação
	Na Fase Final da Lactação	20	6,75 ab	0,18	6,69	2,71	6,55 - 7,23
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	6,78 c	0,17	6,74	2,45	6,56 - 7,19
	1º Dia da Secagem	20	6,76 abc	0,20	6,70	3,00	6,51 - 7,19
	3º Dia da Secagem	20	7,08 d	0,27	6,96	3,75	6,77 - 7,61
	5º Dia da Secagem	20	7,15 de	0,32	7,20	4,41	6,59 - 7,64
	7º Dia da Secagem	20	7,16 de	0,22	7,21	3,12	6,55 - 7,46
	10º Dia da Secagem	20	7,28 f	0,15	7,29	2,00	7,03 - 7,47
	15º Dia da Secagem	20	7,34 g	0,13	7,36	1,83	7,05 - 7,59
	30º Dia da Secagem	20	7,24 ef	0,25	7,32	3,48	6,66 - 7,49
	45º Dia da Secagem	19	7,30 efg	0,25	7,36	3,44	6,81 - 7,60
	No Retorno da Lactação	12	6,65 b	0,08	6,63	1,27	6,51 - 6,81

abcdefg – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 14 e na tabela 14 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos valores de **eletrocondutividade** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas entre a última ordenha antes do início do processo de secagem e o 3º dia do início do processo de secagem verificou-se que os valores de eletrocondutividade na secreção láctea aumentaram, abruptamente, passando de $5,63 \pm 1,03$ mS/cm para $8,02 \pm 1,55$ mS/cm.

Apesar da existência de diferenças estatisticamente significantes entre os pares de médias, a análise do comportamento da curva desta variável evidenciou que, no período compreendido entre o 3º e o 45º dia do início do processo de secagem, os valores de eletrocondutividade sofreram flutuações sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição dos valores pudesse ser constatada.

No retorno da lactação os valores de eletrocondutividade ($5,54 \pm 0,70$ nS/cm) foram estatisticamente menores do que os encontrados na fase final da lactação ($5,75 \pm 0,94$ mS/cm) e na última ordenha antes do processo de secagem da mama ($5,63 \pm 1,03$ mS/cm).

Gráfico 14 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos valores de **eletrocondutividade** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 14 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos valores de **eletrocondutividade** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

		Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (mS/cm)	Desvio Padrão (mS/cm)	Mediana (mS/cm)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (mS/cm)
Na Fase Final da Lactação			20	5,75 a	0,94	5,35	16,37	6,55 - 7,23
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha		20	5,63 ab	1,03	5,30	18,33	6,56 - 7,19
	1º Dia da Secagem		20	6,07 c	1,00	5,75	16,51	6,51 - 7,19
	3º Dia da Secagem		20	8,02 d	1,55	7,90	19,36	6,77 - 7,61
	5º Dia da Secagem		20	8,10 d	1,37	8,35	16,86	6,59 - 7,64
	7º Dia da Secagem		20	7,50 e	1,22	7,25	16,22	6,55 - 7,46
	10º Dia da Secagem		20	7,54 e	1,46	6,70	19,36	7,03 - 7,47
	15º Dia da Secagem		20	8,14 df	1,50	7,65	18,45	7,05 - 7,59
	30º Dia da Secagem		20	7,97 def	1,93	8,35	24,27	6,66 - 7,49
	45º Dia da Secagem		19	8,35 df	1,33	8,00	15,98	6,81 - 7,60
No Retorno da Lactação			12	5,54 b	0,70	5,25	12,56	6,51 - 6,81

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 15 e na tabela 15 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **cloretos** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas entre a última ordenha e o 3º dia antes do início do processo de secagem verificou-se que os teores de cloretos na secreção láctea aumentaram, abruptamente, passando de $132,33 \pm 31,51$ para $242,20 \pm 51,07$ mg/dl.

No período compreendido entre o 3º dia e o 10º dia do processo de secagem foram observadas oscilações nos valores sem que diferenças estatísticas fossem observadas. A partir do 15º dia do início do processo de secagem os teores de cloretos voltaram a aumentar, sendo verificado que os valores encontrados no 45º dia do início do processo de secagem ($287,66 \pm 28,83$ mg/dl) foram maiores do que os encontrados no 15º do início do processo de secagem dia ($267,76 \pm 36,84$ mg/dl). No retorno da lactação os teores de cloreto ($112,56 \pm 26,16$ mg/dl) foram estatisticamente menores do que os encontrados na fase final da lactação ($137,30 \pm 32,32$ mg/dl), mas similares aos encontrados na última ordenha antes do processo de secagem da mama ($132,33 \pm 31,51$ mg/dl).

Gráfico 15 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **cloretos** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 15 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos teores de **cloretos** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

		Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (mg/dl)	Desvio Padrão (mg/dl)	Mediana (mg/dl)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (mg/dl)
Na Fase Final da Lactação			20	137,30 a	32,32	127,80	23,54	102,95 - 214,78
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha		20	132,33 ab	31,51	121,59	23,81	101,18 - 218,33
	1º Dia da Secagem		20	156,82 c	38,00	149,10	24,23	106,50 - 264,48
	3º Dia da Secagem		20	242,20 d	51,07	235,19	21,09	181,05 - 344,35
	5º Dia da Secagem		20	254,54 de	50,37	253,83	19,79	184,60 - 360,33
	7º Dia da Secagem		20	244,95 d	34,66	239,63	14,15	193,48 - 333,70
	10º Dia da Secagem		20	252,05 d	27,59	247,61	10,95	209,45 - 299,98
	15º Dia da Secagem		20	267,76 ef	36,84	256,49	13,76	228,98 - 360,33
	30º Dia da Secagem		20	274,15 f	30,68	276,90	11,19	205,90 - 330,15
	45º Dia da Secagem		19	287,66 g	28,83	285,78	10,02	248,50 - 347,90
No Retorno da Lactação			12	112,56 b	26,16	102,95	23,24	78,10 - 154,43

abcdefg – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 16 e na tabela 16 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **lactose** da secreção láctea.

Ao contrário das características anteriormente descritas, os valores de lactose sofreram uma diminuição abrupta entre a última ordenha antes do início do período seco e o 5º dia do início do processo de secagem, passando de $4,23 \pm 0,57$ g/dl para $1,73 \pm 0,86$ g/dl.

Nas amostras colhidas entre o 5º e o 30º do início do processo de secagem verificou-se que os valores de lactose continuaram diminuindo, porém de forma gradual, atingindo valores iguais a $1,20 \pm 0,35$ g/dl no 30º dia após o início do processo de secagem. No período compreendido entre o 30º e o 45º dia do início do processo de secagem não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os pares de médias.

No retorno da lactação os teores de lactose no leite ($4,42 \pm 0,35$ g/dl) foram equivalentes aos encontrados na fase final da lactação ($4,20 \pm 0,56$ g/dl) e na última ordenha antes do início do processo de secagem da mama ($4,23 \pm 0,57$ g/dl).

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 16 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **lactose** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 16: Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos teores de **lactose** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

	Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (g/dl)	Desvio Padrão (g/dl)	Mediana (g/dl)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (g/dl)
	Na Fase Final da Lactação	20	4,20 a	0,56	4,39	13,42	2,54 - 4,79
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	4,23 a	0,57	4,41	13,37	2,58 - 4,70
	1º Dia da Secagem	20	4,03 b	0,60	4,31	14,85	2,44 - 4,53
	3º Dia da Secagem	20	2,45 c	0,83	2,56	33,86	0,65 - 3,43
	5º Dia da Secagem	20	1,73 d	0,86	1,46	49,82	0,42 - 2,87
	7º Dia da Secagem	20	1,65 d	0,61	1,58	37,09	0,71 - 2,52
	10º Dia da Secagem	20	1,40 e	0,43	1,35	30,37	0,60 - 2,28
	15º Dia da Secagem	19	1,46 e	0,48	1,44	32,72	0,38 - 2,17
	30º Dia da Secagem	12	1,20 f	0,35	1,17	29,57	0,61 - 1,84
	45º Dia da Secagem	9	1,31 ef	0,52	1,40	39,73	0,70 - 2,23
	No Retorno da Lactação	12	4,42 a	0,35	4,52	8,03	3,88 - 4,85

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 17 e na tabela 17 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos valores do **índice cloretos/lactose** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas entre a última ordenha antes do início do período seco e o 5º dia do processo de secagem verificou-se que os valores do índice cloretos/lactose na secreção láctea aumentaram, abruptamente, passando de $3,34 \pm 1,67\%$ para $21,65 \pm 16,40\%$.

Apesar da existência de diferenças estatisticamente significantes entre os pares de médias, a análise do comportamento da curva desta variável evidenciou que, no período compreendido entre o 5º e o 45º dia do início do processo de secagem, os valores do índice cloretos/ lactose sofreram flutuações sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição dos valores pudesse ser constatada.

No retorno da lactação os valores do índice cloretos/lactose ($2,60 \pm 0,82 \%$) foram equivalentes aos encontrados na fase final da lactação ($3,44 \pm 1,61 \%$) e na última ordenha antes do processo de secagem da mama ($3,34 \pm 1,67 \%$).

abcdefg – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 17 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos valores do **índice cloretos/ lactose** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 17 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos valores do **índice cloretos/ lactose** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

		Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (%)	Desvio Padrão (%)	Mediana (%)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (%)
Na Fase Final da Lactação			20	3,44 ab	1,61	2,75	46,79	2,30 - 8,46
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha		20	3,34 b	1,67	2,80	50,11	2,24 - 8,32
	1º Dia da Secagem		20	4,16 c	2,02	3,53	48,49	2,35 - 10,84
	3º Dia da Secagem		20	12,99 d	10,74	8,82	82,70	5,36 - 49,70
	5º Dia da Secagem		20	21,65 ef	16,40	19,85	75,78	6,43 - 68,04
	7º Dia da Secagem		20	17,87 e	9,64	15,77	53,93	8,20 - 47,00
	10º Dia da Secagem		20	20,49 eg	9,84	17,25	48,02	10,12 - 47,93
	15º Dia da Secagem		19	23,28 aefg	18,81	18,01	80,80	10,72 - 87,82
	30º Dia da Secagem		12	26,40 af	11,74	23,98	44,46	14,47 - 54,12
	45º Dia da Secagem		9	25,50 fg	13,08	19,53	51,29	11,78 - 44,74
No Retorno da Lactação			12	2,60 bc	0,82	2,22	31,51	1,75 - 3,98

abcdefg – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 18 e na tabela 18 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **gordura** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas no 1º dia do início do processo de secagem observou-se os valores mínimos para esta variável e a partir desse momento, entre o 1º e o 7º dia do início do processo de secagem verificou-se que os valores de gordura na secreção láctea aumentaram gradualmente, passando de $2,02 \pm 1,14$ g/dl para $7,97 \pm 3,60$ g/dl.

Após permanecerem estabilizados entre o 7º e 10º dia do início do processo de secagem, verificou-se no período compreendido entre o 10º e o 45º dia do início do processo de secagem o decréscimo dos teores de gordura na secreção láctea, passando de $7,70 \pm 4,54$ g/dl para $2,27 \pm 2,26$ g/dl.

Os teores de gordura observados no retorno da lactação ($2,89 \pm 1,05$ g/dl) foram equivalentes aos encontrados em amostras colhidas no 45º dia do início do processo de secagem da mama ($2,27 \pm 2,26$ g/dl).

abcdehghij – letras não coincidentes significam diferença estatística significante ($p \leq 0,05$)

Gráfico 18 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **gordura** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 18 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos teores de **gordura** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

	Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (g/dl)	Desvio Padrão (g/dl)	Mediana (g/dl)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (g/dl)
	Na Fase Final da Lactação	20	3,82 abcd	1,80	2,99	47,10	1,30 - 6,89
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	3,73 abe	1,16	3,58	31,06	1,80 - 5,91
	1º Dia da Secagem	20	2,02 fg	1,14	1,84	56,55	0,60 - 4,28
	3º Dia da Secagem	20	3,29 bh	2,14	2,87	65,01	0,66 - 7,77
	5º Dia da Secagem	20	5,63 i	2,01	5,71	35,71	1,28 - 10,88
	7º Dia da Secagem	20	7,97 j	3,60	8,05	45,24	1,49 - 14,84
	10º Dia da Secagem	20	7,70 j	4,54	7,75	58,99	0,09 - 13,10
	15º Dia da Secagem	19	4,80 acg	3,04	4,84	63,25	0,72 - 11,29
	30º Dia da Secagem	12	3,24 defh	2,71	1,57	83,76	0,92 - 8,14
	45º Dia da Secagem	9	2,27 fh	2,26	1,76	99,73	0,37 - 6,26
	No Retorno da Lactação	12	2,89 fh	1,05	2,48	36,16	1,67 - 4,84

abcdefghij – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 19 e na tabela 19 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **proteína** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas entre o 1º e o 15º dia do início do processo de secagem verificou-se que os teores de proteína na secreção láctea aumentaram de $4,22 \pm 0,83$ g/dl para $8,95 \pm 2,81$ g/dl

Apesar da existência de diferenças estatisticamente significantes entre os pares de médias, a análise do comportamento da curva desta variável evidenciou que, no período compreendido entre o 15º e o 45º dia do início do processo de secagem, os teores de proteína sofreram flutuações sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição dos valores pudesse ser constatada.

No retorno da lactação os teores de proteína ($3,67 \pm 0,63$ g/dl) foram estatisticamente menores do que os encontrados na fase final da lactação ($3,93 \pm 0,76$ g/dl), mas equivalentes aos encontrados na última ordenha antes do processo de secagem da mama ($3,95 \pm 0,73$ g/dl).

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 19 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **proteína** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 19 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos teores de **proteína** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

	Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (g/dl)	Desvio Padrão (g/dl)	Mediana (g/dl)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (g/dl)
	Na Fase Final da Lactação	20	3,93 a	0,76	3,85	19,49	2,72 - 5,63
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	3,95 ab	0,73	3,82	18,38	2,73 - 5,37
	1º Dia da Secagem	20	4,22 b	0,83	4,26	19,60	2,75 - 5,88
	3º Dia da Secagem	20	6,00 c	1,51	5,96	25,15	2,94 - 8,29
	5º Dia da Secagem	20	7,62 cd	1,65	7,59	21,70	4,08 - 9,98
	7º Dia da Secagem	20	8,30 cd	1,79	8,68	21,61	4,36 - 10,91
	10º Dia da Secagem	20	8,58 e	2,18	8,84	25,42	4,18 - 11,85
	15º Dia da Secagem	19	8,95 f	2,81	9,10	31,37	3,81 - 12,30
	30º Dia da Secagem	12	8,43 de	2,42	8,58	28,71	3,83 - 11,62
	45º Dia da Secagem	9	9,47 def	2,64	10,90	27,84	4,61 - 12,48
	No Retorno da Lactação	12	3,67 b	0,63	3,52	17,25	2,78 - 4,56

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 20 e na tabela 20 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **sólidos totais** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas no 1º dia do início do processo de secagem observaram-se os valores mínimos para esta variável e a partir desse momento, entre o 1º e o 7º dia do início do processo de secagem verificou-se que os valores de sólidos totais na secreção láctea aumentaram gradualmente, passando de $10,73 \pm 1,71$ g/dl para $16,35 \pm 4,32$ g/dl.

Após permanecerem estabilizados entre o 7º e 10º dia do início do processo de secagem, verificou-se no período compreendido entre o 10º e o 30º dia do início do processo de secagem o decréscimo dos teores de sólidos totais na secreção láctea, passando de $15,86 \pm 5,43$ g/dl para $10,81 \pm 3,18$ g/dl.

Os teores de sólidos totais observados no retorno da lactação ($11,82 \pm 1,07$ g/dl) foram equivalentes aos encontrados em amostras colhidas no 30º dia ($10,81 \pm 3,18$ g/dl) e no 45º dia do processo de secagem da mama ($10,73 \pm 3,44$ g/dl).

cdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 20 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos teores de **sólidos totais** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 20 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação dos teores de **sólidos totais** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

	Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (g/dl)	Desvio Padrão (g/dl)	Mediana (g/dl)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (g/dl)
	Na Fase Final da Lactação	20	12,73 ac	2,48	12,58	19,49	7,78 - 17,49
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	12,60 ace	2,11	12,62	16,74	7,09 - 16,27
	1º Dia da Secagem	20	10,73 bf	1,71	10,52	15,90	7,98 - 14,06
	3º Dia da Secagem	20	10,97 bf	3,55	10,59	32,38	3,88 - 17,18
	5º Dia da Secagem	20	13,52 c	3,50	13,48	25,90	6,38 - 18,94
	7º Dia da Secagem	20	16,35 d	4,32	16,87	26,45	8,76 - 22,72
	10º Dia da Secagem	20	15,86 d	5,43	17,42	34,25	4,31 - 21,90
	15º Dia da Secagem	19	13,23 ce	4,43	13,55	33,48	3,44 - 18,48
	30º Dia da Secagem	12	10,81 f	3,18	10,73	29,39	5,24 - 15,87
	45º Dia da Secagem	9	10,73 ef	3,44	11,76	32,08	5,90 - 16,56
	No Retorno da Lactação	12	11,82 f	1,07	11,63	9,05	9,45 - 13,54

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

A análise dos resultados apresentados no gráfico 21 e na tabela 21 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária no **número de células somáticas** da secreção láctea.

Nas amostras colhidas entre a última ordenha antes do início do processo de secagem e o 7º dia do início do processo de secagem verificou-se que o número de células somáticas na secreção láctea aumentou abruptamente, passando de $649.450 \pm 1.148.200$ células/ml para $4.898.850 \pm 691.640$ células/ml.

Entre o 7º e o 15º dia do início do processo de secagem verificou-se uma tendência à estabilização dos valores. A seguir, em amostras colhidas entre o 15º e o 30º dia do início do processo de secagem, observou-se um novo aumento do número de células de $4.903.210 \pm 1.749.290$ células/ml para $6.486.900 \pm 1.018.950$ células/ml.

No retorno da lactação o número de células somáticas (352.080 ± 374.360 células/ml) foi semelhante aos encontrados na fase final da lactação ($857.600 \pm 1.813.370$ células/ml) e na última ordenha antes do processo de secagem da mama ($649.450 \pm 1.148.200$ células/ml).

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 21 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária no **número de células somáticas** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 21 - Média, desvio padrão, mediana, coeficiente de variação e amplitude de variação do **número de células somáticas** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

	Momentos de Colheita	Número de Quartos	Média (x 10 ³ /ml)	Desvio Padrão (x 10 ³ /ml)	Mediana (x 10 ³ /ml)	Coeficiente de Variação (%)	Amplitude de Variação (x 10 ³ /ml)
	Na Fase Final da Lactação	20	857,60 ab	1.813,37	297,00	211,45	93,00 – 8.317,00
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	649,45 a	1.148,20	223,50	176,80	103,00 – 5.191,00
	1º Dia da Secagem	20	941,15 b	1.267,15	345,00	134,64	69,00 – 4.956,00
	3º Dia da Secagem	20	1.930,45 c	1.448,87	1.689,00	75,05	202,00 – 7.009,00
	5º Dia da Secagem	20	3.015,30 d	1.384,63	2.740,00	45,92	1.357,00 – 5.923,00
	7º Dia da Secagem	20	4.898,85 e	691,64	5.114,00	14,12	3.644,00 – 6.164,00
	10º Dia da Secagem	20	4.800,10 e	2.249,27	4.228,50	46,86	824,00 – 9.605,00
	15º Dia da Secagem	19	4.903,21 e	1.749,29	4.957,00	35,68	609,00 – 7.051,00
	30º Dia da Secagem	10	6.486,90 f	1.018,95	6.201,00	15,71	5.198,00 – 8.591,00
	45º Dia da Secagem	8	6.424,00 f	2.087,51	5.496,00	32,50	4.297,00 – 9.570,00
	No Retorno da Lactação	12	352,08 a	374,36	260,00	106,33	86,00 – 1.495,00

abcdef – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa (p ≤ 0,05)

A análise dos resultados apresentados na tabela 22 demonstrou a significativa influência do processo de secagem da glândula mamária nos resultados do **“California Mastitis Test” – CMT** de bovinos da raça Holandesa.

A frequência de reações negativas ao CMT, observada na fase final da lactação e na última ordenha, respectivamente iguais a 55,0 % (11/20) e 65,0 % (13/20), diminuiu significativamente nos primeiros dias do período seco, sendo que no 3º dia essa frequência era igual a 10,0 % (2/20) e a partir do 5º dia do processo de secagem nenhuma das amostras avaliadas durante o período seco apresentou reação negativa ao teste.

O aumento da celularidade observado durante a evolução do processo de secagem pode, também, ser verificado pelo aumento da frequência de amostras reagentes ao CMT, sendo que entre o 7º e o 45º dia do período seco verificou-se que 100% das reações ao CMT foram classificadas como duas ou três cruces.

No retorno da lactação observou-se que 83,3% (10/12) das amostras colhidas apresentaram reação negativa ao CMT, enquanto 8,3 % (1/12) das reações foram classificadas como meia cruz e 8,3 % (1/12) das reações foram classificadas como uma cruz, sendo que nenhuma amostra foi classificada como apresentando reações de duas ou três cruces.

Tabela 22 - Frequência dos graus de intensidade da reação do **California Mastitis Test (CMT)** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Reação do CMT				
		---	(+)--	+--	++-	+++
Na Fase Final da Lactação		55,0 % ab (11/20)	0,0 % a (0/20)	30,0 % a (6/20)	10,0 % ab (2/20)	5,0 % a (1/20)
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	65,0 % ab (13/20)	5,0 % ab (1/20)	15,0 % ab (3/20)	5,0 % ac (1/20)	10,0 % a (2/20)
	1º Dia da Secagem	40,0 % a (8/20)	25,0 % b (5/20)	10,0 % ab (2/20)	20,0 % bc (4/20)	5,0 % a (1/20)
	3º Dia da Secagem	10,0 % c (2/20)	0,0 % a (0/20)	25,0 % ac (5/20)	60,0 % d (12/20)	5,0 % a (1/20)
	5º Dia da Secagem	0,0 % c (0/20)	0,0 % a (0/20)	5,0 % bc (1/20)	35,0 % bd (7/20)	60,0 % b (12/20)
	7º Dia da Secagem	0,0 % c (0/20)	0,0 % a (0/20)	0,0 % b (0/20)	10,0 % ab (2/20)	90,0 % c (18/20)
	10º Dia da Secagem	0,0 % c (0/20)	0,0 % a (0/20)	0,0 % b (0/20)	10,0 % ab (2/20)	90,0 % c (18/20)
	15º Dia da Secagem	0,0 % c (0/20)	0,0 % a (0/20)	0,0 % b (0/20)	0,0 % a (0/20)	100,0 % c (20/20)
	30º Dia da Secagem	0,0 % c (0/19)	0,0 % a (0/19)	0,0 % b (0/19)	0,0 % a (0/19)	100,0 % c (19/19)
	45º Dia da Secagem	0,0 % c (0/16)	0,0 % a (0/16)	0,0 % b (0/16)	18,8 % ab (3/16)	81,3 % bc (13/16)
No Retorno da Lactação		83,3 % b (10/12)	8,3 % ab (1/12)	8,3 % ab (1/12)	0,0 % ac (0/12)	0,0 % a (0/12)

abcd – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

4.4 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO DE SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA, DURANTE O PROCESSO DE SECAGEM, NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO

A análise dos resultados apresentados no gráfico 22 e na tabela 23 demonstrou que a condição de saúde da glândula mamária durante a evolução do processo de secagem não influenciou os valores do **pH** da secreção láctea..

A comparação dos valores médios obtidos para o pH, em diversos momentos do processo de secagem não evidenciou qualquer diferença estatisticamente significativa entre os três grupos avaliados: grupo composto por mamas sadias que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem, grupo composto por mamas que apresentaram distúrbio da secreção mamária durante o transcorrer do processo de secagem e grupo de mamas nas quais diagnosticou-se mamite durante a evolução do período seco.

Gráfico 22 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos valores do **pH** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 23 - Valores de **pH** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia			Distúrbio da Secreção			Mamite		
		N	pH		N	pH		N	pH	
Na Fase Final da Lactação		20	6,75 $\pm$ 0,18 (6,69)	a	12	6,76 $\pm$ 0,16 (6,76)	a	12	6,73 $\pm$ 0,13 (6,72)	a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	6,78 $\pm$ 0,17 (6,74)	a	12	6,80 $\pm$ 0,12 (6,79)	a	12	6,77 $\pm$ 0,06 (6,79)	a
	1º Dia da Secagem	20	6,76 $\pm$ 0,20 (6,70)	a	12	6,80 $\pm$ 0,17 (6,82)	a	12	6,65 $\pm$ 0,51 (6,75)	a
	3º Dia da Secagem	20	7,08 $\pm$ 0,27 (6,96)	a	12	7,16 $\pm$ 0,26 (7,21)	a	12	7,17 $\pm$ 0,18 (7,19)	a
	5º Dia da Secagem	20	7,15 $\pm$ 0,32 (7,20)	a	12	7,27 $\pm$ 0,21 (7,28)	a	12	7,31 $\pm$ 0,23 (7,31)	a
	7º Dia da Secagem	20	7,16 $\pm$ 0,22 (7,21)	a	12	7,25 $\pm$ 0,11 (7,26)	a	12	7,22 $\pm$ 0,14 (7,25)	a
	10º Dia da Secagem	20	7,28 $\pm$ 0,15 (7,29)	a	12	7,29 $\pm$ 0,21 (7,36)	a	12	7,25 $\pm$ 0,40 (7,35)	a
	15º Dia da Secagem	20	7,34 $\pm$ 0,13 (7,36)	a	12	7,46 $\pm$ 0,11 (7,45)	a	12	7,34 $\pm$ 0,21 (7,39)	a
	30º Dia da Secagem	20	7,24 $\pm$ 0,25 (7,32)	a	12	7,41 $\pm$ 0,12 (7,42)	a	12	7,36 $\pm$ 0,13 (7,37)	a
	45º Dia da Secagem	19	7,30 $\pm$ 0,25 (7,36)	a	12	7,33 $\pm$ 0,33 (7,35)	a	10	7,46 $\pm$ 0,31 (7,38)	a
No Retorno da Lactação		12	6,65 $\pm$ 0,08 (6,63)	a	7	6,65 $\pm$ 0,03 (6,64)	a	7	6,69 $\pm$ 0,09 (6,69)	a

a – letras coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística não significativa ($p \leq 0,05$); N – número de glândulas mamárias avaliadas;

() – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 23 e na tabela 24 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, os valores de **eletrocondutividade** da secreção láctea, pois no 5º, no 7º, no 10º e no 15º dia após o início do processo de secagem e no retorno a lactação foram encontradas diferenças estatísticas entre os três grupos experimentais.

No período entre o 5º ao 15º dia do início do processo de secagem observou-se que os valores encontrados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco (respectivamente iguais a $9,32 \pm 1,69$; $8,77 \pm 1,45$; $8,91 \pm 0,96$ e $9,53 \pm 0,79$ mS/cm) foram estatisticamente maiores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem (respectivamente iguais a $8,10 \pm 1,37$; $7,50 \pm 1,22$; $7,54 \pm 1,46$ e $8,14 \pm 1,50$ mS/cm). No 10º dia após a interrupção da ordenha verificou-se que as amostras colhidas de mamas manifestando distúrbio da secreção mamária durante o transcorrer do processo de secagem ($8,74 \pm 1,14$ mS/cm) apresentavam valores de eletrocondutividade maiores do que os observados no grupo composto por mamas sadias ($7,54 \pm 1,46$ mS/cm).

Gráfico 23 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos valores de **eletrocondutividade** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 24 - Valores de **eletrocondutividade** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		N	Sadia	N	Distúrbio da Secreção	N	Mamite
			Eletrocondutividade (mS/cm)		Eletrocondutividade (mS/cm)		Eletrocondutividade (mS/cm)
Na Fase Final da Lactação		20	5,75 ± 0,94 (5,35) a	12	5,91 ± 0,66 (5,90) a	12	6,18 ± 0,52 (6,15) a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	5,63 ± 1,03 (5,30) a	12	5,75 ± 0,63 (5,80) a	12	5,92 ± 0,43 (5,90) a
	1º Dia da Secagem	20	6,07 ± 1,00 (5,75) a	12	6,28 ± 0,87 (6,10) a	12	6,54 ± 0,67 (6,70) a
	3º Dia da Secagem	20	8,02 ± 1,55 (7,90) a	12	8,64 ± 1,62 (9,00) a	12	8,98 ± 1,42 (8,85) a
	5º Dia da Secagem	20	8,10 ± 1,37 (8,35) a	12	8,37 ± 1,07 (8,10) ab	12	9,32 ± 1,69 (9,10) b
	7º Dia da Secagem	20	7,50 ± 1,22 (7,25) a	12	8,23 ± 0,98 (8,15) ab	12	8,77 ± 1,45 (8,85) b
	10º Dia da Secagem	20	7,54 ± 1,46 (6,70) a	12	8,74 ± 1,14 (8,50) b	12	8,91 ± 0,96 (8,70) b
	15º Dia da Secagem	20	8,14 ± 1,50 (7,65) a	12	9,18 ± 1,57 (8,80) ab	12	9,53 ± 0,79 (9,45) b
	30º Dia da Secagem	20	7,97 ± 1,93 (8,35) a	12	9,13 ± 1,45 (8,95) a	12	9,32 ± 0,72 (9,15) a
	45º Dia da Secagem	19	8,35 ± 1,33 (8,00) a	12	8,63 ± 2,30 (8,05) a	9	9,21 ± 1,86 (9,70) a
No Retorno da Lactação		12	5,54 ± 0,70 (5,25) ab	7	5,14 ± 0,36 (5,20) a	7	6,06 ± 0,69 (6,40) b

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); **N** – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 24 e na tabela 25 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, os valores de **cloretos** da secreção láctea, pois no 10º e no 15º dia após o início do processo de secagem e no retorno a lactação foram encontradas diferenças estatísticas entre os resultados dos três grupos experimentais.

No 10º dia do início do processo de secagem observou-se que os valores encontrados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco ($288,59 \pm 23,67$ mg/dl) e nas amostras colhidas de mamas que apresentaram distúrbio da secreção durante o transcorrer do processo de secagem ($274,68 \pm 24,67$ mg/dl) foram estatisticamente maiores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem ($252,05 \pm 27,59$ mg/dl), enquanto no 15º dia do início do processo de secagem constatou-se que os valores encontrados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco ($297,90 \pm 30,44$ mg/dl) foram estatisticamente maiores do os obtidos no grupo composto por mamas sadias ($267,76 \pm 36,84$ mg/dl).

Gráfico 24 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos teores de **cloretos** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

A análise dos resultados apresentados no gráfico 25 e na tabela 26 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, os teores de **lactose** da secreção láctea, pois no 5º dia após o início do processo de secagem e no retorno a lactação foram encontradas diferenças estatísticas entre os resultados dos três grupos experimentais.

No 5º dia do início do processo de secagem observou-se que os valores encontrados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco ($1,13 \pm 0,69$ g/dl) eram estatisticamente menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem ($1,73 \pm 0,86$ g/dl).

No retorno a lactação os resultados apresentaram diferença estatística significativa entre os teores de **lactose** do grupo composto por mamas que apresentaram distúrbio da secreção láctea ($4,67 \pm 0,25$ g/dl) e mamas que apresentaram mamite durante o processo de secagem ($4,24 \pm 0,54$ g/dl).

Gráfico 25 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos teores de **lactose** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 26 - Valores de **lactose** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia		Distúrbio da Secreção		Mamite	
		N	Lactose (g/dl)	N	Lactose (g/dl)	N	Lactose (g/dl)
Na Fase Final da Lactação		20	4,20 $\pm$ 0,56 (4,39) a	12	4,08 $\pm$ 0,36 (4,19) a	12	4,10 $\pm$ 0,39 (4,20) a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	4,23 $\pm$ 0,57 (4,41) a	12	4,18 $\pm$ 0,24 (4,11) a	12	4,13 $\pm$ 0,41 (4,15) a
	1º Dia da Secagem	20	4,03 $\pm$ 0,60 (4,31) a	12	3,94 $\pm$ 0,40 (3,93) a	11	3,86 $\pm$ 0,47 (3,83) a
	3º Dia da Secagem	20	2,45 $\pm$ 0,83 (2,56) a	12	1,87 $\pm$ 1,14 (1,55) a	11	1,85 $\pm$ 0,74 (1,58) a
	5º Dia da Secagem	20	1,73 $\pm$ 0,86 (1,46) a	12	1,36 $\pm$ 0,71 (1,24) ab	12	1,13 $\pm$ 0,69 (1,07) b
	7º Dia da Secagem	20	1,65 $\pm$ 0,61 (1,58) a	12	1,46 $\pm$ 0,46 (1,36) a	11	1,34 $\pm$ 0,57 (1,37) a
	10º Dia da Secagem	20	1,40 $\pm$ 0,43 (1,35) a	12	1,30 $\pm$ 0,55 (1,32) a	11	1,22 $\pm$ 0,38 (1,26) a
	15º Dia da Secagem	19	1,46 $\pm$ 0,48 (1,44) a	11	1,22 $\pm$ 0,55 (1,18) a	12	1,56 $\pm$ 1,55 (1,31) a
	30º Dia da Secagem	12	1,20 $\pm$ 0,35 (1,17) a	8	1,10 $\pm$ 0,51 (1,10) a	7	1,15 $\pm$ 0,33 (1,06) a
	45º Dia da Secagem	9	1,31 $\pm$ 0,52 (1,40) a	6	1,05 $\pm$ 0,45 (1,06) a	3	1,10 $\pm$ 0,03 (1,11) a
No Retorno da Lactação		12	4,42 $\pm$ 0,35 (4,52) ab	7	4,67 $\pm$ 0,25 (4,83) a	7	4,24 $\pm$ 0,54 (4,24) b

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); N – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 26 e na tabela 27 demonstrou que a condição de saúde da glândula mamária durante a evolução do processo de secagem não influenciou os valores do **índice cloretos/ lactose** da secreção láctea..

A comparação dos valores médios obtidos para o índice cloretos/ lactose, em diversos momentos do processo de secagem não evidenciou qualquer diferença estatisticamente significativa entre os três grupos avaliados: grupo composto por mamas sadias que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem, grupo composto por mamas que apresentaram distúrbio da secreção mamária durante o transcorrer do processo de secagem e grupo de mamas nas quais diagnosticou-se mamite durante a evolução do período seco.

Apesar do exposto, no retorno a lactação, também, foi encontrada diferença estatística entre o valor médio do índice cloretos/lactose do grupo composto por mamas que apresentaram distúrbio da secreção láctea ($2,22 \pm 0,31$ %) e mamas que apresentaram mamite ($3,28 \pm 1,19$ %) durante o processo de secagem.

Gráfico 26 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos valores do **índice cloretos / lactose** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 27 - Valores do **índice cloretos/ lactose** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia		Distúrbio da Secreção		Mamite	
		N	Índice Cloretos/Lactose (%)	N	Índice Cloretos/Lactose (%)	N	Índice Cloretos/Lactose (%)
Na Fase Final da Lactação		20	3,44 $\pm$ 1,61 (2,75) a	12	3,51 $\pm$ 0,84 (3,55) a	12	3,78 $\pm$ 1,09 (3,69) a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	3,34 $\pm$ 1,67 (2,80) a	12	3,25 $\pm$ 0,64 (3,34) a	12	3,45 $\pm$ 0,92 (3,34) a
	1º Dia da Secagem	20	4,16 $\pm$ 2,02 (3,53) a	12	4,36 $\pm$ 1,28 (4,16) a	11	4,41 $\pm$ 1,33 (4,45) a
	3º Dia da Secagem	20	12,99 $\pm$ 10,74 (8,82) a	12	22,26 $\pm$ 18,34 (17,83) a	11	16,22 $\pm$ 6,56 (17,22) a
	5º Dia da Secagem	20	21,65 $\pm$ 16,40 (19,85) a	12	41,74 $\pm$ 73,13 (22,46) a	12	37,93 $\pm$ 29,81 (25,84) a
	7º Dia da Secagem	20	17,87 $\pm$ 9,64 (15,77) a	12	19,31 $\pm$ 6,82 (19,81) a	11	25,87 $\pm$ 16,97 (18,79) a
	10º Dia da Secagem	20	20,49 $\pm$ 9,84 (17,25) a	12	26,80 $\pm$ 15,91 (19,50) a	11	27,06 $\pm$ 13,25 (22,82) a
	15º Dia da Secagem	19	23,28 $\pm$ 18,81 (18,01) a	11	31,33 $\pm$ 22,41 (22,86) a	12	28,79 $\pm$ 16,83 (21,70) a
	30º Dia da Secagem	12	26,40 $\pm$ 11,74 (23,98) a	8	34,18 $\pm$ 21,48 (25,28) a	7	27,16 $\pm$ 8,38 (25,79) a
	45º Dia da Secagem	9	25,50 $\pm$ 13,08 (19,53) a	6	35,37 $\pm$ 22,21 (27,76) a	3	27,24 $\pm$ 1,42 (26,63) a
No Retorno da Lactação		12	2,60 $\pm$ 0,82 (2,22) ab	7	2,22 $\pm$ 0,31 (2,01) a	7	3,28 $\pm$ 1,19 (3,50) b

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); N – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 27 e na tabela 28 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, os teores de **gordura** da secreção láctea, pois foram encontradas diferenças estatísticas, entre resultados dos três grupos experimentais no dia da última ordenha antes do início do processo de secagem, no 7º e no 15º dia do processo de secagem.

No dia da última ordenha antes do processo de secagem, no 7º dia e no 15º dia após o início do processo observou-se que os valores encontrados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco (respectivamente iguais a $2,87 \pm 0,87$ g/dl; $5,08 \pm 2,51$ g/dl; $2,39 \pm 1,73$ g/dl) eram estatisticamente menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem (respectivamente iguais a $3,73 \pm 1,16$ g/dl; $7,97 \pm 3,60$ g/dl e $4,80 \pm 3,04$ g/dl).

Gráfico 27 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos teores de **gordura** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 28 - Valores de **gordura** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia		Distúrbio da Secreção		Mamite	
		N	Gordura (g/dl)	N	Gordura (g/dl)	N	Gordura (g/dl)
Na Fase Final da Lactação		20	3,82 $\pm$ 1,80 (2,99) a	12	3,64 $\pm$ 1,95 (3,04) a	12	2,50 $\pm$ 0,87 (2,49) a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	3,73 $\pm$ 1,16 (3,58) a	12	3,51 $\pm$ 1,34 (3,30) ab	12	2,87 $\pm$ 0,87 (2,75) b
	1º Dia da Secagem	20	2,02 $\pm$ 1,14 (1,84) a	12	2,15 $\pm$ 1,26 (1,86) a	11	1,47 $\pm$ 0,68 (1,27) a
	3º Dia da Secagem	20	3,29 $\pm$ 2,14 (2,87) a	12	3,47 $\pm$ 1,89 (3,00) a	11	3,51 $\pm$ 2,58 (2,26) a
	5º Dia da Secagem	20	5,63 $\pm$ 2,01 (5,71) a	12	6,12 $\pm$ 2,23 (6,41) a	12	4,50 $\pm$ 2,19 (4,61) a
	7º Dia da Secagem	20	7,97 $\pm$ 3,60 (8,05) a	12	6,05 $\pm$ 1,86 (6,08) ab	11	5,08 $\pm$ 2,51 (5,01) b
	10º Dia da Secagem	20	7,70 $\pm$ 4,54 (7,75) a	12	4,70 $\pm$ 2,93 (5,20) b	11	3,61 $\pm$ 2,19 (3,16) b
	15º Dia da Secagem	19	4,80 $\pm$ 3,04 (4,84) a	11	3,91 $\pm$ 3,38 (2,34) ab	12	2,39 $\pm$ 1,73 (2,12) b
	30º Dia da Secagem	12	3,24 $\pm$ 2,71 (1,57) a	8	2,69 $\pm$ 1,62 (2,85) a	7	2,25 $\pm$ 1,32 (2,21) a
	45º Dia da Secagem	9	2,27 $\pm$ 2,26 (1,76) a	6	1,03 $\pm$ 0,77 (0,82) a	3	1,09 $\pm$ 0,80 (1,45) a
No Retorno da Lactação		12	2,89 $\pm$ 1,05 (2,48) a	7	3,36 $\pm$ 1,44 (2,87) a	7	2,54 $\pm$ 1,23 (1,83) a

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); **N** – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 28 e na tabela 29 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, os teores de **proteína** da secreção láctea, sendo encontradas diferenças estatísticas, entre os resultados dos três grupos experimentais, no 10º dia após o início do processo de secagem.

No 10º dia após o início do processo de secagem verificou-se que os valores encontrados nas amostras colhidas de mamas com distúrbio da secreção láctea durante o período seco ($6,82 \pm 2,18$ g/dl) foram estatisticamente menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem ($8,58 \pm 2,18$ g/dl), não sendo observadas diferenças estatísticas dos teores de proteína entre o grupo composto por mamas sadias ($8,58 \pm 2,18$ g/dl) e o grupo composto por mamas com mamite ($7,13 \pm 1,51$ g/dl).

Gráfico 28 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos teores de **proteína** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 29 - Valores de **proteína** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia		Distúrbio da Secreção		Mamite	
		N	Proteína (g/dl)		N	Proteína (g/dl)	
Na Fase Final da Lactação		20	3,93 $\pm$ 0,76 (3,85)	a	12	3,66 $\pm$ 0,98 (3,30)	a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	3,95 $\pm$ 0,73 (3,82)	a	12	3,61 $\pm$ 0,92 (3,18)	a
	1º Dia da Secagem	20	4,22 $\pm$ 0,83 (4,26)	a	12	3,87 $\pm$ 1,07 (3,37)	a
	3º Dia da Secagem	20	6,00 $\pm$ 1,51 (5,96)	a	12	5,31 $\pm$ 1,51 (5,73)	a
	5º Dia da Secagem	20	7,62 $\pm$ 1,65 (7,59)	a	12	7,05 $\pm$ 2,13 (7,52)	a
	7º Dia da Secagem	20	8,30 $\pm$ 1,79 (8,68)	a	12	7,45 $\pm$ 2,19 (7,46)	a
	10º Dia da Secagem	20	8,58 $\pm$ 2,18 (8,84)	a	12	6,82 $\pm$ 2,18 (6,51)	b
	15º Dia da Secagem	19	8,95 $\pm$ 2,81 (9,10)	a	11	6,89 $\pm$ 3,33 (5,70)	a
	30º Dia da Secagem	12	8,43 $\pm$ 2,42 (8,58)	a	8	6,70 $\pm$ 3,37 (5,08)	a
	45º Dia da Secagem	9	9,47 $\pm$ 2,64 (10,90)	a	6	7,80 $\pm$ 3,24 (6,72)	a
No Retorno da Lactação		12	3,67 $\pm$ 0,63 (3,52)	a	7	3,03 $\pm$ 0,23 (3,06)	a

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); N – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 29 e na tabela 30 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, os teores de **sólidos totais** da secreção láctea, sendo encontradas diferenças estatísticas no dia da última ordenha antes do processo de secagem; no 7º dia; no 10º dia e no 15º dia após o início do processo de secagem e no retorno da lactação.

No dia da última ordenha antes do início do processo de secagem, no 7º dia, no 10º dia e no 15º dia após o início do processo observou-se que os valores da concentração dos sólidos totais encontrados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco (respectivamente iguais a $11,15 \pm 0,92$ g/dl; $12,32 \pm 3,61$ g/dl; $10,23 \pm 2,64$ g/dl; $9,34 \pm 2,59$ g/dl) foram estatisticamente menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem (respectivamente iguais a $12,60 \pm 2,11$ g/dl; $16,35 \pm 4,32$ g/dl $15,86 \pm 5,43$ g/dl; $13,23 \pm 4,43$ g/dl).

No retorno a lactação foi encontrada diferença estatística entre o valor médio de sólidos totais do grupo composto por mamas que apresentaram distúrbio da secreção láctea ($12,19 \pm 1,19$ g/dl) e mamas que apresentaram mamite ($10,85 \pm 1,43$ g/dl) durante o processo de secagem.

ab - letras não coincidentes, no mesmo momento da colheita, significam diferença estatística significativa entre os três grupos (sadio, distúrbios de secreção e mamite)

Gráfico 29 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem nos teores de **sólidos totais** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 30 - Valores de **sólidos totais** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia			Distúrbio da Secreção			Mamite		
		N	Sólidos Totais (g/dl)		N	Sólidos Totais (g/dl)		N	Sólidos Totais (g/dl)	
Na Fase Final da Lactação		20	12,73 $\pm$ 2,48 (12,58)	a	12	12,18 $\pm$ 2,83 (11,33)	a	12	10,92 $\pm$ 0,97 (10,45)	a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	12,60 $\pm$ 2,11 (12,62)	a	12	12,03 $\pm$ 2,14 (11,60)	ab	12	11,15 $\pm$ 0,92 (10,85)	b
	1º Dia da Secagem	20	10,73 $\pm$ 1,71 (10,52)	a	12	10,45 $\pm$ 2,18 (10,28)	a	11	9,52 $\pm$ 0,87 (9,67)	a
	3º Dia da Secagem	20	10,97 $\pm$ 3,55 (10,59)	a	12	9,73 $\pm$ 2,88 (10,02)	a	11	9,71 $\pm$ 3,00 (9,44)	a
	5º Dia da Secagem	20	13,52 $\pm$ 3,50 (13,48)	a	12	13,01 $\pm$ 3,39 (14,16)	a	12	10,72 $\pm$ 4,34 (11,01)	a
	7º Dia da Secagem	20	16,35 $\pm$ 4,32 (16,87)	a	12	13,39 $\pm$ 3,08 (12,93)	ab	11	12,32 $\pm$ 3,61 (12,68)	b
	10º Dia da Secagem	20	15,86 $\pm$ 5,43 (17,42)	a	12	11,23 $\pm$ 4,15 (11,45)	b	11	10,23 $\pm$ 2,64 (10,40)	b
	15º Dia da Secagem	19	13,23 $\pm$ 4,43 (13,55)	a	11	10,34 $\pm$ 4,39 (11,14)	ab	12	9,34 $\pm$ 2,59 (8,68)	b
	30º Dia da Secagem	12	10,81 $\pm$ 3,18 (10,73)	a	8	8,58 $\pm$ 2,83 (9,08)	a	7	8,27 $\pm$ 1,33 (8,81)	a
	45º Dia da Secagem	9	10,73 $\pm$ 3,44 (11,76)	a	6	7,74 $\pm$ 2,94 (7,20)	a	3	7,63 $\pm$ 2,03 (6,60)	a
No Retorno da Lactação		12	11,82 $\pm$ 1,07 (11,63)	ab	7	12,19 $\pm$ 1,19 (11,87)	a	7	10,85 $\pm$ 1,43 (10,95)	b

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); N – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados no gráfico 30 e na tabela 31 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou, parcialmente, o **número de células somáticas** da secreção láctea, sendo encontradas diferenças estatísticas, entre os resultados dos três grupos experimentais, no dia da última ordenha antes do processo de secagem; no 3º dia e no 5º dia após o início do processo de secagem e no retorno da lactação.

No dia da última ordenha antes do processo de secagem, no 3º dia, no 5º dia e no retorno da lactação observou-se que os valores determinados nas amostras colhidas de mamas com mamite durante o período seco (respectivamente iguais a $1.588.670 \pm 2.956.090$ células/ml; $4.801.640 \pm 2.645.670$ células/ml; $4.504.420 \pm 1.293.170$ células/ml; $1.383.710 \pm 910,03$ células/ml) foram estatisticamente maiores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, que não apresentaram qualquer distúrbio durante o processo de secagem (respectivamente iguais a $649.450 \pm 1.148.200$ células/ml; $1.930.450 \pm 1.448.870$ células/ml; $3.015.300 \pm 1.384.630$ células/ml; 352.080 ± 374.360 células/ml).

Gráfico 30 - Avaliação da influência da condição de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem no **número de células somáticas** da secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 31 - Valores do **número de células somáticas** (expressos pela média $\pm$ desvio padrão e mediana) na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Sadia		Distúrbio da Secreção		Mamite	
		N	Células Somáticas (x 10 ³ / ml)	N	Células Somáticas (x 10 ³ / ml)	N	Células Somáticas (x 10 ³ / ml)
Na Fase Final da Lactação		20	857,60 $\pm$ 1.813,37 (297,00) a	12	921,45 $\pm$ 873,07 (731,50) a	12	1.416,75 $\pm$ 2.301,67 (512,50) a
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	20	649,45 $\pm$ 1.148,20 (223,50) a	12	744,75 $\pm$ 702,80 (528,50) ab	12	1.588,67 $\pm$ 2.956,09 (587,50) b
	1º Dia da Secagem	20	941,15 $\pm$ 1.267,15 (345,00) a	12	1.544,58 $\pm$ 1.759,40 (438,00) a	11	1.868,45 $\pm$ 1.747,12 (1.293,00) a
	3º Dia da Secagem	20	1.930,45 $\pm$ 1.448,87 (1.689,00) a	12	3.256,42 $\pm$ 2.210,75 (2.686,00) ab	11	4.801,64 $\pm$ 2.645,67 (4.271,00) b
	5º Dia da Secagem	20	3.015,30 $\pm$ 1.384,63 (2.740,00) a	12	4.485,42 $\pm$ 1.579,83 (4.207,00) b	12	4.504,42 $\pm$ 1.293,17 (4.514,50) b
	7º Dia da Secagem	20	4.898,85 $\pm$ 691,64 (5.114,00) a	12	4.804,08 $\pm$ 536,15 (4.837,00) a	11	5.285,36 $\pm$ 682,51 (5.487,00) a
	10º Dia da Secagem	20	4.800,10 $\pm$ 2.249,27 (4.228,50) a	12	5.164,08 $\pm$ 2.102,45 (4.458,50) a	11	4.547,91 $\pm$ 1.731,88 (4.178,00) a
	15º Dia da Secagem	19	4.903,21 $\pm$ 1.749,29 (4.957,00) a	11	4.666,45 $\pm$ 1.381,01 (4.389,00) a	12	7.480,33 $\pm$ 6.326,84 (5.954,00) a
	30º Dia da Secagem	10	6.486,90 $\pm$ 1.018,95 (6.201,00) a	7	8.525,14 $\pm$ 3.770,92 (7.805,00) a	6	6.552,83 $\pm$ 1.482,92 (6.682,00) a
	45º Dia da Secagem	8	6.424,00 $\pm$ 2.087,51 (5.496,00) a	4	7.105,50 $\pm$ 1.284,67 (7.380,50) a	3	7.675,00 $\pm$ 1.487,12 (8.246,00) a
No Retorno da Lactação		12	352,08 $\pm$ 374,36 (260,00) a	7	293,57 $\pm$ 204,06 (237,00) a	7	1.383,71 $\pm$ 910,03 (1.201,00) b

ab - letras não coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$); N – número de glândulas mamárias avaliadas; () – valor entre parêntesis correspondem à mediana

A análise dos resultados apresentados nas tabelas 32, 33 e 34 demonstrou que durante a evolução do processo de secagem a condição de saúde da glândula mamária influenciou os resultados das reações do **California Mastitis Test (CMT)** somente em três oportunidades.

Para reações do CMT classificadas como meia cruz observou-se que na última ordenha antes do início do processo de secagem o percentual de reações para o grupo de mamas com distúrbios de secreção durante o período seco (41,7 % - 5/12) foi estatisticamente maior do que o encontrado para o grupo de mamas consideradas sadias (5,0 % - 1/20).

Para reações do CMT classificadas como duas cruzes observou-se que na fase final da lactação o percentual de reações para o grupo de mamas com distúrbios de secreção durante o período seco (41,7 % - 5/12) foi estatisticamente maior do que o encontrado para o grupo de mamas consideradas sadias (10,0 % - 2/20).

Para reações do CMT classificadas como três cruzes observou-se que no 3º dia do início do processo de secagem o percentual de reações para o grupo de mamas com mamites (66,7 % - 8/12) e com distúrbios de secreção durante o período seco (33,3 % - 4/12) foram estatisticamente maiores do que o determinado no grupo de mamas consideradas sadias (5,0 % - 1/20).

Tabela 32 - Frequência da reação classificadas como negativas do **California Mastitis Test (CMT)** na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Reação do CMT		
		- - -		
		Sadia	Distúrbio da Secreção	Mamite
Na Fase Final da Lactação		55,0 % a (11/20)	41,7 % a (5/12)	33,3 % a (4/12)
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	65,0 % a (13/20)	50,0 % a (6/12)	41,7 % a (5/12)
	1º Dia da Secagem	40,0 % a (8/20)	25,0 % a (3/12)	8,3 % a (1/12)
	3º Dia da Secagem	10,0 % a (2/20)	8,3 % a (1/12)	0,0 % a (0/12)
	5º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	7º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	10º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	15º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	30º Dia da Secagem	0,0 % a (0/19)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	45º Dia da Secagem	0,0 % a (0/16)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/8)
No Retorno da Lactação		83,3 % a (10/12)	57,1 % a (4/7)	42,9 % a (3/7)

a - letras coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística não significante ($p > 0,05$)

Tabela 33 - Frequência da reação classificadas como meia e uma cruz do **California Mastitis Test (CMT)** na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Reação do CMT					
		(+) - -			+ - -		
		Sadia	Distúrbio da Secreção	Mamite	Sadia	Distúrbio da Secreção	Mamite
Na Fase Final da Lactação		0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	30,0 % a (6/20)	16,7 % a (2/12)	41,7 % a (5/12)
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	5,0 % a (1/20)	41,7 % b (5/12)	25,0 % ab (3/12)	15,0 % a (3/20)	8,3 % a (1/12)	16,7 % a (2/12)
	1º Dia da Secagem	25,0 % a (5/20)	25,0 % a (3/12)	33,3 % a (4/12)	10,0 % a (2/20)	16,7 % a (2/12)	16,7 % a (2/12)
	3º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	8,3 % a (1/12)	0,0 % a (0/12)	25,0 % a (5/20)	0,0 % a (0/12)	8,3 % a (1/12)
	5º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	5,0 % a (1/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	7º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	10º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	15º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	30º Dia da Secagem	0,0 % a (0/19)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/19)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)
	45º Dia da Secagem	0,0 % a (0/16)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/8)	0,0 % a (0/16)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/8)
No Retorno da Lactação		8,3 % a (1/12)	42,9 % a (3/7)	14,3 % a (1/7)	8,3 % a (1/12)	0,0 % a (0/7)	42,9 % a (3/7)

ab - letras não coincidentes, na mesma linha para reação (+)-- e para reação +-- , significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Tabela 34 - Frequência da reação classificadas como duas e três cruzes do **California Mastitis Test (CMT)** na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbios da secreção e com mamite de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Reação do CMT					
		+ + -			+ + +		
		Sadia	Distúrbio da Secreção	Mamite	Sadia	Distúrbio da Secreção	Mamite
Na Fase Final da Lactação		10,0 % a (2/20)	41,7 % b (5/12)	16,7 % ab (2/12)	5,0 % a (1/20)	0,0 % a (0/12)	8,3 % a (1/12)
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	5,0 % a (1/20)	0,0 % a (0/12)	8,3 % a (1/12)	10,0 % a (2/20)	0,0 % a (0/12)	8,3 % a (1/12)
	1º Dia da Secagem	20,0 % a (4/20)	25,0 % a (3/12)	25,0 % a (3/12)	5,0 % a (1/20)	8,3 % a (1/12)	16,7 % a (2/12)
	3º Dia da Secagem	60,0 % a (12/20)	50,0 % a (6/12)	25,0 % a (3/12)	5,0 % a (1/20)	33,3 % b (4/12)	66,7 % b (8/12)
	5º Dia da Secagem	35,0 % a (7/20)	16,7 % a (2/12)	16,7 % a (2/12)	60,0 % a (12/20)	83,3 % a (10/12)	83,3 % a (10/12)
	7º Dia da Secagem	10,0 % a (2/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	90,0 % a (18/20)	100,0 % a (12/12)	100,0 % a (12/12)
	10º Dia da Secagem	10,0 % a (2/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	90,0 % a (18/20)	100,0 % a (12/12)	100,0 % a (12/12)
	15º Dia da Secagem	0,0 % a (0/20)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	100,0 % a (20/20)	100,0 % a (12/12)	100,0 % a (12/12)
	30º Dia da Secagem	0,0 % a (0/19)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/12)	100,0 % a (19/19)	100,0 % a (12/12)	100,0 % a (12/12)
	45º Dia da Secagem	18,8 % a (3/16)	16,7 % a (2/12)	0,0 % a (0/8)	81,3 % a (13/16)	83,3 % a (10/12)	100,0 % a (8/8)
No Retorno da Lactação		0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/7)	0,0 % a (0/7)	0,0 % a (0/12)	0,0 % a (0/7)	0,0 % a (0/7)

ab - letras não coincidentes, na mesma linha para reação ++- e para reação +++, significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

4.5 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DO EXAME MICROBIOLÓGICO DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO, NA FASE FINAL DA LACTAÇÃO, DURANTE A EVOLUÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA E NO RETORNO DA LACTAÇÃO

A análise dos resultados apresentados no gráfico 31 demonstrou que a frequência de **isolamentos bacterianos** observados na fase final da lactação (65,9 % - 29/44) foi menor do que o encontrado no 3º dia (84,1 % - 37/44) e no 7º dia (84,1 % - 37/44) do processo de secagem.

Durante a evolução do processo de secagem da mama, nas amostras colhidas entre a última ordenha antes do seu início e amostras colhidas no 45º dia do período, não houve qualquer diferença estatística entre as frequências de isolamentos bacterianos.

No retorno da lactação observou-se que a frequência de isolamento bacteriano (46,2 % - 12/26) foi significativamente menor do que a encontrada durante a evolução do processo de secagem da mama (entre 72,7 % - 32/44 e 84,1 % - 37/44) e estatisticamente semelhante àquele observado na fase final da lactação (65,9 % - 29/44).

Gráfico 31 - Avaliação da influência do processo de secagem da glândula mamária nos resultados do **isolamento bacteriano** na secreção láctea de bovinos da raça Holandesa. São Paulo, 2006

A análise dos resultados apresentados na tabela 35 demonstrou que a condição de saúde da glândula mamária durante a evolução do processo de secagem não influenciou os resultados do exame microbiológico da secreção láctea, sendo que a comparação da frequência de isolamento bacteriano, em diversos momentos do processo de secagem não evidenciou qualquer diferença estatisticamente significativa entre os três grupos avaliados.

Tabela 35 - Resultados obtidos na avaliação da frequência de **isolamento bacteriano** na secreção láctea da glândula mamária de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo, distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Frequência de Isolamento Bacteriano na Secreção Láctea		
		Sadio	Distúrbio de Secreção	Mamite
Na Fase Final da Lactação		55,0 % a (11/20)	66,7 % a (8/12)	83,3 % a (10/12)
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	65,0 % a (13/20)	75,0 % a (9/12)	83,3 % a (10/12)
	1º Dia da Secagem	75,0 % a (15/20)	75,0 % a (9/12)	83,3 % a (10/12)
	3º Dia da Secagem	85,0 % a (17/20)	75,0 % a (9/12)	91,7 % a (11/12)
	5º Dia da Secagem	85,0 % a (17/20)	75,0 % a (9/12)	75,0 % a (9/12)
	7º Dia da Secagem	85,0 % a (17/20)	75,0 % a (9/12)	91,7 % a (11/12)
	10º Dia da Secagem	90,0 % a (18/20)	75,0 % a (9/12)	75,0 % a (9/12)
	15º Dia da Secagem	90,0 % a (18/20)	66,7 % a (8/12)	66,7 % a (8/12)
	30º Dia da Secagem	85,0 % a (17/20)	66,7 % a (8/12)	75,0 % a (9/12)
	45º Dia da Secagem	70,0 % a (14/20)	83,3 % a (10/12)	66,7 % a (8/12)
No Retorno da Lactação		41,7 % a (5/12)	57,1 % a (4/7)	42,9 % a (3/7)

a – letras coincidentes, na mesma linha, significam diferença estatística não significativa ($p > 0,05$)

A avaliação dos resultados obtidos para o exame microbiológico permitiu ainda que fossem efetuadas as observações a seguir discriminadas.

Nos 12 quartos que no início do processo de secagem (última ordenha) não foram isoladas cepas bacterianas na secreção láctea constatou-se que:

- em 33,4 % (4/12) dos quartos permaneceram sem que qualquer agente bacteriano pudesse ser isolado durante todo o período seco estudado;
- em 66,6 % (8/12) desses quartos foi possível o isolamento de bactérias na secreção láctea durante a evolução do período seco.

Nos 32 quartos que no início do processo de secagem (última ordenha) apresentavam isolamento de bactérias no leite, constatou-se que:

- em 15,6 % (5/32) desses quartos mamários ocorreu a eliminação da bactéria durante a evolução do período seco;
- em 25,0 % (8/32) dos quartos mamários ocorreu a eliminação da bactéria, porém durante a evolução do período seco outro tipo de bactéria passou a ser isolada na secreção láctea;
- em 59,4 % (19/32) dos quartos mamários foi possível o isolamento da mesma bactéria na secreção láctea durante a evolução do período seco.

No gráfico 32 e tabela 36 foram apresentados os resultados relativos à avaliação da frequência dos **gêneros de bactérias** isolada na secreção láctea durante a fase final da lactação, na evolução do processo de secagem da glândula mamária e no retorno da lactação, sendo isolado em 43,7 % (154/352) dessas secreções bactérias do gênero *Corynebacterium*, em 44,9 % (158/352) bactérias do gênero *Staphylococcus*; em 10,2 % (36/352) bactérias do gênero *Streptococcus* e em 1,1 % (4/352) dessas secreções associação de bactérias do gênero *Staphylococcus* e do gênero *Streptococcus*.

Nas 162 amostras nas quais foram isoladas bactérias do gênero *Staphylococcus* observou-se a ocorrência das seguintes espécies: *Staphylococcus intermedius* (em 82,7 % - 134/162 das amostras), *Staphylococcus chromogenes* (em 11,8 % - 19/162 das amostras), *Staphylococcus warneri* (em 4,9 % - 8/162 das amostras), *Staphylococcus arletae* (em 0,6 % - 1/162 das amostras).

Nas 40 amostras, nas quais foram isoladas bactérias do gênero *Streptococcus* observou-se a ocorrência das seguintes espécies: *Streptococcus bovis* (em 92,5 % - 37/40 das amostras) e *Streptococcus dysgalactiae* (em 7,5 % - 3/40 das amostras).

abc – letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$)

Gráfico 32 - Avaliação da frequência dos **gêneros de bactérias** isoladas na secreção láctea durante a fase final da lactação, na evolução do processo de secagem da glândula mamária e no retorno da lactação de fêmeas bovinas da raça Holandesa. São Paulo, 2006

Tabela 36 - Frequência de **gêneros de bactérias** isoladas na secreção láctea distribuídos segundo a fase da lactação e a evolução do processo de secagem da glândula mamária. São Paulo, 2006

Momentos de Colheita		Frequência de Gêneros Bacterianos na Secreção Láctea			
		<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Streptococcus sp.</i>	<i>Corynebacterium sp.</i>	Associação de <i>Staphylococcus e Streptococcus</i>
Na Fase Final da Lactação		41,4 % a (12/29)	10,3 % a (3/29)	48,3 % ab (14/29)	0,0 % a (0/29)
Durante o Processo de Secagem da Glândula Mamária	Última Ordenha	40,6 % a (13/32)	6,3 % a (2/32)	53,1 % a (17/32)	0,0 % a (0/32)
	1º Dia da Secagem	38,2 % a (13/34)	11,8 % a (4/34)	50,0 % a (17/34)	0,0 % a (0/34)
	3º Dia da Secagem	37,8 % a (14/37)	10,8 % a (4/37)	51,4 % a (19/37)	0,0 % a (0/37)
	5º Dia da Secagem	42,9 % a (15/35)	17,1 % a (6/35)	40,0 % ab (14/35)	0,0 % a (0/35)
	7º Dia da Secagem	43,2 % a (16/37)	16,2 % a (6/37)	40,5 % ab (15/37)	0,0 % a (0/37)
	10º Dia da Secagem	47,2 % a (17/36)	11,1 % a (4/36)	41,7 % ab (15/36)	0,0 % a (0/36)
	15º Dia da Secagem	44,1 % a (15/34)	5,9 % a (2/34)	47,1 % ab (16/34)	2,9 % a (1/34)
	30º Dia da Secagem	50,0 % a (17/34)	5,9 % a (2/34)	41,2 % ab (14/34)	2,9 % a (1/34)
	45º Dia da Secagem	56,3 % a (18/32)	6,3 % a (2/32)	34,4 % ab (11/32)	3,1 % a (1/32)
No Retorno da Lactação		66,7 % a (8/12)	8,3 % a (1/12)	16,7 % b (2/12)	8,3 % a (1/12)

ab - letras não coincidentes, na mesma coluna, significam diferença estatística significante ($p \leq 0,05$)

5 DISCUSSÃO

Na revisão de literatura da presente dissertação procurou-se relatar os diversos aspectos relacionados ao período seco, incluindo informações sobre a real importância deste período para a vida produtiva da vaca, os métodos de interrupção da lactação, a duração do período seco e as diversas modificações fisiológicas que envolvem a glândula mamária a partir do momento que o leite produzido não é mais ordenhado (AKERS et al., 1990; ANNEN et al., 2004; BUSHE; OLIVER, 1987; DIAS; ALLAIRE, 1982; DINGWELL et al., 2003; DUTT et al., 1986; EBERHART, 1982; ENEVOLDSEN; SORESENSEN, 1992; FOLEY et al., 1972; FONSECA; SANTOS, 2000; FOWLER et al., 1991; GRUMMER; RASTANI, 2004; GULAY et al., 2003; HURLEY, 1989; KUHN et al., 2006; MCDONALD; ANDERSON, 1981; OLIVER; SORDILLO, 1988; SCHMIDT et al., 1988; SMITH; SCHANBACHER, 1977; SMITH; TODHUNTER, 1982; TARGOWSKI, 1983; WHEELOCK et al., 1966). As dificuldades em encontrar, nos compêndios de patologia médica ou de clínica veterinária, capítulos que abordem especificamente as alterações que ocorrem durante o processo de secagem da glândula mamária, bem como das enfermidades que acometem a mama durante o período seco, tornou necessário e relevante que no preâmbulo da revisão de literatura fossem feitas considerações sobre temas inerentes a este período, mas os quais não eram o objetivo primordial desta pesquisa.

Relativo aos estudos realizados sobre o processo de secagem da glândula mamária verificou-se que a ocorrência de infecções intramamárias no período seco motivou diversos pesquisadores europeus e norte-americanos a estudarem os benefícios do uso de antibioticoterapia intramamária no momento de interrupção da lactação com o intuito de avaliar os seus efeitos no tratamento das infecções existentes e na prevenção da ocorrência de novas infecções durante o período seco. A denominada terapia da vaca seca é o assunto mais comumente discutido nas pesquisas estrangeiras sobre o processo de secagem da mama, havendo um relativo consenso entre os pesquisadores do hemisfério norte sobre a sua necessidade (BARRAGRY, 1994; BERRY; HILLERTON, 2002; CUMMINS; MCCASKEY, 1987; DINGWELL et al., 2003; EBERHART, 1986; HASSAN et al. 1999; NATZKE et al., 1975; NICKERSON et al., 1999; PARKINSON et al., 2000; PEARSON, 1951; RINDSIG et al., 1978; SMITH; TODHUNTER, 1982; WARD; SCHULTZ, 1974).

A adoção desta norma de manejo sanitário nos rebanhos de bovinos leiteiros brasileiros despertou a atenção de poucos pesquisadores, pois foram encontradas somente as pesquisas

desenvolvidas por Costa et al (1994) e Prieto (1993), sendo que esses pesquisadores paulistas procuraram avaliar os reais benefícios da terapia da vaca seca no tratamento e na prevenção de infecções no período seco, não obtendo resultados que permitissem a recomendação, de forma inquestionável, dessa norma para os rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo.

Apesar da reconhecida importância do médico veterinário no diagnóstico das mamites e na manutenção da saúde da glândula mamária durante a lactação, pode ser constatado que a sua atuação é pouco valorizada durante o período seco, pois a recomendação do uso de antibióticos para todas as vacas secas, sem qualquer restrição, é sistematicamente acompanhada com um preocupante descaso em relação à avaliação clínica da involução da glândula mamária durante o período seco. O uso de antibióticos no momento da interrupção da ordenha deveria ser uma decisão exclusiva do veterinário, responsável pela saúde das vacas de um determinado rebanho, sendo fundamental que o processo inflamatório que se instala com a retenção do leite durante o período seco seja acompanhado independentemente da decisão de usar ou não a terapia da vaca seca.

A inexistência de pesquisa brasileiras que tenham avaliado a involução da glândula mamária durante o seu processo de secagem ou que tenham avaliado as características físico-químicas e celulares na secreção láctea durante o período seco tornaram necessário que, primeiramente, fosse realizado um estudo sobre a semiologia da mama e patologia clínica da secreção láctea durante o processo de secagem da glândula mamária. Assim, apesar de reconhecer-se a necessidade do delineamento de estudos brasileiros com o intuito de avaliar a dinâmica das infecções intramamárias durante o período seco, não foram estes os objetivos que nortearam o delineamento experimental da presente dissertação.

Desta forma, optou-se por acompanhar o processo de secagem de 14 vacas leiteiras objetivando avaliar as características obtidas através do exame clínico da glândula mamária e de sua secreção, bem como determinar o pH, eletrocondutividade, teores de cloretos, proteína, lactose, gordura, sólidos totais e número de células somáticas, parâmetros utilizados como auxiliares no diagnóstico das mamites de bovinos em lactação.

Ao analisar-se a literatura que teve o objetivo de avaliar o processo de secagem da glândula mamária, verificou-se que as primeiras pesquisas realizadas por pesquisadores norte-americanos (ANDERSON; MACLEOD, 1949; BRATLIE, 1954; CARROL, 1961; SMITH et al., 1967; WHELOCK et al., 1967a,b; ZIV; GORDIN, 1973) utilizaram grupos experimentais pequenos, entre 3 e 29 animais, e apresentavam, em semelhança ao realizado na presente dissertação, como objetivo o estabelecimento de alguns parâmetros físico-químicos e celulares da secreção mamária sem procurar, entretanto, correlacioná-los com o estado de saúde da

mama. Deve ser, ainda, ressaltado que nessas pesquisas, realizadas no final da década de 40 até o início da década de 70 do século passado, (BRATLIE, 1954; CARROL, 1961; SMITH et al., 1967; WHELOCK et al., 1967a,b; ZIV; GORDIN, 1973) não foi realizado o exame físico da glândula mamária nem avaliadas as características macroscópicas da sua secreção no período seco.

Finalizando estas considerações, salienta-se que esta pesquisa dedicou-se a descrever algumas informações necessárias ao maior conhecimento do período seco, com o objetivo de oferecer mais subsídios, ao médico veterinário, para o diagnóstico das mamites nesse período, sendo que outras pesquisas necessariamente terão de ser conduzidas para avaliar aspectos não contemplados nesta dissertação como a avaliação da eficiência da terapia da vaca seca, porém para que uma avaliação dos possíveis tratamentos possa ser realizado é necessário que, primeiramente, seja estabelecido o diagnóstico exato da enfermidade, pois esta é a base de toda a terapia a ser utilizada, ou seja não existem medicamentos ineficazes, existem sim a má-prescrição e utilização do arsenal terapêutico que nos é oferecido. Paradoxalmente, em relação ao período seco observou-se uma excessiva preocupação dos pesquisadores com os tratamentos a serem instituídos e uma pequena preocupação no desenvolvimento de pesquisas relacionadas à avaliação clínica da glândula mamária.

5.1 AVALIAÇÃO DO EXAME FÍSICO DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA DURANTE O PROCESSO DE SECAGEM

Apesar da palpação da glândula mamária ser considerada como fundamental durante o exame clínico, sendo a sua realização recomendada e descrita com detalhe nos tratados veterinários sobre semiologia, observou-se pela literatura compulsada que não houve por parte da comunidade científica o interesse em realizar pesquisas sobre o tema, sendo poucas aquelas que incluíram na sua metodologia o estudo das características da mama por meio da sua palpação ou mesmo da sua inspeção direta.

Para o estudo dos achados encontrados por palpação da glândula mamária dos bovinos, nesta dissertação, utilizou-se a metodologia preconizada por BIRGEL (1982), sendo avaliadas, particularmente, aquelas alterações palpáveis relacionadas à consistência da glândula mamária, à resistência à introdução do dedo na cisterna da glândula mamária (*sinus lactifer*), à presença de um cordão no interior da cisterna do teto (*sinus papillaris*) e a ocorrência de prolapso do epitélio

de revestimento interno do conduto do orifício do teto (*ductus papillaris*). Complementando esse exame físico da glândula mamária avaliou-se durante a evolução do período seco as seguintes características: plenitude e a distensão da mama e dos tetos, presença de edema da glândula mamária, ocorrência da ejeção espontânea do leite, quantidade e aspecto da secreção láctea, assinalando a sua coloração, consistência e a presença de grumos.

No capítulo de resultados descreveu-se, com detalhes, as manifestações clínicas encontradas durante o exame da mama, sendo que a repetição das informações contidas naquele capítulo foi considerada desnecessária. Assim, a discussão sobre a avaliação da palpação de glândulas mamárias estará restrita a algumas considerações e observações sobre os resultados anteriormente apresentados.

5.1.1 Avaliação do Exame Físico da Glândula Mamária na Fase Final da Lactação, no 45 ° Dia do Período Seco e no Retorno da Lactação

Ao comparar os resultados obtidos durante o exame físico da glândula mamária na fase final da lactação com àqueles referidos por Birgel (1982) e Birgel Júnior (2006) observou-se uma similaridade entre as frequências de consistência mamária classificadas com sendo do tipo II - Macia, Tipo III - Firme e Tipo IV - Fibrosada, bem como uma similaridade com os achados clínicos relatados por Birgel Junior (2006) durante o exame da cisterna da glândula e da cisterna do teto, sendo que durante a inspeção do orifício do teto Birgel Junior (2006) também relatou com frequência a ocorrência de prolapso do epitélio de revestimento interno do conduto do orifício do teto (*ductus papillaris*).

A análise dos conhecimentos sobre a palpação da glândula mamária sadias de bovinos da raça Holandesa durante a lactação, considerando entre eles, aqueles encontrados nesta dissertação de mestrado permitiram as seguintes considerações:

- em glândulas mamárias sadias, não foram encontradas mamas que pudessem ser classificadas como apresentando uma consistência do Tipo V – indicador da existência de endurecimento difuso da mama - ou uma consistência do Tipo VI - indicadora da existência de um processo inflamatório agudo;
- a presença, em mamas sadias, de grande resistência na introdução do dedo na cisterna da glândula, assim como, de um cordão endurecido de espessura considerável no interior do teto devem ser interpretados como cicatrizes de processos inflamatórios da mama ocorridos em lactações anteriores;

- a ocorrência de prolapsos do orifício do teto pode estar associada a erros no manejo da ordenha, como ordenhas muito longas ou equipamentos desregulados, sendo que essa alteração foi observada com mais frequência em vacas pluríparas, porém não determinou alterações na qualidade do leite produzido pela mama (Birgel Junior, 2006).

Demonstrou-se na presente pesquisa que o processo de secagem da glândula mamária determinou alterações na consistência da mama, pois no retorno da lactação a frequência de glândulas classificadas como sendo do Tipo III (firme) foi maior do que a observadas antes do início da secagem e no 45º dia do período seco. Deve ser ressaltado que mamas apresentando uma consistência firme, nas quais é possível a palpação de pequenos nódulos fibrosos, dispersos pelo parênquima glandular são características consideradas, indiscutivelmente, fisiológicas ou dentro dos padrões de normalidade para mamas de vacas da raça Holandesa. Os resultados da presente dissertação evidenciaram que o processo de secagem da mama foi um dos fatores responsáveis por alterações na consistência da mama. Afora a involução da mama durante o período seco, a fase da lactação também é um fator que determinou alterações na consistência da mama, pois Birgel Junior (2006) relatou, em vacas da raça Holandesa que estivessem com mais de 200 dias de lactação, apresentavam um maior percentual de mamas classificadas como Tipo III - firme do que vaca que estavam no terço médio da lactação.

O processo inflamatório fisiológico associado à retenção do leite durante o processo de secagem não determinou modificações que pudessem ser percebidas através da palpação da cisterna da glândula e da cisterna do teto, sendo inclusive evidenciado a diminuição na frequência de tetos nos quais podia ser percebida a presença de um delicado cordão endurecido no seu interior.

Ao comparar as características da palpação retro-mencionadas, considerando o estado de saúde da glândula mamária, no decorrer do processo de secagem, verificou-se que não havia diferenças entre os três grupos (sadias, distúrbio de secreção e mamite) no 45º dia do período seco e no retorno da lactação, porém, neste momento, faz-se necessário relatar que no retorno da lactação 57,1 % das mamas com mamites no período seco apresentavam uma piora na qualidade do leite produzido e 16,7 % (2/12) das mamas com mamite durante o processo de secagem apresentavam fibrosamento da mama, cisternite ou galactoforite no 45º dia do período seco e/ou no retorno da lactação. Em relação a essas duas mamas com mamite no período seco, os seguintes comentários merecem ser apresentados:

- uma glândula mamária classificada como tipo III – Firme na fase final da lactação e no 45º dia do processo de secagem, e que durante o processo de secagem apresentava

inúmeros grumos grandes na secreção láctea no 15º, no 30º e no 45º dia do período seco, apresentou no retorno da lactação um perceptível fibrosamento do parênquima mamário, sendo classificada como Tipo IV – Fibrosada, associada a grande resistência à introdução do dedo na cisterna da glândula;

- uma glândula mamária classificada como tipo IV – Fibrosada na fase final da lactação e no 45º dia do processo de secagem, que durante o processo de secagem apresentava grumos semelhantes a massas purulentas na secreção láctea no 3º ao 30º dia do período seco, apresentou no retorno da lactação um perceptível fibrosamento com atrofia do parênquima mamário e reduzida produção de leite, sendo classificada como tipo IV – Fibrosada, associado a grande resistência à introdução do dedo na cisterna da glândula e a leve espessamento da mucosa da cisterna do teto.

O processo de secagem favoreceu a recuperação dos tetos nos quais era perceptível a presença de prolapso de pequena severidade do epitélio de revestimento do conduto do orifício do teto. Em contrapartida, o processo de secagem não influenciou na recuperação de prolapsos considerados de grande severidade, levando a conclusão que este grau de prolapso torna-se irreversível, mesmo após longos períodos sem ordenha; entretanto a retomada das ordenhas diárias e possivelmente da influência dos mesmos fatores predisponentes, determinaram recidivas na ocorrência dos prolapsos de pequena severidade.

5.1.2 Avaliação do Exame Clínico da Glândula Mamária de Bovinos da Raça Holandesa, Criados no Estado de São Paulo, durante a Evolução do Processo de Secagem da Mama

A partir do momento em que a ordenha é interrompida, iniciando o processo de secagem, o acúmulo de leite no interior da mama provocaria um aumento da pressão intra-alveolar, resultando na inibição da produção láctea pelas células alveolares, induzindo um processo de involução mamária (AKERS et al., 1990; FOLEY et al. 1972; HURLEY, 1989; WHEELLOCK et al, 1966). O declínio da atividade glandular aliado à reabsorção dos constituintes lácteos determinariam alterações na constituição da secreção glandular (ANDERSON; MACLEOD, 1949; HOLST et al., 1987; OLIVER; SORDILLO, 1989; SMITH et al., 1967), sendo que estas modificações durante o período seco poderiam ser avaliadas através da inspeção e da palpação

das mamas. Na avaliação das mamas e dos tetos, durante o processo de secagem, as seguintes considerações puderam ser apresentadas:

Relativo a avaliação do grau de **plenitude e distensão da mama**, verificou-se que em fase inicial do processo de secagem, ocorria aumento do grau de distensão da mama, pois no primeiro dia após seu início houve um significativo aumento da frequência de mamas classificadas como distendidas (22,7%), sendo essa abrupta distensão reflexo da retenção de leite observada nos primeiros dias do período seco. Segundo as informações de Smith e Todhunter (1982) a glândula mamária poderia acumular de 75 a 80 % de sua produção média diária após a interrupção da lactação. A seguir, com a evolução do processo de secagem ocorreu uma gradual diminuição da distensão da mama, refletindo o início do processo da reabsorção da água da secreção láctea, componente que representa 80% da constituição do leite. A partir do 10º dia do período seco, verificou-se que a frequência de mamas classificadas como não distendidas, ou seja, nas quais o processo de involução havia chegado ao seu final, aumentaram, respectivamente, de 18,2% para 61,4% das mamas examinadas no 45º dia do processo de secagem.

Com a aproximação do momento do parto, a glândula mamária entra na sua fase de colostrogênese, sendo que entre as glândulas avaliadas nesta dissertação, observou-se que quatro delas, ou seja, uma vaca, haviam iniciado a fase de colostrogênese no 45º dia do período seco. Estas quatro mamas, ao serem submetidas à palpação, no 45º dia do período seco, foram classificadas como distendidas com conteúdo líquido no seu interior, nas quais a pele podia ser pregueada com certa dificuldade, não sendo verificado a presença de edema. O parto deste animal ocorreu nove dias após esta avaliação. Caso essas mamas tivessem sido acompanhadas durante a evolução da fase preparatória do parto, seria esperado, conforme foi salientado por Smith e Todhunter (1982), que nos três últimos dias antes da parição ocorresse uma significativa distensão da glândula mamária.

A plenitude e a distensão da mama não sofreu influência do estado de saúde da glândula mamária durante o processo de secagem, pois mesmo as glândulas que apresentaram mamite tiveram um processo de involução com as mesmas características de distensão comparadas às mamas sadias e com distúrbio de secreção, sendo que, nos 12 quartos com mamites durante o período seco diagnosticou-se apenas a forma catarral crônica, a qual não se caracteriza por apresentar alterações no volume da glândula, mas sim grumos na secreção láctea. As observações da presente dissertação não confirmaram as observações de Ward e Schultz (1974) que relataram em mamas com mamite na primeira semana do período seco, uma distensão da mama considerada anormal, sendo acompanhada de alteração no aspecto da secreção láctea.

Relativo à **avaliação dos tetos** durante a evolução do processo de secagem, constatou-se, numa fase inicial, o aumento do grau de distensão dos tetos, sendo que a retenção de leite nos primeiros cinco dias após a interrupção da ordenha determinou que até 11,4 % dos tetos avaliados se apresentassem extremamente distendidos com paredes tensas, lisas e luzidios e que 63,6% dos tetos estivessem distendidos nesse período.

A partir do 10º dia do processo de secagem, ocorreu a gradual diminuição da distensão dos tetos, refletindo a absorção de água da secreção mamária retida na glândula, sendo verificado que a frequência de tetos classificados como não distendidos aumentou de 4,5 % para 61,4% dos tetos examinados no 45º dia do processo de secagem.

A avaliação da ocorrência de **ejeção espontânea de secreção láctea** durante o processo de secagem está intimamente correlacionada ao grau de distensão das mamas e dos tetos devido ao represamento do leite, após a interrupção da lactação. Na primeira semana do processo de secagem a incontinência láctea foi observada em 29,5 % dos tetos avaliados, entre o 1º e 3º dia do processo de secagem. Com o evoluir do processo de secagem da mama este percentual diminuiu, sendo que no 15º dia do processo de secagem a ejeção espontânea foi observada em 9,1% dos tetos avaliados, enquanto no 30º e 45º dia do processo de secagem podia ser observada, respectivamente, em 2,3% e 0,0 % dos tetos. Anteriormente, Wheelock et al. (1967a) haviam verificado que a ejeção espontânea de secreção láctea era um fato comum durante o período seco, podendo ser observado em um terço das vacas por eles examinadas, porém diferentemente do observado na presente dissertação, esses autores relataram que a partir da 2ª semana do período seco esta incontinência láctea não eram mais observadas.

Na avaliação do orifício do teto, Dingwell et al. (2003) e Williamson et al. (1998) relataram a presença de tampão de queratina, ocluindo o orifício do teto. A presença deste tampão, de acordo com as afirmações de Williamson et al. (1998), confere a glândula mamária importante proteção contra novas infecções no período seco, pois 97 % das novas infecções durante o processo de secagem foram observadas em mamas com tetos sem o tampão, enquanto somente 3 % das novas infecções ocorreram em mamas que tinham o tampão ocluindo o orifício do s teto.

Este tampão, segundo Dingwell et al. (2003), se forma durante o processo de secagem, sendo que a ocorrência de ejeção espontânea de secreção láctea impede a formação deste tampão de queratina no orifício do teto. Segundo Dingwell et al. (2003) e Williamson et al. (1998), a ejeção espontânea de leite não foi considerada como desejável durante o período seco, pois favorecia a colonização da glândula mamária por agentes bacterianos durante o processo

de secagem, sendo válido supor que mamas que apresentassem incontinência láctea seriam mais suscetíveis a novas infecções no período seco.

Apesar da reconhecida importância de se avaliar a presença do tampão de queratina, no orifício do teto de mamas submetidas ao processo de secagem, tal avaliação não pode ser feita na presente pesquisa, devido à necessidade da colheita de secreção láctea em diversos momentos do período seco, impedindo a formação do tampão de queratina, pela abertura constante do orifício do teto.

A avaliação da **quantidade de secreção láctea** presente na mama, durante a evolução do processo de secagem, finaliza as análises que refletem as modificações quantitativas da secreção láctea durante o evoluir do período seco. Conforme descrito no capítulo Material e Métodos desta dissertação, a quantidade de secreção láctea colhida para determinações físico-químicas e celulares foi padronizada em 100 ml, desta forma, a quantidade exata de secreção láctea presente na mama somente foi determinada quando ela era menor do que 100 ml.

Observou-se que a partir do final da primeira semana do processo de secagem, a constante reabsorção de água da secreção láctea, aliada a suspensão da atividade secretória das células alveolares, determinou a diminuição na quantidade de secreção presente na mama, com o evoluir do período seco, sendo que entre o 15º e o 30º dia do período seco observou-se que a frequência de mamas nas quais era possível a ordenha de mais de 100 ml de secreção diminuiu de 86,4 % para 47,7 %. Associado a esta diminuição da quantidade de secreção no interior da glândula mamária verificou-se, durante a evolução do período seco, um gradual aumento na frequência de mamas e tetos classificados como não distendidos, pequenos e vazios, nas quais a pele podia ser pregueada sem maiores dificuldades.

Como na presente dissertação, o volume de secreção retirada a cada momento examinado era limitada a 100 ml, a comparação do volume de secreção presente no interior da mama obtido nesta pesquisa, não puderam ser perfeitamente realizada com aqueles referidos na literatura, entretanto foi possível evidenciar que eles foram concordantes com as observações realizadas por Hurley (1989) e Smith et al. (1967), pois esses autores verificaram, ao final do primeiro mês do período seco, que a quantidade média de secreção láctea presente na mama havia diminuído para cerca de 40 ml. Nos resultados desta dissertação pode-se verificar que 29,5 % das mamas apresentavam menos de 40 ml de secreção láctea no 30º dia do período seco e que 22,8 % apresentavam volume de leite entre 40 e 100 ml. Apesar da constante diminuição da quantidade de secreção láctea presente na mama com a evolução do processo de secagem, observou-se nos resultados da presente dissertação que no 45º dia de involução mamária, ainda, 34,1 % das mamas apresentavam quantidades de secreção maiores do que 100 ml.

Durante a avaliação do **aspecto da secreção láctea** das mamas, no evoluir do processo de involução mamária, pode ser observado, a partir do 1º dia após a interrupção da lactação, a diminuição da frequência de secreções classificadas como leite, sendo que a mesma foi sendo substituída por uma secreção aquosa de coloração branca ou creme clara mas que mantinha o aspecto de leite. O aspecto aquoso da secreção láctea se deve, possivelmente, a menor atividade das células alveolares com sensível diminuição da produção de caseína, lactoglobulina e lactose, diminuindo, com isto, a densidade da secreção, aliada ao mais vagaroso processo de absorção da água, nos primeiros dias de involução.

No 7º dia do período seco, os percentuais de mamas com secreção de leite foi igual a 45,5 % e com secreção aquosa com aspecto de leite foi igual a 36,4 %, enquanto no 30º dia de secagem observou-se que 9,1 % das secreções mantinham aspecto de leite e 61,4 % apresentavam aspecto aquoso. Com o transcorrer do período seco, verificou-se que a frequência de mamas que apresentavam secreção semelhante a leite continuou a diminuir, sendo que no 45º dia do período seco, este tipo de secreção não foi mais observada.

Paralelamente a essas alterações, verificou-se que a partir do 7º dia do período seco 18,2 % das mamas apresentavam uma secreção com aspecto viscoso de coloração amarelada, decorrente a absorção da água presente na secreção láctea, concentrando, com isto, os constituintes lácteos, sendo que entre o 10º e o 45º dia do processo de secagem este aspecto de secreção foi observado entre 18,2 % e 29,5 % das mamas examinadas,

No 45º dia do processo de secagem, 40,9 % das mamas apresentavam uma secreção pré-colostrar, cujo aspecto era semelhante a mel ou a soro lácteo. A presença da secreção pré-colostrar demonstrou similaridade com a divisão temporal do período seco proposta por Smith e Todhunter (1982), correspondendo à fase de lactogênese e colostrogênese, que se inicia nos últimos 15 dias de gestação.

Complementando a avaliação da secreção mamária, foram consideradas as observações relacionadas à **ocorrência de grumos na secreção láctea**, durante a evolução do processo de secagem. No período compreendido entre o 5º dia e o 7º dia do processo de secagem, se verificaram as maiores frequências de grumos na secreção láctea, respectivamente, iguais a 31,8% e 25,0% das amostras avaliadas, sendo que, a partir do 10º dia do processo, a frequência de grumos diminuiu, mas continuou sendo detectada em todos os momentos de colheita até o 45º dia do período seco; nesse período a frequência de secreções com grumos variou entre 6,8 e 9,1% das amostras examinadas.

Wheelock et al. (1967a) descreveram, em seus experimentos, que ao acompanhar o processo de secagem de 24 glândulas mamárias, verificaram que 16 destas glândulas

apresentaram, em suas secreções lácteas, grumos em um ou mais momentos até o 16º dia do processo de secagem. No momento que se detectou a presença de grumos na secreção láctea, Wheelock et al. (1967a) afirmaram que a mama encontrava-se livre de agentes bacterianos. Apesar dos referidos autores descreverem que a característica dos grumos encontrados na secreção mamária do período seco assemelhava-se às de grumos presentes no leite de glândulas com mamite, Wheelock et al. (1967a) não consideraram esta intercorrência relacionada à enfermidade da mama.

Ward e Schultz (1974), ao colherem amostras de secreção láctea de 790 glândulas mamárias, no 7º dia após a interrupção da ordenha, verificaram que 12,5% destas mamas apresentaram grumos em sua secreção. Estes resultados assemelharam-se aos da presente pesquisa, na qual 25 % das mamas apresentaram grumos em sua secreção, no 7º dia do processo de secagem. Ward e Schultz (1974), ao observarem grumos na secreção mamária, consideraram que esta ocorrência significou uma alteração do estado de saúde da mama, caracterizando um quadro de mamite.

Na presente pesquisa, a ocorrência de grumos na secreção láctea foi considerada uma manifestação que refletia uma alteração no estado de saúde da mama. No total foram 24 mamas (54,5 % - 24/44) que apresentaram grumos de diversas características em suas secreções durante o processo de secagem, sendo que em 12 mamas a ocorrência de grumos foi apenas em um dos momentos avaliados, durante o período seco e, nas 12 mamas restantes verificou-se a ocorrência de grumos, em suas secreções, em mais de um momento avaliado.

Apesar da presença deste distúrbio ter sido considerada uma alteração no estado de saúde da mama, a ocorrência de grumo não foi, em todas as glândulas, considerada como mamite, visto que optou-se por levar em consideração a importância da reincidência deste distúrbio. Em conclusão, considerou-se que as 12 glândulas que apresentaram reincidência de grumos nas suas secreções lácteas apresentaram mamite durante o processo de secagem, e que as 12 glândulas mamárias nas quais verificou-se grumos em suas secreções, em apenas um momento avaliado, apresentaram distúrbio de sua secreção láctea no evoluir do processo de secagem. Ao separar estes dois grupos, evitava-se que durante a comparação entre os parâmetros físico-químicos e celulares com o grupo de mamas sadias, as glândulas que tiveram apenas um episódio isolado de grumo, pudessem influenciar os resultados dos parâmetros determinados, não permitindo uma correta avaliação das possíveis diferenças físico-químicas ou celulares que a secreção das mamas que apresentaram evidentes sinais inflamatórios (mamite) pudessem ter exibido.

Durante a avaliação das **características dos grumos** presentes na secreção láctea, de

acordo com o estado de saúde da mama, verificou-se, com maior frequência, na secreção láctea de mamas com distúrbio da secreção, a ocorrência de grumos pequenos (classificadas como B) e alguns grumos grandes (classificadas como C). Na secreção láctea de mamas nas quais foi diagnosticado mamite durante o processo de secagem, verificou-se, também, uma maior porcentagem de secreções que apresentavam grumos pequenos (classificadas como B) e que apresentavam alguns grumos grandes (classificadas como C), mas havia uma relativa frequência de secreções que apresentavam inúmeros grumos grandes (classificadas como D) e que apresentavam predomínio de massas purulentas (classificadas como E), diferentemente das glândulas com distúrbio da secreção.

5.2 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO – QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO

Na revisão de literatura desta dissertação, procurou-se descrever os resultados das pesquisas que tiveram como objetivos avaliar a influência do processo de secagem nos valores de pH (CARROL, 1961), dos teores de cloretos (CARROL, 1961; WHEELOCK et al., 1967a), de proteína (HURLEY, 1989; ZIV; GORDIN, 1973), de lactose (HURLEY, 1989; WHEELOCK et al., 1967a), de gordura (HURLEY, 1989; SMITH et al., 1967; WHEELOCK et al., 1967a) de sólidos totais (ZIV; GORDIN, 1973) e do número de células somáticas (ANDERSON; MACLEOD, 1949; BRATLIE, 1954; HURLEY, 1989; MCDONALD; ANDERSON, 1981; NICKERSON, 1989; THIERS et al., 2000), porém não foram encontradas pesquisas que tivessem o objetivo de avaliar os valores de eletrocondutividade da secreção láctea durante o período seco.

Dentre estas pesquisas, sete avaliaram as modificações dos parâmetros físico-químicos e celulares durante o processo de secagem, ou seja, em mais de um momento do período seco, (BRATLIE, 1954; CARROL, 1961; HURLEY, 1989; MCDONALD; ANDERSON, 1981; SMITH et al., 1967; WHEELOCK et al., 1967 a; ZIV ; GORDIN, 1973), sendo que somente quatro delas tiveram a preocupação de acompanhar nos mesmos quartos mamários a evolução do processo de secagem (BRATLIE, 1954; CARROL, 1961; MCDONALD; ZIV ; GORDIN, 1973).

Antes de iniciar propriamente a discussão sobre a influência do processo de secagem

nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea, considerou-se importante salientar que nas 20 glândulas mamárias que permaneceram sadias durante o processo de secagem, observou-se que os valores de todos os parâmetros do leite avaliados antes do início do processo de secagem, bem como naquelas colhidas no retorno à lactação estavam dentro dos intervalos de normalidade referidos nas pesquisas brasileiras sobre o assunto (AMARAL et al., 1988; ARAUJO, 1994; BENATTI, 2001; BIRGEL JUNIOR, 2006; BRITO et al., 1997; CIMIANO; ALVAREZ, 1986; COSTA et al., 1995; CUNHA, 1988; D'ANGELINO et al., 1988; DELLA LIBERA, 1998; ESTRELLA, 2001; FERREIRO et al., 1980; GRANZOTI, 1985; MARQUES, 2003; ROSENFELD, 2005; SANT'ANNA, 2004; SANTOS; RODRIGUES, 1983; VIANNI; NADER FILHO, 1990).

A análise dos resultados das características físico-químicas e celulares da secreção láctea durante o período seco permitiram a conclusão que, nas mamas nas quais a supressão da ordenha tenha ocorrido há mais de três dias, foram observadas alterações similares àquelas descritas nas mamites diagnosticadas durante a lactação ou nas retenções de leite, mas numericamente mais pronunciadas do que tais períodos; sendo que, no período compreendido entre o 3º e o 45º dia do período seco, observou-se as seguintes variações nos valores das características físico-químicas e celulares da secreção láctea de vacas sadias: pH entre 7,08 e 7,34; Eletrocondutividade entre 7,50 e 8,35 mS/cm; Cloretos entre 242,20 e 287,66 mg/dl; Lactose entre 1,20 e 2,45 g/dl; Índice Cloretos/Lactose entre 12,99 e 26,40; Gordura entre $2,27 \pm 7,97$ g/dl; Proteína entre 6,00 e 9,47 g/dl; Sólidos Totais entre 10,73 e 16,35 g/dl; Número de Células Somáticas entre 1.930.450 e 6.486.900 células/ml.

A análise dos resultados das características físico-químicos e celulares da secreção láctea no decorrer do processo de secagem demonstrou a significativa influência deste período sobre todos os parâmetros avaliados nesta dissertação e, a seguir, detalhadamente discutidos:

Após a interrupção da ordenha os valores de **pH** da secreção láctea aumentaram abruptamente entre o 1º e o 3º dia e de forma gradual entre o 3º e o 10º dia do período seco, após o 10º dia verificou-se uma tendência a estabilização dos valores. A significativa alcalinização do leite, durante o período seco, também foi anteriormente relatada por Carrol (1961), mas ao comparar a magnitude das alterações do pH e o momento que elas ocorreram, não houve concordância dos resultados apresentados nesta dissertação com as observações deste autor. Carrol (1961) somente relatou aumentos nos valores do pH a partir do 4º dia do início do período seco, com valores que variaram de 6,65 no 4º dia do período seco, para 7,43 no 18º dia do período, sendo este o último dia avaliado. A retenção do leite no interior da mama, conseqüente a interrupção da ordenha, desencadeia um processo de involução do

parênquima mamário, com intensa degradação das células alveolares e decorrente relaxamento dos complexos juncionais entre estas células (HURLEY, 1989). A relativa abertura do espaço entre as células facilita a entrada de componentes alcalinos do sangue, dentre eles o bicarbonato, provocando, com isto, o aumento do pH da secreção láctea, similarmente do que pode ser observado durante a ocorrência de mamite (SCHALM et al. 1971).

Após a interrupção da ordenha os valores da **eletrocondutividade** da secreção láctea aumentaram abruptamente entre o 1º e o 3º dia, sendo que, no período compreendido entre o 3º e o 45º dia do período seco, os valores de eletrocondutividade sofreram flutuações sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição pudesse ser constatada. O aumento dos valores da eletrocondutividade da secreção láctea está relacionado ao aumento da quantidade de íons sódio, cloro e potássio presentes na secreção, sendo que no período seco as concentrações na secreção láctea destes íons apresentam-se semelhantes às sanguíneas, devido ao relaxamento dos complexos juncionais entre as células alveolares (HURLEY, 1989). De uma forma similar ao que ocorria durante o processo de secagem, Rosenfeld (2005) observou que a retenção do leite era responsável por alterações na eletrocondutividade, sendo, entretanto, a magnitude das variações menores do que as observadas nesta dissertação.

Após a interrupção da ordenha os teores de **cloretos** da secreção láctea aumentaram abruptamente entre o 1º e o 3º dia, sendo que, no período compreendido entre o 3º e o 10º dia foram observadas flutuações dos teores sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição pudesse ser constatada, a partir do 15º dia, os teores de cloretos aumentaram gradualmente até o 45º dia do período seco. O significativo aumento dos teores de cloretos observados durante o processo de secagem, também havia sido anteriormente relatado por Carrol (1961) e Wheelock et al. (1967a), porém Carrol (1961) observou alterações mais significativas, com valores crescentes a partir do 2º dia do período seco até o 18º dia, não sendo observada tendência à estabilização dos teores de cloreto entre o 3º e o 15º dia do período seco, da mesma forma como foi descrito nesta dissertação. Além disso, os teores médios de cloretos observados por Carrol (1961), no 15º (330 mg/dl) e no 18º dia (390 mg/dl) foram maiores do que os observados em qualquer momento avaliado nesta pesquisa.

Ao contrário das características anteriormente descritas, após a interrupção da ordenha os teores de **lactose** da secreção láctea diminuíram abruptamente entre o 1º e o 5º dia, sendo que, no período compreendido entre o 5º e o 30º dia do processo de secagem verificou-se que os valores de lactose continuaram diminuindo, porém de forma gradual. A significativa diminuição dos teores de lactose na secreção láctea nesta dissertação confirmam as observações de Hurley (1989) e Wheelock et al (1967a) de que na primeira semana do período seco ocorria

a abrupta diminuição dos teores de lactose na secreção láctea, sendo que Hurley (1989) observou diminuições mais expressivas do que as encontradas nesta dissertação. A retenção de leite determinaria uma diminuição dos seus teores lácteos de lactose (ROSENFELD, 2005), sendo que Wheelock et al. (1966), Akers et al. (1990), Foley et al. (1972) e Hurley (1989) afirmaram que este abrupto acúmulo de leite após a interrupção da ordenha provoca a inibição da produção de substâncias sintetizadas pelas células alveolares, dentre elas, a lactose, explicando, com isso, a baixa concentração de lactose na secreção láctea durante o processo de secagem.

Após a interrupção da ordenha os valores do **índice cloretos/ lactose** da secreção láctea aumentaram abruptamente entre o 1º e o 5º dia, sendo que, no período compreendido entre o 5º e o 45º dia do período seco foram observadas flutuações dos valores sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição pudesse ser constatada. Segundo Schalm et al. (1971), os cloretos e a lactose são os componentes do leite mais importantes para a manutenção da sua isotonicidade, sendo que em caso de mamite ocorre redução da síntese de lactose pelas células alveolares e um aumento proporcional dos níveis de cloretos no leite, mantendo a osmolaridade da secreção. Durante o processo de involução mamária pode ser observada a inibição da síntese de lactose, assim como das proteínas lácteas e da gordura, em decorrência verifica-se um aumento dos níveis de cloretos na secreção láctea, como consequência dessas alterações observou-se o significativo aumento do índice cloretos/ lactose, sendo este aumento considerado de maior magnitude quando comparado ao do leite mamitoso.

Após a interrupção da ordenha, entre o 1º e o 15º dia do início do processo de secagem verificou-se que os teores de **proteína** na secreção láctea aumentaram, a partir deste momento os teores sofreram flutuações sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição pudesse ser constatada. Anteriormente, Ziv e Gordin (1973) haviam mensurado os teores de proteína total em amostras lácteas colhidas no 14º, 28º e 38º dia do processo de secagem, sendo que esses autores observaram expressivo aumento destes teores, porém em termos absolutos os valores relatados por Ziv e Gordin (1973) foram muito maiores do que os encontrados nesta pesquisas e os referidos por Hurley (1989), possivelmente estas diferenças foram decorrentes a diferenças metodológicas. Ao comparar os resultados da presente pesquisa com os de Hurley (1989) verificou-se que este autor observou um constante aumento dos níveis de proteína total nos primeiros 30 dias do processo de secagem, diferentemente do que foi observado nos resultados desta dissertação, nos quais a partir do 15º dia do processo de secagem ocorre uma estabilização dos valores. Durante o período seco, Hurley (1989) destacou a diminuição da síntese de proteínas alveolares (caseína, β -lactoglobulina e α -lactoalbumina), mas mesmo

assim, salientou que pode ser observado um expressivo aumento da proteína total devido a maior concentração de proteínas plasmáticas, sendo a principal delas a lactoferrina, considerada específica no processo de involução mamária. Segundo Sant'Ana (2004), a quantidade de proteína plasmática na mama apresenta íntima relação com alterações na permeabilidade dos vasos, estando aumentada nos processos inflamatórios. O aumento na concentração de proteínas de origem sanguínea na secreção retida na mama foi considerado por Hurley (1989) como decorrentes do relaxamento dos complexos juncionais entre as células epiteliais.

Após a interrupção da ordenha, entre o 1º e o 7º dia do início do processo de secagem verificou-se que os teores de **gordura** na secreção láctea aumentaram gradualmente, permanecendo estabilizados entre o 7º e o 10º dia do início do processo de secagem e, a partir deste momento, os teores diminuíram até o 45º dia do período seco. Estas observações foram semelhantes às referidas por Hurley (1989), porém em termos absolutos, Hurley descreveu que a diminuição era mais intensa do que a observada na presente dissertação. A análise dos resultados obtidos por animal para os teores lácteos da gordura durante o período seco evidenciou uma intensa variação no comportamento individual desta variável durante a evolução do período, sendo que esta falta de um único tipo de padrão no comportamento desta variável já havia sido anteriormente descrito por Smith et al. (1967), Wheelock et al. (1967a) e Hurley (1989). Os resultados do comportamento dos teores de gordura são difíceis de serem explicados, pois supondo ser verdadeira a afirmação que o abrupto acúmulo de leite após a interrupção da ordenha provoca a inibição da produção das substâncias sintetizadas pelas células alveolares (AKERS et al., 1990; FOLEY et al., 1972; HURLEY, 1989; WHEELOCK et al., 1966) seria esperado a diminuição dos valores de gordura desde o início do processo de secagem da mamas e, supondo ser verdadeira a afirmação que durante o processo ocorria reabsorção de água da secreção (SMITH; TODHUNTER, 1982), seria esperado que este aumento dos teores de gordura estivesse associado a um aumento nos teores lácteos de lactose, ao invés da diminuição dos valores de lactose como foi anteriormente relatada.

Após a interrupção da ordenha, entre o 1º e o 7º dia do início do processo de secagem verificou-se que os teores de **sólidos totais** na secreção láctea aumentaram gradualmente, permanecendo estabilizados entre o 7º e o 10º dia e, a partir deste momento, os teores diminuíram até o 30º dia do período seco. Estas observações discordaram dos resultados obtidos por Ziv e Gordin (1973) que verificaram um aumento nos teores de sólidos totais no período compreendido entre o 14º e o 38º dia do período seco, sendo que neste momento os teores de sólidos totais da presente pesquisa apresentaram gradual diminuição. Deve-se salientar que o padrão de variação dos teores de sólidos totais no decorrer do processo de secagem

refletiu principalmente as modificações sofridas pelos teores de gordura presentes na secreção retida na mama.

Após a interrupção da ordenha, entre o 1º e o 7º dia do início do processo de secagem, verificou-se um súbito aumento do **número de células somáticas** presentes na secreção láctea, sendo que, entre o 7º e o 15º dia verificou-se uma tendência à estabilização dos valores e, a seguir, entre o 15º e o 30º dia do período seco observou-se um novo aumento do número de células. Ao comparar os resultados obtidos na presente pesquisa com os resultados dos pesquisadores que avaliaram a influência do processo de secagem sobre o número de células somáticas da secreção láctea (ANDERSON; MACLEOD, 1949; BRATLIE, 1954; HURLEY, 1989; MCDONALD; ANDERSON, 1981; NICKERSON, 1989; THIERS et al., 2000) verificou-se completa concordância no que diz respeito ao significativo aumento do número de células somáticas no período seco. Ao comparar numericamente a média aritmética da contagem de células somáticas, observada nesta pesquisa, com a literatura consultada, levando-se em consideração os momentos correspondentes do período seco, verificou-se concordância com os resultados de Anderson e Macleod (1949), Bratlie (1954) e Hurley (1989); concordância parcial com os resultados de McDonald e Anderson (1981); e, discordância, por serem menores do que os observados nesta dissertação, com os valores referidos por Nickerson (1989) e Thiers et al. (2000). Da mesma forma, os resultados desta dissertação discordaram dos apresentados por McDonald e Anderson (1981), pois estes autores verificaram a gradual diminuição no número de células somáticas entre o 10º e o 25º dia do período seco. O aumento do número de células somáticas no período seco está relacionado, segundo Lee e Outteridge (1981), ao repentino aumento da pressão intramamária após a interrupção da ordenha, gerando um estímulo para migração dos leucócitos para as cavidades e ductos da glândula. Além disso, durante o período seco, verifica-se uma maior facilidade de passagem dos leucócitos por entre as células alveolares, devido ao relaxamento dos complexos juncionais entre as células. McDonald e Anderson (1981) complementaram as afirmações de Lee e Outteridge (1981) afirmando que além do absoluto aumento do número de células somáticas presentes na secreção láctea, a absorção da água presente nesta secreção acarretaria numa concentração do aumento do número de células, ou seja, um maior número de células presentes em um menor volume de secreção.

O aumento da celularidade da secreção láctea, durante a evolução do processo de secagem, pode ser verificado pelo aumento da frequência de amostras reagentes ao **California Mastitis Test: (CMT)**, sendo que a partir do 5º dia do processo de secagem nenhuma das amostras avaliadas durante o período seco apresentou reação negativa ao teste, além disto entre

o 7º e o 45º dia do período seco verificou-se que 100% das reações do CMT foram classificadas como duas ou três cruzes. Schalm e Noorlander (1957) afirmaram que o Teste do CMT sofria influência da fase de lactação, não devendo ser utilizado em amostras de leite obtidas de vacas recém-paridas ou em fase final de lactação, pois a secreção colostrar e a secreção láctea em animais próximos de serem secos apresentavam alta contagem de células somáticas, os resultados da presente dissertação evidenciaram que o uso do Teste do CMT não deve ser recomendado ou utilizado durante o período seco.

Conforme foi anteriormente salientado, a constante reabsorção de água, aliada a suspensão da atividade secretória das células alveolares, determinaram a gradual diminuição na quantidade de secreção presente na mama, em decorrência pode se observar que, de algumas glândulas mamárias, a quantidade de secreção láctea obtida, principalmente após o 30º dia do período seco, era insuficiente para a realização de algumas análises físico-químicas e celulares. Os parâmetros que tiveram suas determinações mais prejudicadas devido à insuficiência de volume amostral foram: os teores de lactose, de gordura, de proteína, de sólidos totais e a contagem de células somáticas. Smith et al. (1967), ao acompanhar o processo de secagem de seis vacas Holandesas, também haviam verificado que por volta de 30 dias do período seco, o volume de secreção láctea retido na mama era insuficiente para a realização das análises laboratoriais.

Antes da execução do delineamento experimental proposto nesta dissertação buscaram-se soluções para a provável insuficiência de volume de secreção láctea das amostras, para tanto se testou a sugestão dos técnicos do Laboratório de Fisiologia da Lactação do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite da ESALQ, fazendo-se uma diluição da secreção láctea com água destilada e multiplicação do resultado, assim obtido, pelo fator de diluição. Assim sendo, realizaram-se alguns testes utilizando leite sem ser diluído e esse leite diluído, com diversas proporções. Observando os resultados finais, notou-se uma grande discrepância entre os valores, sem poder estabelecer uma correspondência, após multiplicação pelo fator de diluição correspondente, ao valor obtido no leite não diluído. Em conclusão pode-se afirmar que os resultados do experimento piloto não eram confiáveis, por tal razão, a glândula mamária que produziu menos do que 40 ml de secreção láctea impossibilitou as determinações da composição química e do número de células somáticas.

5.3 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA CONDIÇÃO DE SAÚDE DA GLÂNDULA MAMÁRIA, DURANTE O PROCESSO DE SECAGEM, NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS E CELULARES DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO

A mamite ou mastite são processos inflamatórios de origem infecciosa ou não que atingem a mucosa, o tecido secretor e/ou o tecido intersticial da glândula mamária, determinando alterações na constituição e na quantidade de leite produzido (BIRGEL, 1982). Esta enfermidade determina uma série de modificações nas características físico-químicas e celulares do leite, sendo que a mensuração de tais características no leite de bovinos em plena lactação auxiliam, juntamente com o exame físico do úbere, o estabelecimento do diagnóstico precoce de uma possível mamite. De acordo com Birgel (1982), para a instalação das mamites seria necessário à interação de dois fatores: os predisponentes, que facilitariam a instalação e desenvolvimento dos agentes bacterianos e; os fatores determinantes, representados particularmente por agentes bacterianos patogênicos.

Dentre os fatores predisponentes, a retenção do leite foi caracterizada por Rosenfeld (2005) como um importante fator associado às inflamações da glândula mamária, pois a permanência do leite nos alvéolos e cisternas da mama tem uma ação irritante para as delicadas estruturas da glândula mamária, bem como é um excelente meio de cultura para instalação e crescimento bacteriano. Além da retenção láctea ser considerada um fator predisponente para a ocorrência de mamites, ela determinaria, segundo Nickerson (1989), uma dilatação do canal do teto associado a uma diminuição do comprimento do canal, facilitando a penetração bacteriana na cisterna do teto e da glândula.

A magnitude das alterações verificadas nas características físico-químicas e celulares do leite mamitoso de uma glândula mamária em plena lactação, permite a sua utilização no precoce diagnóstico das mamites durante o período de lactação, sendo estas alterações caracterizadas, segundo Marques (2003), pelo aumento nos valores do pH - com resultados em torno de 7,02; aumento nos valores de eletrocondutividade - com resultados em torno de 7,48 mS/cm; aumento dos teores lácteos de cloretos - com resultados em torno de 167,6 mg/dl; diminuição nos teores lácteos de lactose - com resultados em torno de 3,89 g/dl; aumento nos valores do índice cloretos/ lactose - com resultados em torno de 4,66; aumento dos teores de proteína - com resultados em torno de 3,61 g/dl; aumento no número de células somáticas - com resultados em torno de 4.977.400 células somáticas/ml e na avaliação indireta do número

de células somáticas através do California Mastitis Test (CMT) observou-se que 90,9 % das reações apresentavam reações classificadas como duas ou três cruzes.

A análise dos resultados obtidos nessa presente dissertação, diferentemente do que foi observado para animais em plena lactação, demonstrou que durante o período seco, a influência da mamite nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea foi parcial e restrita a alguns momentos do processo de secagem, sendo as diferenças entre os valores obtidos no grupo com mamite e no grupo composto por mamas sadias eram de pequena magnitude e similares aos valores encontrados em vacas com mamite em plena lactação (MARQUES, 2003). Na presente dissertação as alterações nas características físico-químicas e celulares na secreção láctea de mamas sadias, com distúrbio de secreção e com mamite durante o processo de secagem foram as seguintes:

- os valores do **pH** e o **índice cloreto/lactose** não sofreram influência da condição de saúde da mama durante o processo de secagem;
- os valores de **eletrocondutividade** da secreção láctea do 5º, 7º, 10º e 15º dia do período seco no grupo com mamite foram maiores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, além disso, no 10º dia do período seco verificou-se que a secreção láctea de mamas com distúrbio da secreção apresentavam valores de eletrocondutividade maiores do que os observados no grupo composto por mamas sadias;
- os teores de **cloretos** da secreção láctea do 10º dia do período seco no grupo com mamite e com distúrbio da secreção eram maiores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, enquanto que no 15º dia do período seco constatou-se que os valores de cloretos encontrados no grupo com mamite eram estatisticamente maiores dos obtidos no grupo composto por mamas sadias;
- os teores de **lactose** da secreção láctea do 5º dia do período seco no grupo com mamite eram menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias;
- os teores de **gordura** da secreção láctea do 7º, 10º e 15º dia do período seco no grupo com mamite eram menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, além disto, no 10º dia do período seco verificou-se que a secreção láctea de mamas com distúrbio da secreção apresentavam teores de gordura menores do que os observados no grupo composto por mamas sadias;
- os teores de **proteína** da secreção láctea do 10º dia do período seco no grupo com distúrbio da secreção láctea eram menores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias;
- os teores de **sólidos totais** da secreção láctea do 7º, 10º e 15º dia do período seco no grupo de mamas com mamite eram menores do que os obtidos no grupo composto por mamas

sadias, além disto, no 10º dia do período seco verificou-se que a secreção láctea de mamas com distúrbio da secreção apresentavam teores de sólidos totais menores do que os observados no grupo composto por mamas sadias;

- o **número de células somáticas** da secreção láctea do 3º e do 5º dia do período seco no grupo de mamas com mamite eram maiores do que os obtidos no grupo composto por mamas sadias, além disto, no 5º dia do período seco verificou-se que a secreção láctea de mamas com distúrbio da secreção apresentavam contagem de células somáticas maiores do que os observados no grupo composto por mamas sadias

Ao se verificar o pequeno significado da determinação dos parâmetros físico-químicos e celulares da secreção láctea para o diagnóstico das mamites, durante o processo de secagem, reafirma-se a importância do exame físico da mama e de sua secreção láctea para o diagnóstico desta enfermidade, sendo necessário, para que a atuação veterinária eficiente, que sejam estabelecidos os momentos do período seco que a glândula mamária estaria mais susceptível a distúrbios e/ou as inflamações decorrentes da retenção de leite.

Com a finalidade de se estabelecer quais eram os melhores momentos para a avaliação física da mama e inspeção de sua secreção láctea, foi necessário, primeiramente, fazer uma avaliação das alterações observadas durante o período seco, sendo que, após esta análise, as seguintes considerações puderam ser realizadas:

- entre o 5º dia e o 7º dia do processo de secagem, se verificou as maiores frequências de grumos na secreção láctea, respectivamente, iguais a 31,8% e 25,0% das amostras avaliadas;
- a partir do 10º dia do processo, a frequência de grumos diminuiu, sendo detectada até o 45º dia do período seco entre 6,8 e 9,1% das amostras examinadas;
- 83,3 % (10/12) das mamas com distúrbio de secreção láctea durante o processo de secagem apresentaram grumos em sua secreção láctea entre o 3º e o 10º dia do período seco;
- 33,3 % (4/12) das mamas com mamite apresentavam grumos na secreção até o 30º ou 45º dia do processo de secagem, sendo que em duas delas no retorno da lactação pode se observar no exame clínico destas duas mamas o endurecimento do parênquima glandular e o espessamento de suas estruturas internas.

Apesar de reconhecer-se que a amostragem era pequena, concluiu-se que período compreendido entre o 3º e o 10º dia do período seco uma significativa parcela das mamas examinadas apresenta alterações no estado de saúde da mama, sendo este o período de maior

susceptibilidade da mama. Com o evoluir do período seco, parte dessas alterações desaparecem por volta do 15º dia e parte delas permaneceram até o final do período seco. Deste modo, dentro de um planejamento de assistência veterinária, recomenda-se a avaliação clínica da mama e de sua secreção láctea em três momentos estratégicos: o primeiro momento seria ao final da primeira semana do período seco, o segundo momento seria por volta do 15º dia do período seco e o terceiro momento seria entre 30 e 45º dia do período seco. Nestes momentos deve-se proceder à inspeção e palpação da mama, bem como a avaliação das cisternas da glândula e do teto.

A ocorrência de grumos em um único momento do período seco não determinou, na avaliação dos resultados dessa dissertação, alterações do parênquima e nas estruturas internas da mama, além do mais não esteve relacionado com piora na qualidade do leite no momento do retorno da lactação. Essas observações permitiram supor que a ocorrência de grumos pode estar relacionada ao processo inflamatório fisiológico consequente a retenção de leite após a interrupção da lactação, não havendo a necessidade da instituição de uma terapia. A reincidência de grumos na secreção, ou a detecção desta alteração após 15 dias do processo de secagem justificaria, segundo os resultados apresentados, que fossem adotadas medidas como o esgotamento do quarto afetado ou seu tratamento medicamentoso.

5.4 AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS DO EXAME MICROBIOLÓGICO DA SECREÇÃO LÁCTEA DE BOVINOS DA RAÇA HOLANDESA, CRIADOS NO ESTADO DE SÃO PAULO DURANTE A EVOLUÇÃO DO PROCESSO DE SECAGEM DA GLÂNDULA MAMÁRIA

Ao se avaliar a prevalência de isolamento bacteriano nas 44 mamas utilizadas na presente pesquisa, observou-se que na fase final da lactação foi possível o isolamento de agentes bacterianos em 65,9% (29/44) das amostras, sendo que a comparação destes resultados com aqueles referidos na literatura brasileira evidenciaram que eles estão em concordância com as pesquisas de diversos autores (ARAUJO, 1994; COSTA et al., 2001 DELLA LIBERA, 1998; PRIETO, 1993) que, também, relataram, ser grande a frequência de isolamento de bactérias em amostras de leite obtidas de mamas consideradas como sadias.

É importante salientar que a presença dos agentes infecciosos na glândula mamária poderia ocorrer de forma fugaz e passageira determinando reações orgânicas mínimas, ou

poderia, em outros casos, determinar, efetivamente, a difusão da colonização bacteriana nos tecidos mamários, sendo a presença do microorganismo persistente e duradoura, originando uma infecção e determinando reações orgânicas mais severas associadas a alterações do parênquima glandular. Os limites entre infecção e doença não seriam perfeitamente delimitados, podendo sofrer variação na dependência da metodologia e técnicas do pesquisador, como também dos seus critérios mais ou menos rígidos na avaliação dos resultados obtidos.

Apesar da utilização dos resultados do exame microbiológico ser considerado um excelente critério para assegurar que a amostra de leite foi obtida de uma mama sadia, o uso único ou isolado dos resultados deste exame não permitiriam o estabelecimento correto e definitivo do diagnóstico das mamites. Segundo as observações de Birgel Junior (2006), menos de 25 % das amostras de leite com isolamento bacteriano apresentaram alterações dos elementos constitucionais das características físico-químicas e celulares, que permitiriam concluir que a mama estava doente.

Anteriormente, em diversos pontos desta dissertação considerou-se que a mesma não havia sido delineada para estudar a dinâmica das infecções bacterianas durante o período seco, pois a retirada do tampão de queratina do orifício do teto (DINGWELL et al., 2003; WILLIAMSON et al., 1998) e a periódica abertura desta estrutura, em decorrência as colheitas de amostra em diversos momentos do período seco, seria um fator predisponente para que a mama sofresse a invasão e a multiplicação de um agente bacteriano no seu interior. Por outro lado, Oliver; Dodd e Neave (1956), em experimento com 75 vacas em processo de secagem da glândula mamária, afirmaram que mamas nas quais a secreção láctea eram retiradas semanalmente durante o período seco não apresentavam aumento na frequência de isolamento bacteriano.

A avaliação dos resultados do exame microbiológico da secreção láctea durante a evolução do processo de secagem obtidos na presente dissertação evidenciou que entre a última ordenha antes do seu início e o 45º dia do período seco não houve diferenças estatísticas entre as frequências de isolamentos bacterianos, sendo que estes resultados estão em concordância com os relatados por Costa et al. (1994) e Prieto (1993).

Relativo aos agentes bacterianos que podem ser isolados na secreção láctea durante o período seco, os resultados da presente dissertação permitem afirmar que as bactérias mais frequentemente isoladas foram as do gênero *Corynebacterium* (48,3 %) e as do gênero *Staphylococcus* (41,4 %), sendo que as do gênero *Streptococcus* (10,3 %) foram isoladas com menor frequência. Esses resultados refletem a completa concordância com as referências consultadas e apontam, independentemente da fase da lactação e da condição da saúde da mama,

ser os três referidos gêneros de bactérias os principais agentes etiológicos das mamites dos bovinos (BERRY; HILLERTON, 2002; BROWNING et al., 1990; CUMMINS; MCCASKEY, 1987; EBERHART, 1982; EDWARDS; JONES, 1966; KING, 1981; NATZKE et al., 1975; NEAVE et al., 1950; OLIVER; SORDILLO, 1988; PRIETO, 1993; REITER et al., 1970; RINDSIG et al., 1978; SCHULTZE; MERCER, 1976; SCHULTZE, 1983; SMITH; TODHUNTER, 1982; WARD; SCHULTZ, 1974; WILLIAMSON et al., 1998; ZADOKS et al., 2000). Durante o período seco bactérias do gênero *Corynebacterium* e os *Staphylococcus* coagulase negativo não foram consideradas nocivas para o tecido glandular por diversos autores (BERRY; HILLERTON, 2002; BROWNING et al., 1990; CUMMINS; MCCASKEY, 1987; EDWARDS; JONES, 1966; OLIVER; SORDILLO, 1988; RINDSIG et al., 1978; ZADOKS et al., 2000), sendo que, Cummins e McCaskey (1987) não observaram, no retorno à lactação, alterações no número de células somáticas ou diminuição na produção de leite de glândulas mamárias infectadas por *Corynebacterium* sp durante o processo de secagem. Browning et al. (1990) e Zadoks et al. (2000) consideraram, inclusive, que a presença de bactérias do gênero *Corynebacterium* teria uma ação protetora da mama contra agentes de maior patogenicidade como o *Staphylococcus aureus*.

Nos 12 quartos que no início do processo de secagem (última ordenha) não foram isoladas cepas bacterianas na secreção láctea constatou-se que 33,4 % (4/12) dos quartos permaneceram sem que qualquer agente bacteriano pudesse ser isolado durante todo o período seco estudado e 66,6 % (8/12) desses quartos foi possível o isolamento de bactérias na secreção láctea durante a evolução do período seco,

Nos 32 quartos que no início do processo de secagem (última ordenha) apresentavam isolamento de bactérias no leite, constatou-se que 15,6 % (5/32) desses quartos mamários ocorreu a eliminação da bactéria durante a evolução do período seco e 25,0 % (8/32) dos quartos mamários ocorreu a eliminação da bactéria, porém durante a evolução do período seco outro tipo de bactéria passou a ser isolada na secreção láctea e 59,4 % (19/32) dos quartos mamários foi possível o isolamento da mesma bactéria na secreção láctea durante a evolução do período seco

Os dados obtidos na literatura compulsada indicam similaridade com as afirmações anteriormente apresentadas, ou seja, durante o período seco podem ocorrer novas infecções, cura das infecções existente e reinfecções, sendo que a dinâmica da população bacteriana durante o período seco torna complexa uma avaliação da eficiência da terapia da vaca seca (BROWNING et al., 1994; MCDONALD, 1982; NATZKE et al., 1975; NEAVE et al., 1950; OLIVER et al., 1956).

6. CONCLUSÕES

A análise e discussão dos resultados da avaliação física da involução e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça holandesa, permitiram as conclusões a seguir enumeradas e detalhadas.

1ª Conclusão – A avaliação dos resultados obtidos no exame físico - por inspeção e palpação da glândula mamária, realizado na fase final da lactação, no 45 ° dia do período seco e no retorno da lactação demonstrou que:

- o processo de secagem determinou alterações na consistência da mama, pois no retorno da lactação a frequência de glândulas classificadas como sendo do Tipo III (firme) foi maior do que a observada antes do início da secagem e no 45º dia do período seco;

- o processo inflamatório fisiológico associado à retenção do leite durante o processo de secagem não determinou modificações que pudessem ser percebidas através da palpação da cisterna da glândula e da cisterna do teto;

- o processo de secagem favoreceu a recuperação dos tetos nos quais era perceptível a presença de prolapso de pequena severidade do orifício do teto, em contrapartida, o processo de secagem não influenciou na recuperação de prolapsos considerados de grande severidade, levando a conclusão que este grau de prolapso torna-se irreversível, mesmo após longos períodos sem ordenha;

- em 16,7 % dos casos de mamite durante o processo de secagem ocorria fibrosamento do parênquima glandular, cisternite ou galactoforite no 45º dia do período seco e/ou no retorno da lactação, enquanto no retorno da lactação 57,1 % das glândulas com mamites no período seco apresentavam piora na qualidade do leite produzido;

- o percentual de mamas, nas quais houve isolamento bacteriano no retorno da lactação foi menor do que o encontrado durante o processo de secagem da glândula mamária;

2ª Conclusão - A partir do momento em que a ordenha é interrompida ocorreram modificações fisiológicas relacionadas à reabsorção de água da secreção láctea e a suspensão da atividade secretória das células alveolares, determinando durante a evolução do período seco, as

seguintes alterações:

- na fase inicial do processo de secagem, ocorreu o aumento do grau de distensão da mama e dos tetos, mas com o evoluir do processo de secagem, observou-se na primeira semana do período seco, a gradual diminuição dessa distensão e, a partir do 10º dia do período seco o aumento da frequência de mamas e tetos classificados como não distendidos, ou seja, nas quais o processo de involução havia chegado terminado;

- em decorrência à distensão das mamas e dos tetos observou-se, entre o 1º e 3º dia do processo de secagem, a ocorrência de ejeção espontânea de secreção láctea em 29,5 % dos tetos avaliados, mas com o evoluir do processo de secagem, o percentual diminuía de forma significativa, não sendo mais observada no 45º dia do período seco;

- com a evolução do processo de secagem constatou-se que o leite foi substituído, inicialmente, por uma secreção aquosa de coloração branca ou creme clara; sendo que a partir do 7º dia do período seco, também, foi observado a presença de secreção com aspecto viscoso de coloração amarelada; ao final do processo de involução; no 45º dia do período seco, observou-se em 40,9 % das mamas uma secreção pré-colostral, cujo aspecto era semelhante a mel ou a soro lácteo;

- no período compreendido entre o 3º dia e o 7º dia do processo de secagem, foi observadas a maior frequência de grumos na secreção láctea, sendo que, a partir do 10º dia do processo, a frequência de grumos diminuiu, mas foi detectada em todos os momentos de colheita até o 45º dia do período seco.

3ª Conclusão - Durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária foram observadas significativas alterações nas características físico-químicas da secreção láctea:

- durante a primeira semana do período seco os constituintes do leite apresentaram significativas alterações caracterizadas por um aumento abrupto dos valores do pH, eletrocondutividade e cloretos entre o 1º e 3º dia do período seco, dos valores do índice cloretos/lactose entre o 1º e o 5º dia do período seco, enquanto os teores lácteos de lactose diminuiram abruptamente entre o 1º e o 5º dia do período seco;

- após a uma tendência à estabilização, os teores lácteos de cloretos voltaram a apresentar um aumento nos seus valores a partir do 10º dia do período seco, enquanto os valores de pH, lactose, eletrocondutividade e índice cloretos/lactose sofreram flutuações sem que qualquer tendência de aumento ou diminuição pudesse ser constatada;

- foi observado, ainda, que o teores lácteos de proteína aumentaram gradualmente entre o

1º e o 15º dia do período seco, enquanto os teores lácteos de gordura e sólidos totais aumentaram gradualmente entre o 1º e o 7º dia do período seco, permanecendo estabilizados entre o 7º e 10º dia do período seco para a seguir diminuíram com a evolução do processo de secagem;

4ª Conclusão - Durante a evolução do processo de secagem da glândula mamária foram observadas significativas alterações nas características celulares da secreção láctea, pois:

- o número de células somáticas na secreção láctea aumentou abruptamente nos sete primeiros dias do processo de secagem, permanecendo estabilizados entre o 7º e o 15º dia do período seco para, a seguir, entre o 15º e o 30º dia do período novamente aumentarem seus valores;

- a partir do 5º dia do processo de secagem nenhuma das amostras avaliadas durante o período seco apresentou reações negativas ao CMT, destacando-se que entre o 7º e o 45º dia do período seco todas as amostras apresentavam reações do CMT classificadas como duas ou três cruces.

5ª Conclusão - Durante o período seco da glândula mamária, em animais, nos quais a supressão da ordenha tenha ocorrido há mais de três dias, observaram-se alterações similares àquelas descritas nas mamites diagnosticadas durante a lactação ou nas retenções de leite; no período compreendido entre o 3º e o 45º dia do período seco, observou-se as seguintes variações nos valores das características físico-químicas e celulares da secreção láctea de vacas sadias: pH entre 7,08 e 7,34; Eletrocondutividade entre 7,50 e 8,35 mS/cm; Cloretos entre 242,20 e 287,66 mg/dl; Lactose entre 1,20 e 2,45 g/dl; Índice Cloretos/Lactose entre 12,99 e 26,40; Gordura entre $2,27 \pm 7,97$ g/dl; Proteína entre 6,00 e 9,47 g/dl; Sólidos Totais entre 10,73 e 16,35 g/dl; Número de Células Somáticas entre 1.930.450 e 6.486.900 células/ml.

6ª Conclusão - A avaliação da influência da ocorrência da mamite durante o processo de secagem nas características físico-químicas e celulares da secreção láctea demonstrou ser ela parcial e restrita a alguns momentos do processo de secagem, sendo que as diferenças entre os valores obtidos no grupo com mamite e no grupo composto por mamas sadias eram de pequena magnitude, o que impediria o diagnóstico da mamite baseado, exclusivamente, na avaliação dos resultados obtidos pela determinação quantitativa das características físico-químicas e celulares do leite.

7ª Conclusão - A avaliação dos resultados do exame microbiológico da secreção láctea, durante a evolução do processo de secagem permitiu as seguintes observações:

- nos 12 quartos que no início do processo de secagem (última ordenha) não foram isoladas cepas bacterianas na secreção láctea constatou-se que 33,4 % (4/12) deles permaneceram sem que qualquer agente bacteriano pudesse ser isolado durante todo o período seco estudado, enquanto em 66,6 % (8/12) desses quartos foi possível o isolamento de bactérias na secreção láctea durante a evolução do período seco;

- nos 32 quartos que no início do processo de secagem (última ordenha) apresentavam isolamento de bactérias no leite, constatou-se que em 15,6 % (5/32) desses quartos mamários ocorreu a eliminação da bactéria durante a evolução do período seco; em 25,0 % (8/32) dos quartos mamários ocorreu a eliminação da bactéria, porém durante a evolução do período seco outro tipo de bactéria passou a ser isolada na secreção láctea; em 59,4 % (19/32) dos quartos mamários foi possível o isolamento da mesma bactéria na secreção láctea durante a evolução do período seco.

REFERÊNCIAS

AKERS, R.M.; THOMPSON, W. Effect of induced leukocyte migration on mammary cell morphology and milk component biosynthesis. **Journal of Dairy Science**, v.70, n. 8, p. 1685-1695, 1987.

AKERS, R.M.; BEAL, W.E.; MCFADDEN, T.B.; CAPUCO, A.V. Morphometric analysis of involuting bovine mammary tissue after 21 or 42 days on non-suckling. **Journal Animal Science**, v. 68, p. 3604-3613, 1990.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A. LEW, B. J. Estudo da variação do teor de cloretos no colostro e no leite de vacas abatidas. **Ars Veterinária**, v. 4, n. 1, p. 105-112, 1988.

ANDERSON, E.O.; MACLEOD, P. The effect of a period of non-milking on the leucocyte count of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 32, p. 649-651, 1949.

ANNEN, E. L.; COLLIER, R. J.; MCGUIRE, M. A.; VICINI, J. L. Effects of dry period length on milk yield and mammary epithelial cells. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 66-76, 2004. Supplementum.

ARAÚJO, W. P. **Constituição físico-química, celular e microbiológica de leites tipo A, B e Especial colhidos de vacas criadas no estado de São Paulo. contribuição à semiologia da glândula mamária.** 1994. 54 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1994.

ARTES, R.; BOTTER, D. **Funções de Estimação em Modelos de Regressão.** 1 ed. São Paulo: ABE, 2005. 147 p.

BACHMAN, K. C.; SCHAIRER, M. L. Invited Review: Bovine studies on optimal lengths of dry periods. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 10, p. 3027-3037, 2003.

BARRAGRY, T. B. Bovine mastitis. In: _____. **Veterinary drug therapy.** USA: Lea & Febiger, 1994. p. 656-687.

BENATTI, L. A. T. **Estudo comparativo entre o teste da eletrocondutividade e as provas físico-químicas, microbiológicas e celulares do leite bovino.** 2001. 72 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

BERQUO, E.; SOUZA, J. M. P.; GLOTIEB, S. L. D. **Bioestatística.** São Paulo: CPU, 1981. 350p.

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

BIRGEL, E. H. Avaliação das provas utilizadas no diagnóstico da mamite bovina. In: BIRGEL, E. H.; BENESI, F. J. **Patologia clínica veterinária**. São Paulo: Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1982, p. 177-213.

BIRGEL, E. H. Semiologia da Glândula Mamária de Ruminantes. In: FEITOSA, F. L. F. **Semiologia Veterinária – A arte do diagnóstico**. São Paulo: Editora Roca, 2004, p. 353-398.

BIRGEL JUNIOR, E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Girolando e Gir, criados no estado de São Paulo**. 2006. 335 f. Tese (Livre Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

BRATLIE, O. Examinations of dry period udder secretions. **Journal of Dairy Science Abstracts**, v. 17, n. 6, p. 516, 1954.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997.
BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. (Ed.). **A qualidade do leite**. Juiz de Fora: Embrapa, 1998. 100 p.

BROWNING, J. W.; MEIN, G. A.; BARTON, M.; NICHOLLS, T. J.; BRIGHTLING, P. Effects of antibiotic therapy at drying off on mastitis in the dry period and early lactation. **Australian Veterinary Journal**, v. 67, n. 12, p. 440 – 442, 1990.

BROWNING, J. W.; MEIN, G. A.; BRIGHTLING, P.; NICHOLLS, T. J.; BARTON, M. Strategies for mastitis control: dry cow therapy and culling. **Australian Veterinary Journal**, v. 71, n. 6, p. 179-181, 1994.

BUSHE, T.; OLIVER, S. P. Natural protective factors in bovine mammary secretion following different methods of milk cessation. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 3, p. 696-704, 1987.

CAFFIN, J.P.; POUTREL, B. Physiological and pathological factors influencing bovine immunoglobulins G₂ concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 71, n. 8, p. 2035-2043, 1988.

CAGIENARD, B. Mastitis prevalence and the selection of dry cow therapy programs in dairy herds. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 31, n. 3, p. 30-31, 1983.

CAPUCO, A. V.; PAAPE, M. J.; NICKERSON, S. C. In vitro study of polymorphonuclear leukocyte damage to mammary tissues of lactating cows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 3, p. 663-668, 1986.

CARROLL, E. J. Whey proteins of dryng-off secretions, mastitic milk, and colostrum separated by ion-exchange cellulose. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 2194-2211, 1961.

CIMIANO, P. C.; ALVAREZ, J. A. G. Mamitis y calidad de la leche. **Hojas Divulgadoras**, n. 2, p. 1-20, 1986.

COSTA, E. O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; ABE, S. Y.; GABALDI, S. H. Nível de infecção intramamária no período seco em propriedades com e sem tratamento de vacas secas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., 1994, Olinda. **Anais...** Olinda:[s.n.],1994. p. 233.

COSTA, E. O.; RIBEIRO, A. R.; VIANI, F. C.; WATANABE, E. T.; WHITE, C. R. LAZARO, M. A. Comparison between ph and eletric conductivity values of milk procceding from quarters of health animals and animals with subclinical mastitis. In: WORLD VETERINARY CONGRESS, 25. 1995, Yokohama, Japão. **Abstracts...** p. 234

COSTA, E.O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R.; WATANABE, E. T. Infecções intramamárias em novilhas primíparas do período pré ao pós parto e sua importância no controle de mastite. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira - NAPGAMA**, n. 1, p. 16-20, 1999a.

COSTA, E. O. Uso de antimicrobianos na mastite. In: SPINOSA, H. S., GÓRNIK, S. L., BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 422 - 433.

COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; SILVA, J. A. B.; RIBEIRO, A. R.; HORIUTI, A. M. Patógenos de mastite bovina isolados de glândulas mamárias negativas aos testes de tamis e CMT. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira - NAPGAMA**, v.4, n. 2, p. 12-16, 2001.

COUSINS, C. L.; HIGGS, T. M.; JACKSON, E. R.; NEAVE, F. K.; DODD, F. H. Susceptibility of the bovine udder to bacterial infection in the dry period. **Journal of Dairy Research**, v. 47, n. 1, p. 11-18, 1980.

COWAN,S.;STEEL,K.J. **Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria**. 2nd ed. Cambridge: University Press, 1985 p.

CUMMINS, K. A.; MCCASKEY, T. A. Multiple infusions of cloxacilina for treatment of mastitis during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 12, p. 2658-2665, 1987.

CUNHA, M. S. **Contribuição ao diagnóstico clínico das mastites. Influência das fase da lactação, fases da ordenha e dos processos inflamatórios na composição físico-química, celular e microbiológica do leite de vacas da raça holandesa preta e branca.** 1988. 97 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1988.

D'ANGELINO, J. L.; BIRGEL, E. H.; CUNHA, M. S.; FUGIMOTO, S. Estudo comparativo do Milk Checker em relação aos parâmetros físico-químicos, citológicos e microbiológicos do leite In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 21., 1988, Salvador. **Anais...** Salvador:[s.n.],1988. p. 235.

DELLA LIBERA, A. M. M. P. **Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas com alta contagem de células somáticas.** 1998. 97 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

DIAS, F. M.; ALLAIRE, F. R. Dry period to maximize milk production over two consecutive lactations. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 1, p. 136 - 145, 1982.

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

DOOD, F. H.; WESTGARTH, D. R.; NEAVE, F. K.; KINGWILL, R. G. Mastitis – The strategy of control. **Journal of Dairy Science**, v. 52, n. 5, p. 689-695, 1969.

DUTT, K. W.; EBERHART, R. J.; WILSON, R. A. In vitro growth of mastitis pathogens in mammary secretions of the dry and peripartum periods. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 9, p. 2408-2415, 1986.

EBERHART, R. J. New infections in the dry period. In: ANNUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 21., 1982, Louisville, **Proceedings...** Kentucky: N.M.C, 1982. p. 101-111.

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

EDWARDS, S. J.; JONES, G. W. The distribution and characters of coagulase – negative staphylococci of the bovine udder. **Journal of Dairy Research**, v. 33, n. 3, p. 261-270, 1966.

ENEVOLDSEN, C.; SORENSEN, J. T. Effects of dry period length on clinical mastitis and

other major clinical health disorders. **Journal of Dairy Science**, v.75, n. 4, p. 1007-1014, 1992.

ESTRELLA, S. L. G. **Características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça holandesa, criados no estado de São Paulo. Influência da fase da lactação, dos quartos mamários, do número de lactações e do isolamento bacteriano.** 2001. 162 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

FAGUNDES, H. **Ocorrência de resíduos de antimicrobianos utilizados no tratamento de interrupção da lactação subsequente em animais com período seco recomendado.** 2003. 76 p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2003.

FARIA, J. E. **Prevenção e controle de infecção estafilocócica de glândula mamária e/ou antibioticoterapia associada ao dimetilsulfóxido (DMSO).** 1995. 96 p. Dissertação (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo horizonte, 1995.

FERREIRO, L.; SOUZA, H. M.; HEINECK, L. A. Influência da mastite bovina subclínica na composição físico-química do leite de gado mestiço. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 35, n. 208, p. 19-24, 1980.

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

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

FOWLER, P. A.; KNIGHT, C. H.; FOSTER, M. A. Omitting the dry period between lactations does not reduce subsequent milk production in goats. **Journal of Dairy Research**, v. 58, n. 1, p. 13-19, 1991.

FRANDSON, R. D.; WILKE, W. L.; FAILS, A. D. Anatomia e fisiologia das glândulas mamárias. In: _____. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. p. 399-410.

GRANZOTI, M. **Avaliação do leite tipo B pela contagem de células somáticas em rebanhos com mastite subclínica.** 1985. 65 f. Dissertação (Mestrado) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1985.

GRUMMER, R. R.; RASTANI, R. R. Why reevaluate dry period length? **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 77-85, 2004. Supplementum.

GULAY, M. S.; HAYEN, M. J.; BACHMAN, K. C.; BELLOSO, T.; LIBONI, M.; HEAD, H. H. Milk production and feed intake of Holstein cows given short (30-d) or normal (60-d) dry periods. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 6, p. 2030-2038, 2003.

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

HOLST, B. D.; HURLEY, W. L.; NELSON, D. R. Involution of the bovine mammary gland: Histological and Ultrastructural Changes. **Journal of Dairy Science**, v. 70, n. 5, p. 935-944, 1987.

HOLT, J. G.; KRIEG, R. N.; SNEATH, P. H. A.; STALEY, J. T.; WILLIAMS, S. T. **Bergey's manual® of determinative bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994.

HURLEY, W. L. Mammary gland function during involution. **Journal of Dairy Science**, v.72, n. 6, p. 1637-1646, 1989.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION – IDF. Laboratory methods for use in mastitis work. **Bulletin of IDF**, v. 132, p. 1-27, 1981.

JENSEN, D. L.; EBERHART, R. J. Total and differential cell counts in secretions of the nonlactating bovine mammary gland. **American Journal Veterinary Research**, v. 42, n. 5, p.743-747, 1981.

KING, J.S. *Streptococcus uberis*: a review of its role as a causative organism of bovine mastitis. I. Characteristics of the organism. **British Veterinary Journal**, v. 137, n. 1, p. 36-52, 1981.

KUHN, M. T.; HUTCHISON, J. L.; NORMAN, H. D. Effects of length of dry period on yields of milk fat and protein, fertility and milk somatic cell score in the subsequent lactation of dairy cows. **Journal of Dairy Research**, v. 73, n. 2, p. 154-162, 2006.

LEE, C. S.; WOODING, F. B. P.; KEMP, P. Identification, properties, and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cows secretion, colostrums and milk from normal cows. **Journal of Dairy Research**, v. 47, p. 39-50, 1980.

LEE, C. S.; OUTERIDGE, P. M. Leucocytes of sheep colostrum, milk and involution secretion, with particular reference to ultrastructure and lymphocyte sub-populations. **Journal of Dairy Research**, v. 48, p. 225-237, 1981.

LEITNER, G.; SHOSHANI, E. ; BERMAN, A.; TRINIM, Z. ; FEINGOLD, D.; WINKLER, M.; SHPIGEL, N.Y.; SARAN, A. Immune response of the mammary gland in dairy cows after

experimental infection with *E.coli* or *S. aureus*. In: IDF INTERNATIONAL MASTITIS SEMINAR, 3., 1995, Tel Aviv. **Proceedings...** Haifa: M. Lanchman Printers Ltda, 1995. Séc, 1, p. 39-44.

LENNETTE, E. H. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. 4th ed. Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 1985. 1149 p.

MARQUES, R. S. **Avaliação das características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça Girolando criados no Estado de São Paulo**. 2003. 167 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003

MCDONALD, J. S.; ANDERSON, A. J. Total and differential somatic cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glands: The Early nonlactating period. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, n. 8, p.1360-1365, 1981.

MCDONALD, J. S. Experimental infection of the bovine mammary glands during the dry period. In: ANNUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 21., 1982, Louisville, **Proceedings...** Kentucky: N.M.C, 1982. p. 112-124.

MUNCH-PETERSEN, E. Mastitis in bovine primiparae. **Veterinary Record**, v. 87, n. 19, p. 568-574, 1970.

NAIDU, A. S.; ANDERSSON, M.; MIEDZOBRODZKI, J.; FORSGREN, A. Bovine lactoferrin receptors in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. **Journal of Dairy Science**, v.74, n.4, p.1218-1226, 1991.

NATZKE, R. P.; EVERETT, R. W.; GUTHRIE, R. S.; KEOWN, J. F.; MEEK, A. M.; MERRILL, W. G.; ROBERTS, S. J.; SCHMIDT, G. H. Mastitis control program: Effect on milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 55, n. 9, p. 1256-1260, 1972.

NATZKE, R. P.; EVERETT, R. W.; BRAY, D. R. Effect of drying off practices on mastitis infection. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n. 12, p. 1828-1835, 1975.

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

NEAVE, F. K.; DODD, F. H.; HENRIQUES, E. Udder infections in the dry period I. **Journal of Dairy Research**, v. 17, n. 1, p.37-49, 1950.

NICKERSON, S. C. Immunological aspects of mammary involution. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, p. 1665-1678, 1989.

NICKERSON S. C.; BODDIE R. L.; OWENS, W. E.; WATTS, J. L. Effects of novel intramammary device models on incidence of mastitis after experimental challenge. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n. 10, p. 2774-2784, 1990.

NICKERSON, S. C.; OWENS, W. E.; FOX, L. K.; SCHEIFINGER, C. C.; SHRYOCK, T. R.; SPIKE, T. E. Comparison of Tilmicosin and Cephapirin as a therapeutics for *Staphylococcus aureus* mastitis at dry-off. **Journal of Dairy Science**, v. 82, n. 4, p. 696-703, 1999.

OLIVER, J.; DODD, F. H; NEAVE, F. K.; LEE, J. M. Udder infections in the dry period II. The effect of withdrawing secretion from the dry udder on the incidence of infection. **Journal of Dairy Research**, v. 23, n. 1, p. 194-196, 1956.

OLIVER, J.; DODD, F. H.; NEAVE, F. K. Udder infections in the dry period III. The method of drying-off cows at the end of lactation. **Journal of Dairy Research**, v. 23, n. 1, p. 197-211, 1956.

OLIVER, J.; DODD, F. H; NEAVE, F. K. Udder infections in the dry period IV. The relationship between the new infection rate in the early dry period and the daily milk yield at drying-off when lactation was ended by either intermitente or abrupt cessation of milking. **Journal of Dairy Research**, v. 23, n. 1, p. 204-210, 1956.

OLIVER, J.; DODD, F. H.; NEAVE, F. K. Udder infections in the dry period V. The effect of teat disinfection at drying-off on the incidence of infections in the early dry period. **Journal of Dairy Research**, v. 23, n. 1, p. 212-216, 1956.

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

OLIVER, S. P.; SORDILLO, L. M. Approaches to the manipulation of mammary involution. **Journal of Dairy Science**, v.72, n. 6, p. 1647 – 1664, 1989.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. **The medical impact of antimicrobial use in food animals**, 1997. 21 p. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO EMC_ZOO_97.4.pdf>. Acesso em: 12 de jun. 2006.

OSTERAS, O.; AURSJO, J.; GRONNINGAESTER GJUL, G.; JORSTADA, A. Effect of dry cow therapy on subclinical mastitis - an evaluation of long action and short action intramammary. **Journal of Veterinary Medicine Series B**, v. 41, n. 7/8, p. 529-40, 1994.

PAAPE, M. J.; WERGIN, W. P. The leukocyte as a defense mechanism. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 170, n. 10, p. 1214-1223, 1977.

PAAPE, M. J.; CAPUCO, A. V. Cellular defense mechanisms in the udder and lactation of goats. **Journal Animal Science**, v. 75, p.556-565, 1997.

PAAPE, M. J.; BANNERMAN, D. D.; ZHAO, X.; LEE, J. W. The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. **Veterinary Research**, v. 34, p. 597-627, 2003.

PARKINSON, T. J.; VERMUNT, J. J.; MERRALL, M. Comparative efficacy of three dry cow antibiotic formulations in spring calving New Zealand dairy cows. **New Zealand Veterinary Journal**, n. 48, p. 129 - 35, 2000.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A. Efeito da suplementação de vitamina A sobre a incidência de mastite em vacas da raça Holandesa. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 2, p. 267-269, 2004.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. A.; CUNHA, J. A. Mastite clínica em vacas leiteiras suplementadas com selênio e vitamina E. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 10, p. 1043-1046, 2005.

PAULA, G. A. **Modelos de regressão com apoio computacional**. São Paulo: IME-USP, 2004. 253 p. Disponível em <<http://www.ime.usp.br/~giapaula>>. Acesso em: 13 maio 2006.

PEARSON, J. K. J. Further experiments in the use of penicillin in the prevention of *C. pyogenes* infection of the non-lactating bovine udder. **Veterinary Records**, v. 63, n. 12, p. 215 - 220, 1951.

PRIETO, H. P. Influência dos processos de interrupção da lactação na ocorrência de mastite bovina. 1993. 73 p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.

R STATISTICAL PACKAGE. versão 2.2.0 **Software**. Disponível em: <<http://www.r-project.org>>. Acesso em :15 abr. 2006.

RAIA JÚNIOR, R. B. **Fatores fisiológicos, clínicos e farmacológicos, determinantes de resíduos de antimicrobiano no leite, avaliados em protocolos terapêuticos de mastite em bovinos leiteiros**. 2006. 72 p. Dissertação (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

RAINARD, P. Bacteriostasis of *Escherichia coli* by bovine lactoferrin, transferrin and immunoglobulins (IgG1, IgG2, IgGM) acting alone or in combination. **Veterinary Microbiology**, v.11, n.1, p. 103-115, 1986.

REITER, B.; SHARPE, M. F.; HIGGS, T. M. Experimental infection of the nonlactating bovine udder with *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus uberis*. **Research in Veterinary Science**, v. 11, p. 18-26, 1970.

RINDSIG, R. B.; RODEWALD, R. G.; SMITH, A. R.; SPAHR, S. L. Complete versus selective dry cow therapy for mastitis control. **Journal of Dairy Science**, v. 61, n. 10, p. 1483-1497, 1978.

ROSENFELD, A. M. F. **Retenção láctea: fator etiológico predisponente às inflamações da glândula mamária de bovinos. Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite**. 2005. 128 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

SANT'ANA, V. A. C. **Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade**. 2004. 161 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

SANTOS, E. C.; RODRIGUES, R. Acidez do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de fora, v. 38, n. 230, p. 9-17, 1983.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, B. S. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 30, n. 5, p. 199-204, 1957.

SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360 p.

SCHANBACHER, F. L.; SMITH, K. L. Formation and role of unusual whey proteins and enzymes: relation to mammary function. **Journal of Dairy Science**, v. 58, n.7, p. 1048-1062, 1975.

SCHMIDT, G. H.; VAN VLECK, L. D.; HUTJENS, M. F. **Principles of dairy science**. New Jersey: Prentice Hall, 1988. 466 p.

SCHULTZE, W. D.; MERCER, H. D. Nonlactating cow therapy with a formulation of penicillin and novobiocin: therapeutic and prophylactic effects. **American Journal of Veterinary Research**, v. 37, n. 11, p. 1275-1279, 1976.

- SCHULTZE, W. D. Effects of a selective regimen of dry cow therapy on intramammary infection and on antibiotic sensitivity of surviving pathogens. **Journal of Dairy Science**, v. 66, n. 4, p. 892-903, 1983.
- SMITH, A.; WHEELOCK, J. V.; DODD, F. H. Changes in the quantity and composition of mammary gland secretion in the dry period between lactations.II. The complete dry period. **Journal of Dairy Research**, v. 34, n. 1, p. 13-19, 1967.
- SMITH, K. L.; SCHANBACHER, F. L. Lactoferrin as a factor of resistance to infection of the bovine mammary gland. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 170, p. 1224-1227, 1977.
- SMITH, K. L.; TODHUNTER, D. A. The physiology of mammary glands during the dry period and the relationship to infection. In: ANNUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 21., 1982, Louisville, **Proceedings...** Kentucky: N.M.C, 1982. p. 87-100.
- SMITH, K. L.; TODHUNTER, D. A.; SCHOENBERGER, P. S. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 6, p. 1531-1553, 1985.
- SYMONS, D. B. A.; WRIGHT, L. J. Changes in bovine mammary gland permeability after intramammary exotoxin infusion. **Journal of Comparative Pathology**, v. 84, n. 1, p. 9-17, 1974.
- TARGOWSKI, S. P. Role of immune factors in protection of mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 66, p. 1781-1789, 1983.
- THIERS, F.O.; BENITES, N. R.; COSTA, E. O. Contagem de células somáticas de leite de bovinos em diferentes fases de lactação. **Revista do Núcleo de Apoio à Pesquisa em Glândula Mamária e Produção Leiteira - NAPGAMA**, n. 2, p. 4-8, 2000.
- VANLANDINGHAN, A. H.; CHAS, E.; WEAKLEY, J. R.; MOORE, E. N.; HENDERSON, H. O. Mastitis. I. Relationship of the development of mastitis to changes in the chlorine, lactose and casein number of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 24, n. 1, p. 383-398, 1941.
- VIANI, 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, n. 1, p. 8-9, 1990.
- WARD, G. E.; SCHULTZ, L. H. Incidence and control of mastitis during the dry period. **Journal of Dairy Science**, v. 57, n. 11, p. 1341-1349, 1974.
- WATANABE, E. T. **Avaliação do uso de antibióticos por via intramamária e sistêmica no**

tratamento de mastite clínica em vacas em lactação e subclínica na interrupção da lactação. 1999. 121 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

WAYNE, R.; MACY, H. The effect of various methods for drying up cows on the bacterial and cell content of milk. **Journal of Dairy Science**, v. 16, p. 69-79, 1933.

WELTY, F. K.; SMITH, K. L.; SCHANBACHER, F. L. Lactoferrin concentration during involution of the bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 59, n. 2, p. 224-231, 1975.

WHEELOCK, J. V.; ROOK, J. A. F.; DODD, F. H.. The effect of incomplete milking or of an extended milking interval on the yield and composition of cow's milk. **Journal of Dairy Research**, v. 32, n. 3, p. 237-248, 1965.

WHEELOCK, J. V.; ROOK, J. A. F.; DODD, F. H. GRIFFIN, T. K. The effect of varying the interval between milkings on milk secretion. **Journal of Dairy Research**, v. 33, n. 02, p. 161-176, 1966.

WHEELOCK, J. V.; SMITH, A.; DODD, F. H.; LYSTER, R. L. J. Changes in the quantity and composition of mammary gland secretion in the dry period between lactations.I. The beginning of the dry period. **Journal of Dairy Research**, v. 34, n. 1, p. 1-12, 1967.

WHEELOCK, J. V.; SMITH, A.; DODD, F. H. The effect of a temporary suspension of milking in mid-lactation on milk secretion after the resumption of milking and in the following lactation. **Journal of Dairy Research**, v. 34, n. 2, p. 151-161, 1967.

WILDE, C. J.; KNIGHT, C. H. Metabolic adaptations in mammary gland during the declining phase of lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 6, p. 1679-1692, 1989.

WILLIAMSON, J. H.; WOOLFORD, M. W.; DAY, A. M. Nova abordagem na terapia de vacas secas. **A Hora Veterinária**, n. 105, p. 57-62, 1998.

ZADOKS, R. N.; ALLORE, H. G.; BARKEMA, H. W. Cow and quarter level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 84, n. 12, p. 2649 - 2663, 2001.

ZIV, G.; GORDIN, S. The composition of bovine udder secretion during the first half of the dry period. **Zentralblatt für Vetrinärmedizin. Reihe. A.**, v. 20, p. 285-291, 1973.