

Vacinação com *Escherichia coli* J5 no pré-parto e ocorrência de mastite e produção de leite de vacas mestiças leiteiras

[*Escherichia coli* J5 vaccination during pre-calving and mastitis and milk production of crossbred cows]

P.V. Maia¹, L.R. Molina², E.J. Facury Filho², R.L. Gonçalves³, L.P.V. Moreira³, A.Ú. Carvalho²

¹Aluna de pós-graduação – Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG

²Escola de Veterinária – Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG

³Médico veterinário autônomo

RESUMO

Avaliaram-se a utilização da vacina *Escherichia coli* J5 no período pré-parto e a ocorrência de mastite e de produção de leite. Foram utilizadas 93 vacas, sendo 43 vacinadas e 50 não vacinadas. Para a análise dos dados de produção e CCS (contagem de células somáticas), utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso em sistemas de parcelas subdivididas. Os dados de CCS e duração de casos clínicos de mastite foram transformados em Log₁₀CCS. Para as médias de CCS e a duração de casos clínicos, usou-se o teste t. Para comparações de médias de recidivas de casos clínicos, usou-se o teste de Mann-Whitney. Para frequência de microrganismos e de mastite subclínica, usou-se o teste de qui-quadrado. A interação dessas variáveis foi analisada pelo teste de McNemar. Não houve redução na prevalência de infecções por coliformes entre a secagem e o parto nos dois grupos. A duração total dos casos clínicos de mastite em animais que apresentaram mastite clínica foi menor em vacas vacinadas. O número de episódios clínicos e a intensidade dos casos clínicos não diferiu entre os grupos. A prevalência de animais com mastite subclínica no pós-parto e a (CCS) nos 100 primeiros dias de lactação foram mais baixas no grupo de animais vacinados. Não foi observada diferença na produção de leite entre os grupos. A vacinação de vacas com *E. coli* J5 melhora a saúde da glândula mamária de vacas leiteiras e, conseqüentemente, reduz a prevalência de animais com mastite subclínica no pós-parto, bem como a duração dos casos clínicos de mastite e a CCS nos 100 primeiros dias de lactação.

Palavras-chave: vaca leiteira, vacina, *E. coli* J5, mastite, coliformes

ABSTRACT

The effect of immunization with Escherichia coli J5 vaccine in the pre-partum on the occurrence of mastitis and milk production in crossbred dairy cows was evaluated. Ninety-three cows were used as follows: forty-three were vaccinated and fifty cows were unvaccinated. For the production analysis, data and CCS were used in a completely randomized split-plot system. CCS data and duration of clinical cases of mastitis were transformed into Log₁₀CCS. For the CSS averages and duration of clinical cases we used the t test. For comparisons of means of recurrences of clinical cases we used the Mann-Whitney test. For frequency of subclinical mastitis organisms and we used the chi-square test. The interaction of these variables was analyzed using the McNemar test. There was no reduction in the prevalence of infections caused by coliforms between drying-off and parturition in both groups. The total duration of clinical mastitis in animals with clinical mastitis was lower in vaccinated than unvaccinated cows. The number of clinical episodes and intensity of clinical cases did not differ between groups. The prevalence of animals with subclinical mastitis at postpartum and somatic cell count (SCC) in the first 100 days of lactation was lower in vaccinated than unvaccinated cows. However, there was no difference in milk production between groups. Vaccination of cows with E. coli J5 improves mammary gland health by reducing the prevalence of animals with subclinical mastitis at postpartum, as well as the duration of the clinical cases of mastitis and SCC in the first 100 days of lactation.

Keywords: dairy cow, vaccine, *E. coli* J5, mastitis, coliforms

Recebido em 31 de outubro de 2012

Aceito em 4 de fevereiro de 2013

Email: paty_v_maia@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Os patógenos ambientais representam um grupo muito grande de organismos presentes no ambiente de permanência das vacas, podendo infectá-las direta ou indiretamente. Deste grupo, os coliformes se destacam pela importância na ocorrência de casos clínicos de mastite, levando a grandes prejuízos por vários fatores, incluindo diminuição da produção de leite, gastos com medicamentos, morte e/ou descarte precoce de animais (Smith e Hogan, 2008).

A susceptibilidade da glândula mamária a novas infecções intramamárias é alta no período seco, principalmente nas duas semanas pós-secagem e na última semana pré-parto. Essas podem persistir na glândula mamária até a lactação seguinte e causar casos clínicos no início da lactação. Os antibióticos intramamários para vaca seca, utilizados com o intuito de prevenir novas infecções durante este período e eliminar infecções presentes no momento da secagem, geralmente são mais eficazes contra agentes Gram-positivos e não persistem na glândula mamária até o período pré-parto, não sendo plenamente eficazes na prevenção de infecções que possam ocorrer nesse período pelas bactérias Gram-negativas (Bradley e Green, 2001a; Halasa et al., 2009).

Medidas mais eficazes para controlar a mastite por patógenos ambientais devem ser desenvolvidas, já que a terapia de vacas secas não tem efeito absoluto no controle desses patógenos. O aumento da resistência das vacas à infecção intramamária pode ser uma estratégia usada para o controle das mastites ambientais. A cepa rugosa mutante de *Escherichia coli* expressa um antígeno interno comum a todas as enterobactérias, o que permite o desenvolvimento de uma vacina eficaz contra ampla gama de patógenos ambientais e torna possível a imunização parenteral de vacas leiteiras (Elbien e Heath, 1965; Dosogne et al., 2002). Estudos sobre imunização com *Escherichia coli* J5 em outros países têm demonstrado que sua utilização reduz significativamente a ocorrência de mastite clínica por bactérias Gram-negativas, reduzindo também a gravidade e duração da doença quando a infecção intramamária é estabelecida (Hogan et al., 1992c; Hogan et al., 1995).

As recomendações de esquemas de vacinação têm variado muito, mas esta tem sido realizada durante o período de maior risco de aquisição de novas infecções por coliformes, o período seco. O impacto do balanço energético negativo sobre as respostas à vacinação realizadas no periparto tem sido questionado (Goff e Horst, 1997), e a antecipação do protocolo de vacinação em relação a esse período sugerida (Petersson et al., 2006). Devido à alta taxa de novas infecções intramamárias por coliformes no período seco em vacas leiteiras, principalmente nas fases inicial e final, objetivou-se com este estudo avaliar o efeito de um protocolo de vacinação constituído por três aplicações, 15 dias antes da secagem, na secagem e 15 dias após a secagem, com a vacina *Escherichia coli* J5 (Rotatec® - J5 Biogénesis-Bago – Paraná, Brasil), sobre a ocorrência de mastite e produção de leite em vacas mestiças leiteiras.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado entre abril de 2010 e janeiro de 2011, em um rebanho comercial localizado no município de Pitangui, MG, composto de 700 vacas mestiças (1/2, 3/4, 7/8, 15/16) Holandês x Gir em lactação, com produção média de 21kg de leite/dia. Os animais foram ordenhados duas vezes ao dia, em intervalo de 12 horas, em equipamento mecânico tipo espinha de peixe, linha baixa, com 24 conjuntos (2x12=24) e mecanismo de extração automática de teteiras. A fazenda adotava programa intensivo de controle de mastite por meio dos seguintes procedimentos: rotina de ordenha higiênica, utilização de terapia de vacas secas, manutenção da limpeza do ambiente de permanência dos animais, adequada limpeza e manutenção do equipamento de ordenha e tratamento imediato de todos os casos clínicos de mastite. A fazenda adotava um programa de controle efetivo de patógenos contagiosos, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, sendo estes de diagnóstico esporádico. Os animais infectados com esses patógenos eram descartados do rebanho.

O estudo foi composto por 93 animais, balanceados de acordo com a ordem de parto, produção de leite, média de contagem de células somáticas da última lactação e provável data de parto. Ao iniciar o experimento, 15 dias antes da secagem, os grupos não apresentavam diferença

Vacinação com *Escherichia coli*

($P > 0,05$) quanto à contagem de células somáticas (CCS). Dessa forma, os animais foram distribuídos ao acaso em dois grupos: um vacinado ($n = 43$) – constituído de vacas vacinadas que receberam três doses de vacina contra *Escherichia coli* (Rotatec® - J5 Biogênese-Bago – Paraná, Brasil); e um controle ($n = 50$) – constituído de vacas controle que não receberam nenhuma dose da vacina contra *E. coli*. No dia da secagem, foi realizado o tratamento de todas as vacas com infusão intramamária de antibiótico específico para vaca seca à base de cloxacilina benzatina, 60 dias antes do parto previsto.

A imunização obedeceu ao seguinte protocolo: grupo vacinado – três aplicações por via subcutânea na dose de 3mL, aplicadas com seringa dosadora no terço médio do pescoço, sendo a primeira dose 15 dias antes da data prevista da secagem, a segunda no dia da secagem e a terceira 15 dias após a secagem. Todos os animais foram mantidos sob as mesmas condições quanto às instalações, à alimentação e ao ambiente, durante o período experimental.

No momento da secagem e até sete dias após o parto, foram coletadas amostras de leite para diagnóstico microbiológico individual visando à identificação de patógenos causadores de mastite. As amostras de leite foram obtidas imediatamente antes da ordenha, após descarte dos três primeiros jatos de leite, desinfecção dos tetos com solução de hipoclorito de sódio e secagem com papel-toalha descartável. À coleta, realizou-se antisepsia da ponta do teto utilizando-se algodão umedecido em álcool a 70%. Os jatos dos quatro tetos formaram uma amostra composta, que foi acondicionada em frascos estéreis previamente identificados. O material amostrado foi congelado e, então, encaminhado ao laboratório em recipiente isotérmico, com gelo, para isolamento e caracterização dos microrganismos.

Amostras de leite compostas e individuais, destinadas à CCS, foram coletadas no dia da secagem e mensalmente a partir do 10º dia de lactação. Estas foram retiradas diretamente de medidores de leite acoplados ao equipamento de ordenha e acondicionadas em frascos contendo dois comprimidos do conservante bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol), permitindo sua conservação à temperatura ambiente.

As amostras foram homogeneizadas por inversão do frasco, até a completa dissolução dos comprimidos, e enviadas ao laboratório. As análises de CCS foram realizadas pelo método eletrônico em equipamento Bentley CombSystem 2300® (Bentley Instruments®) (Bentley Instruments Incorporated – Minneapolis, EUA).

O monitoramento da ocorrência de mastite subclínica foi feito pelo acompanhamento da CCS individual dos animais. Considerou-se portador de mastite subclínica o animal que apresentou $CCS > 250.000$ células/mL, de acordo com Green *et al.* (2002). A ocorrência de mastite clínica foi determinada pelo teste da caneca telada, realizado antes de cada ordenha. Os casos clínicos de mastite foram classificados, de acordo com sua intensidade, em: grau 1 – apenas alterações visíveis no leite, isto é, presença de coágulos, leite anormal; grau 2 – presença de coágulos e inflamação no úbere (úbere avermelhado e edemaciado); e grau 3 – coágulos, inflamação no úbere e sinais clínicos sistêmicos (desidratação, depressão, anorexia) (Bradley e Green, 2001a).

Foram consideradas a duração e a intensidade de casos clínicos durante o período experimental para todos os grupos, bem como o número de dias para cura clínica (período até o desaparecimento dos sintomas), objetivando a comparação dessas características entre os grupos vacinado e não vacinado.

A produção de leite individual das vacas foi avaliada, mensalmente, nos 100 primeiros dias de lactação, por meio de medidores de leite acoplados ao equipamento de ordenha, nas ordenhas da manhã e da tarde.

Para a análise dos dados relacionados à produção e CCS do leite, utilizou-se delineamento inteiramente ao acaso, em sistemas de parcelas subdivididas, sendo duas parcelas e duas subparcelas, com os grupos vacinado e não vacinado nas parcelas, e os períodos de coleta nas subparcelas. Para as médias de CCS, antes da secagem e até 100 dias de lactação e de produção de leite nos primeiros 100 dias de lactação, usou-se o teste t, pelo procedimento MIXED do programa SAS, a 5% de probabilidade ($P < 0,05$), utilizando-se dias em lactação como covariável. Para a duração de casos clínicos, foram usados

ANOVA e o teste t. Os dados de CCS e duração de casos clínicos de mastite foram transformados em $\text{Log}_{10}\text{CCS}$ para que adquirissem distribuição normal. As médias de recidivas de casos clínicos por animal e por grupo não adquiriram distribuição normal quando transformados em Log_{10} . Por isso, usou-se o teste de Mann-Whitney para comparações. Para frequência de microrganismos e de mastite subclínica na secagem e no pós-parto, usou-se o teste de qui-quadrado. A interação dessas variáveis foi analisada pelo teste de McNemar.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Algumas amostras de leite para análise microbiológica e contagem de células somáticas

Tabela 1. Prevalência de infecções intramamárias na secagem e no parto em vacas vacinadas e não vacinadas, segundo o microrganismo

Grupo	Microrganismo											
	Coliformes				Outros				Negativo			
	SEC (n)	%	Pós-parto (n)	%	SEC (n)	%	Pós-parto (n)	%	SEC (n)	%	Pós-parto (n)	%
Vacinado (n=34)	2	5,88	3	8,82	21B	61,76	9A	26,47	11B	32,35	22A	64,71
Não vacinado (n=41)	6	14,63	3	7,32	26B	63,41	12A	29,27	9B	21,95	26A	63,41

SEC = secagem.

Frequências seguidas de letras maiúsculas distintas, na mesma linha, indicam diferenças estatísticas entre secagem e pós-parto, dentro de grupo e para um mesmo microrganismo, pelo teste de McNemar ($P < 0,05$).

Não houve diferença estatística entre grupos pelo teste do qui-quadrado ($P > 0,05$).

Em ambos os grupos houve aumento significativo ($P < 0,05$) na porcentagem de animais com resultados negativos entre a secagem e o pós-parto, e não houve diferença entre os grupos ($P > 0,05$). O número de animais positivos para outros microrganismos que não os coliformes foi menor entre a secagem e o parto para os dois grupos ($P < 0,05$). A redução na prevalência de animais infectados por outros microrganismos que não coliformes e o consequente aumento nos animais com amostras de leite negativas ao parto no atual estudo foram atribuídos, em grande parte, ao efeito do tratamento com antibiótico intramamário de longa ação utilizado nas vacas no momento da secagem, ou seja, a terapia de vacas secas. Tal fato evidencia a importância desta conduta na resolução de infecções preexistentes no momento da secagem e na prevenção de novas infecções durante o período seco, principalmente contra

patógenos que não os coliformes, e está de acordo com os achados de vários autores (Bradley e Green, 2001b; Berry e Hillerton, 2002; Halasa *et al.*, 2009). No presente estudo, outra ocorrência que poderia explicar o aumento de animais com amostras de leite negativas, no parto, é que, durante o período seco, as secreções mamárias estão reduzidas, os componentes de defesa antibacterianos, como a lactoferrina e os fagócitos, estão elevados e o tampão de queratina é formado, tornando este um momento desfavorável para a sobrevivência e o crescimento bacteriano na glândula mamária (Nickerson, 1989; Burvenich *et al.*, 2000). Apesar disso, o período seco é considerado de grande importância para aquisição de novas infecções intramamárias por patógenos ambientais, em especial pelos coliformes (Bradley e Green, 2000).

A prevalência de infecções intramamárias na secagem e no parto em vacas vacinadas e não vacinadas encontra-se descrita na Tab. 1.

Vacinação com *Escherichia coli*

No presente estudo, não houve diferença na prevalência de animais positivos para coliformes na secagem e no pós-parto ($P>0,05$). Esse fato evidencia que a terapia de vacas secas não teve efeito na prevalência de animais positivos para coliformes no parto. Os produtos utilizados para a terapia de vacas secas normalmente contêm antibióticos com predomínio de espectro contra bactérias Gram-positivas, sendo esta uma das razões para não apresentar efeito sobre as infecções por coliformes (Bradley e Green, 2001b; Halasa *et al.*, 2009). Berry e Hillerton (2002) demonstraram que, mesmo quando antibiótico de amplo espectro foi utilizado na terapia de vacas secas, nenhum efeito foi observado na prevenção de novas infecções por coliformes. Além disso, o final do período seco é um dos momentos críticos para a aquisição de novas infecções por esses patógenos, momento este em que a terapia de vacas secas não fornece proteção plena contra novas infecções

intramamárias devido à baixa concentração do antibiótico na glândula mamária (Halasa *et al.*, 2009).

Assim como no presente estudo, outros autores não encontraram diferença na prevalência de infecções por coliformes no pós-parto entre animais vacinados e não vacinados e justificaram tal fato pela dinâmica da infecção causada por esses microrganismos, que é caracterizada por elevadas taxas de cura e reinfeção. Esses estudos demonstraram que o principal efeito da vacina é a redução na duração e na severidade dos casos clínicos causados por essas infecções (Hogan *et al.*, 1992a; Hogan *et al.*, 1995).

Na Tab. 2, encontram-se as médias de animais nos grupos vacinado e não vacinado que apresentaram mastite clínica nos primeiros 100 dias de lactação, o número de episódios clínicos e a duração destes.

Tabela 2. Ocorrência e duração de episódios clínicos de mastite nos primeiros 100 dias pós-parto em vacas vacinadas com *Escherichia coli* J5 e não vacinadas

Grupo	Mastite clínica			
	Duração (dias)/animal com caso clínico	Número de animais com episódio clínico/total de animais no grupo ¹	Número de episódios/animal com caso clínico ¹	Número de episódios/total de animais no grupo ¹
Vacinado (n=43)	10,2a	0,26 (11/43)	2,2 (24/11)	0,6 (24/43)
Não vacinado (n=50)	12,9b	0,32 (16/50)	2,6 (41/16)	0,8 (41/50)

Médias seguidas de letras minúsculas distintas indicam diferenças estatísticas entre grupos quanto à duração, pelo teste t ($P<0,05$).

¹Não houve diferença estatística entre grupos pelo teste de Mann-Whitney ($P>0,05$).

A média de duração do total de casos clínicos apresentado segundo o episódio clínico de mastite até 100 dias de lactação foi menor ($P<0,05$) no grupo vacinado do que no grupo não vacinado. Redução na duração de casos clínicos também foi observada por Hogan *et al.* (1995). Esses autores demonstraram que a redução na duração média dos episódios clínicos de mastite foi de 2,1 dias e que não houve diferença nos sinais clínicos entre os grupos. Citaram que a vacinação com *E. coli* J5 não previne infecções por coliformes, mas reduz a duração dos sinais clínicos em vacas imunizadas devido à rápida supressão do crescimento de bactérias. A habilidade da vaca de se defender contra infecção intramamária por *E.coli* parece estar relacionada com a velocidade com que os neutrófilos podem ser mobilizados do sangue

para a glândula mamária e a opsonização na glândula mamária, sendo o aumento da resposta imune associado ao aumento da IgG em animais vacinados (Hogan *et al.*, 1992b). As concentrações séricas de IgG1 e IgG2 são mais altas nos animais vacinados do que nos animais controle, e estes animais apresentam concentrações mais elevadas de IgM. Essa mudança na produção de classe de imunoglobulinas em animais imunizados tem sido relatada como componente-chave na eficácia da defesa do hospedeiro, principalmente relacionada à IgG2. Essa imunoglobulina é um importante anticorpo opsonizante que auxilia a fagocitose de bactérias por neutrófilos, favorecendo a resposta imunológica do tipo Th1, sendo este um dos principais benefícios da vacina *E. coli* J5 (Wilson *et al.*, 2007). Uma

rápida disponibilidade de IgG2 contra J5 imediatamente após as bactérias entrarem na glândula mamária tem sido associada à depuração mais efetiva das bactérias coliformes da glândula mamária que, em animais não vacinados, ocorre mais tardiamente (Shafer-Weaver *et al.*, 1999). Com a redução de dois dias na duração dos casos clínicos de mastite em animais vacinados observada neste estudo, reduzem-se o gasto com medicamentos e mão de obra para tratamento do caso clínico e as perdas com descarte de leite.

Apenas um animal do grupo vacinado apresentou mastite clínica grau 2, sendo os demais episódios clínicos de grau 1, tanto no grupo vacinado quanto no não vacinado. Hogan *et al.* (1995) também não encontraram diferença na ocorrência de manifestação sistêmica dos casos clínicos. Esses autores atribuíram tal fato à presença da cepa de *E. coli* utilizada para desafiar os animais, o que causa casos clínicos leves de mastite, e citaram que o modelo empregado pareceu refletir com maior precisão a dinâmica natural da ocorrência de infecções intramamárias e casos clínicos de mastite causada por coliformes. Embora neste estudo não tenha sido feita a identificação da cepa de coliformes presente na

propriedade, é possível que se trate de uma cepa menos virulenta.

Onze animais (25,6%) no grupo vacinado e 16 animais (32%) no grupo não vacinado apresentaram casos clínicos de mastite nos primeiros 100 dias de lactação, não sendo esta ocorrência diferente ($P>0,05$) entre os grupos. Wilson *et al.* (2007), ao utilizarem protocolo de vacinação iniciado na secagem e a segunda dose no intervalo de 21 a 28 dias, concluíram que a vacinação com J5 não foi associada à redução na ocorrência de mastite clínica por coliformes. Entretanto, Gentilini (2010), em estudo que utilizou três doses da vacina, sendo a primeira na secagem, a segunda 30 dias após a primeira, e a terceira na primeira semana após o parto, observou que os animais não vacinados apresentaram maior ocorrência de mastite clínica (36,3%) nos primeiros 100 dias de lactação, em comparação aos do grupo vacinado (20,8%). Esses dados indicam que uma dose da vacina no pós-parto pode auxiliar na redução dos casos clínicos de mastite.

A prevalência de mastite subclínica na secagem e no pós-parto em vacas vacinadas e não vacinadas é apresentada na Tab. 3.

Tabela 3. Prevalência de mastite subclínica na secagem e pós-parto em vacas vacinadas e não vacinadas

Grupo	Com mastite subclínica			
	SEC (n)	%	Pós-parto (n)	%
Vacinado (n=35)	25 B	71,43(25/35)	9 Aa	25,71 (9/35)
Não vacinado (n=42)	36 B	85,71 (36/42)	22 Ab	52,38 (22/42)

SEC = secagem.

Frequências seguidas de letras maiúsculas distintas, na mesma linha, indicam diferenças estatísticas entre secagem e parto, dentro de grupo, pelo teste de McNemar ($P<0,05$).

Frequências seguidas de letras minúsculas distintas, na mesma coluna, indicam diferenças estatísticas entre grupos, dentro de parto, pelo teste qui-quadrado ($P<0,05$).

Houve redução do número de animais que apresentaram mastite subclínica entre a secagem e o parto nos dois grupos ($P<0,05$). A principal justificativa para a redução no número de animais com mastite subclínica entre a secagem e o parto foi a utilização da terapia de vacas secas. Associado a isso, durante o período, a glândula mamária se torna um ambiente desfavorável para a sobrevivência e o crescimento bacteriano (Nickerson, 1989; Burvenich *et al.*, 2000). No parto, o grupo vacinado apresentou menor número de animais com mastite subclínica em comparação aos

animais não vacinados, o que pode ser atribuído ao efeito benéfico da vacina na prevenção de novas infecções, durante o período seco. A reação inflamatória da glândula mamária após a invasão de bactérias Gram-negativas é geralmente associada à rápida proliferação bacteriana no leite, à ativação de várias reações inflamatórias com consequente produção de citocinas e à migração massiva de anticorpos e neutrófilos do sangue para o leite com o intuito de eliminar a infecção (Riollet *et al.*, 2000). A rápida migração de neutrófilos para a glândula mamária elimina os microrganismos causadores

Vacinação com *Escherichia coli*

de mastite, e os produtos resultantes dessa infecção, como elevada CCS e presença de alterações no leite, ainda permanecem até que a recuperação da glândula mamária seja estabelecida (Radostits *et al.*, 1999). Além disso, muitas infecções intramamárias causadas por coliformes existem com menos que 100 unidades formadoras de colônias (UFC/mL), sendo este o limite mínimo de detecção quando o método-padrão é utilizado, semeando 0,01mL de leite em ágar sangue (Smith, 1983). Portanto, não são raros os diagnósticos negativos em que há presença de infecções por coliformes. No presente estudo, mesmo não sendo observada

diferença quanto à prevalência de infecções intramamárias entre os grupos vacinado e não vacinado pela análise microbiológica, houve diferença quanto à ocorrência de mastite subclínica observada pela análise de CCS. Tal fato indica a importância de se associar a cultura microbiológica com a análise de CCS para maior acurácia no diagnóstico das mastites bovinas.

Na Tab. 4, apresenta-se a média da contagem de células somáticas nos animais dos grupos vacinado e não vacinado na secagem e após o parto até os 100 primeiros dias de lactação.

Tabela 4. Média da contagem de células somáticas na secagem e nos 100 primeiros dias após o parto (\log_{10} células/mL), nos grupos vacinado e não vacinado

Grupo	Variável			
	CCS SEC (células/mL)	Erro-padrão	CCS PP (células/mL)	Erro-padrão
Vacinado (n=43)	5,71a	0,09	5,09a	0,09
Não vacinado (n=50)	6,00b	0,09	5,38b	0,09

SEC = secagem; PP = pós-parto.

Médias seguidas de letras minúsculas distintas, na mesma coluna, indicam diferenças estatísticas entre grupos, dentro de variável, pelo teste t ($P < 0,05$).

Em vacas vacinadas, a CCS foi menor no dia da secagem, quando comparada à do grupo não vacinado ($P < 0,05$). As vacas vacinadas apresentaram menor CCS em relação aos animais não vacinados nos primeiros 100 dias de lactação ($P < 0,05$). Essa contagem representa a média de três coletas intervaladas de 30 dias. A diferença observada entre os dois grupos pode ser explicada pelo mecanismo de ação da vacina *E. coli* J5 sugerido por Dosogne *et al.* (2002), em que a proteção oferecida pela vacina está relacionada ao aumento na produção de anticorpos específicos contra antígenos do núcleo do LPS e aumento na opsonização de bactérias. Os títulos séricos de IgG1 e IgG2 contra *E. coli* J5 são significativamente maiores em vacas vacinadas, comparadas às não vacinadas (Wilson *et al.*, 2007), o que favorece a formação da resposta imunológica Th1, que auxilia na fagocitose da bactéria pelo neutrófilo, e a eliminação da infecção (Burton *et al.*, 2003). Com isso, a eliminação da infecção pelo grupo vacinado é mais rápida (Wilson *et al.*, 2007). Os resultados observados no presente estudo foram semelhantes aos descritos por esses autores, indicando o benefício da vacina na redução da intensidade da reação inflamatória da glândula

mamária. Esse benefício pôde ser observado desde a secagem, ou seja, 15 dias após a aplicação da primeira dose da vacina.

Não houve diferença ($P > 0,05$) na média da produção de leite até os 100 dias de lactação entre os animais vacinados e não vacinados (Tab. 5).

Tabela 5. Produção de leite (kg de leite/vaca/dia) de vacas vacinadas e não vacinadas nos primeiros 100 dias de lactação

Grupos	Produção PP (kg leite/vaca/dia)	Erro-padrão
Vacinado (n=43)	25,96	0,83
Não vacinado (n=50)	25,66	0,87

PP = pós-parto.

Não houve diferença estatística entre grupos pelo teste t ($P < 0,05$).

Estes resultados estão de acordo com Hogan *et al.* (1995), os quais concluíram que a produção de leite não diferiu entre os grupos experimentais após o desafio intramamário com *E. coli*. Esses

autores demonstraram que a média na produção de leite diminuiu aproximadamente 35% no dia seguinte ao desafio, nos dois grupos, e retornou ao nível de produção anterior ao desafio quatro dias após esse desafio. Quando ocorre infecção intramamária, o processo inflamatório gerado provoca danos no tecido secretor, resultando em menor produção de leite (Shuster *et al.*, 1991). Danos causados às células epiteliais e à glândula mamária decorrentes da infecção podem ser reparados após a eliminação do patógeno e a redução do processo inflamatório, e a função da parte afetada pode retornar ao normal na mesma lactação (Harmon, 1994). Wilson *et al.* (2009) estudaram a ocorrência de casos naturais de mastite clínica em animais vacinados e não vacinados em rebanhos comerciais dos Estados Unidos e observaram que vacas do grupo vacinado que desenvolveram casos clínicos de mastite apresentaram média diária de produção de leite maior que as vacas do grupo não vacinado, sendo esse aumento na média de 2kg de leite/dia. No presente estudo, a não diferença entre os grupos indica que o intervalo de 30 dias entre pesagem pode impedir a detecção de diferenças na produção de leite nos animais vacinados e não vacinados. Peterson *et al.* (2002) utilizaram um protocolo de vacinação semelhante ao empregado no presente estudo, sendo a primeira dose da vacina 15 dias antes da secagem, a segunda dose na secagem e a terceira 30 dias após a segunda. Os autores não observaram diferença entre os grupos na produção de leite e atribuíram esse fato à realização do estudo em vacas no início da lactação, momento este em que a produção de leite está aumentando rapidamente e o efeito do esquema de vacinação nesse parâmetro pode não ser observado.

CONCLUSÕES

A vacinação de vacas com *E. coli* J5 no pré-parto melhora a saúde do úbere de vacas leiteiras e, consequentemente, reduz a prevalência de animais com mastite subclínica no pós-parto, bem como a duração dos casos clínicos de mastite e a contagem de células somáticas na secagem e nos 100 primeiros dias de lactação. A produção de leite e a ocorrência de casos clínicos de mastite nos primeiros 100 dias de lactação não são alteradas pela utilização da vacina *E. coli* J5.

REFERÊNCIAS

- BERRY, E.A.; HILLERTON, J.E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.112-121, 2002.
- BRADLEY, A.J.; GREEN, M.J. Coliform mastitis – the importance of the dry period. IN: BRITISH MASTITIS CONFERENCE. *Proceedings*: Institute for Animal Health/Milk Development Council, Shepton Mallet, 2000. p.28-36
- BRADLEY, A.J.; GREEN, M.J. The aetiology of clinical mastitis in a cohort of Somerset dairy herds. *Vet. Rec.* p.683-686, 2001a.
- BRADLEY, A.J.; GREEN, M.J. An Investigation of the Impact of Intramammary Antibiotic Dry Cow Therapy on Clinical Coliform Mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.84, p.1632-1639, 2001b.
- BURTON, J.L.; ERSKINE, R.J. Immunity and mastitis some new ideas for an old disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, v.19, p.1-45, 2003.
- BURVENICH, C.; DETILLEUX, J.; PAAPE, M.J. *et al.* Physiological and genetic factors that influence the cows resistance to mastitis, especially during early lactation. IN: SYMPOSIUM ON IMMUNOLOGY OF RUMINANT MAMMARY GLAND, 2000, Itália. *Proceedings...Stressa*, 2000. p.9-20.
- DOSOGNE, H.; VANGROENWEGHE, F.; BURVENICH, C. Potential mechanism of action of J5 vaccine in protection against bovine coliform mastitis. *Vet. Res.*, v.33, p.1-12, 2002.
- ELBIEN, A.D.; HEATH, E.C. The biosynthesis of cell wall lipopolysaccharide in *Escherichia coli*: I. The biochemical properties of a uridine diphosphate galactose 4-epimeraseless mutant. *J. Biol. Chem.*, v.240, p.1926-1931, 1965.
- GENTILINI, M.B. *Utilização da vacina Escherichia coli J5 na imunização de vacas e novilhas leiteiras contra mastites causadas por Escherichia coli.*, 2010, 54p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais.
- GOFF, J.P.; HORST, R.L. Physiological Changes at Parturition and Their Relationship to Metabolic Disorders. *J. Dairy Sci.*, v.80, p.1260-1268, 1997.
- GREEN, M.J.; GREEN, L.E.; MEDLEY, G.F. Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v.85, p.2589- 2599, 2002.

Vacinação com *Escherichia coli*

- HALASA, T.; NIELEN, M.; VAN WERVEN, T. *et al.* Meta-analysis of dry cow management for dairy cattle. Part 1. Protection against new intramammary infections. *J. Dairy Sci.*, v.92, p.3134–3149, 2009.
- HARMON, R.J. Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *J. Dairy Sci.*, v.77, p.2103-2112, 1994.
- HOGAN, J.S.; SMITH, K.L.; TODHUNTER, D.A.; SCHOENBERGER, P.S. Field trial to determine efficacy of an *Escherichia coli* J5 mastitis vaccine. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.78-84, 1992a.
- HOGAN, J.S.; WEISS, W.P.; SMITH, K.L. *et al.* Effects of an *Escherichia coli* J5 vaccine on mild clinical coliform mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.78, p.285-290, 1995.
- HOGAN, J.S.; WEISS, W.P.; TODHUNTER D.A. *et al.* Efficacy of an *Escherichia coli* J5 mastitis vaccine in an experimental challenge trial. *J. Dairy Sci.*, v.75, p.415-422, 1992b.
- NICKERSON, S.C. Immunological aspects of mammary involution. *J. Dairy Sci.*, v.72, p.1665-1678, 1989.
- PETERSSON, C.S.; LESLIE, K.E.; KELTON, D.F. *et al.* Impact of two coliform mastitis vaccination schedules on milk production and dry matter feed intake of dairy cattle. IN: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING , 2002, Florida. *Proceedings...*, Florida, 2002. p.168-169.
- PETERSSON-WOLFE, C.S. Control of Mastitis during the Transition Period. IN: VIRGINIA TECH DAIRY CONFERENCE. Virginia: Bibliothèque et Archives nationales du Québec. 72p. 2006.
- RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHDIFF, K.W. *Veterinary Medicine*. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses. Elsevier, 1999. 185p.
- RIOLLET, C.P.; RAINARD, P.; POUTREL, B. Kinetics of cells and cytokines during immune-mediated inflammation in the mammary gland of cows systematically immunized with *S. aureus* alpha-toxin. *Inflamm. Res.*, v.49, p.486-496, 2000.
- SHAFFER-WEAVER, K.A.; CORL, C.M.; SORDILLO, L.M. Shifts in bovine CD4+ subpopulations increase T-helper-2 compared with T-helper-1 effector cells during the postpartum period. *J. Dairy Sci.*, v.82, p.1696-1706, 1999.
- SHUSTER, D.E.; HARMON, R.J.; JACKSON, J.A.; HEMKEN, R.W. Suppression milk production during endotoxin-induced mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.74, p.3763-3774, 1991.
- SMITH, K.L.; HOGAN, J.S. Environmental mastitis: Know your opponent. IN: REGIONAL MEETING OF THE NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Green Bay, Wisconsin, 2008.
- SMITH, K.L. Mastitis control: a discussion. *J. Dairy Sci.*, v.66, p.1790-1794, 1983.
- WILSON, D.J.; GROHN, Y.T.; BENNETT, G.J. *et al.* Comparison of J5 vaccinates and controls for incidence, etiologic agent, clinical severity, survival in herd following naturally occurring cases of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.*, v.90, p.4282-4288, 2007.
- WILSON, D.J.; MALLARD, B.A.; BURTON, J.L.; *et al.* Association of *Escherichia coli* J5-specific serum antibody responses with clinical mastitis outcome for J5 vaccinate and control dairy cattle. *Clin. Vaccine Immunol.*, v.16, p.209-217, 2009.