

Suplementação com vitamina E (acetato de DL-alfa-tocoferol) e a ocorrência de mastites em vacas da raça Jersey.

Supplementation with vitamin E (acetate of DL-alpha-tocopherol) on the mastitis occurrence in Jersey cows.

FERREIRA, A. M. S. C.; COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; BRITO, O. S.; CASSETARI, M.L.; NETO, A. O. C.

Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária, Departamento de Patologia e Clínicas

RESUMO

O estudo objetivou analisar o efeito da suplementação com vitamina E sobre a ocorrência de mastites em vacas leiteiras. Treze animais receberam suplementação com três gramas de acetato de DL-alfa-tocoferol, via intramuscular, aos 45, 30 e 15 dias antes do parto. O grupo-controle recebeu placebo (soro fisiológico) nos mesmos períodos. A ocorrência de mastites foi observada em três momentos, após o parto: aos 60 (M1), aos 90 (M2) e aos 120 (M3) dias. A ocorrência de mastites foi avaliada através dos métodos do “California Mastitis Test” (CMT) e da Contagem de Células Somáticas (CCS). Entretanto, o protocolo de suplementação com vitamina E utilizado nesse experimento não teve influência sobre a ocorrência de mastites em vacas leiteiras, pois não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) para os resultados do CMT e da CCS, entre os grupos experimentais, nas três fases estudadas.

Palavras-chave: mastites, vacas leiteiras, vitamina E.

INTRODUÇÃO

A relevância da mastite, relacionada como a principal causa de perdas produtivas e econômicas em rebanhos leiteiros, tem impulsionado a busca constante de formas eficientes de

SUMMARY

This study was carried out to evaluate the effect vitamin E supplementation on the occurrence of mastitis in dairy cows. Thirteen animals received 3 g of DL-alpha-tocopherol acetate, for intramuscular way, on the 45, 30 and 15 days before the previous date at calving. The control group received physiologic solution to 0,9% in the same moments. The occurrence of mastitis was observed only in three moments, after of the parturition, at 60 (M1), 90 (M2) and 120 (M3) days after at calving. The occurrence of mastitis was evaluated across of methods California Mastitis Test (CMT) and Somatic Cells Count (SCC). However, the protocol used in the experiment no had influence on the occurrence of mastitis in dairy cows, was not observed significative difference for to CMT and SCC in the three moments studied.

Keywords: dairy cows, mastitis, vitamin E.

tratamento e, principalmente, de prevenção dessa enfermidade (SORDILLO et al., 1997; VALLE, 2005). Em levantamentos feitos em rebanhos leiteiros de São Paulo e Minas Gerais,

72% dos animais apresentavam mastite subclínica em pelo menos um dos quartos, destes 46% estavam acometidos, reduzindo-se de 3 a 46% a produção de leite, enquanto a porcentagem de mastite clínica ficou em torno de 17, 45% ou 17,5 ou ainda 18% (COSTA et al., 1995; COSTA, 1998).

A mastite subclínica tem prevalência variável, podendo atingir de 90 a 95% do rebanho, tornando-se uma das enfermidades mais importantes e que mais prejuízos causam à pecuária leiteira. Os sintomas dessa forma da doença são menos evidentes, havendo manifestação, geralmente, apenas através de alterações na composição físico-química do leite e do aumento na celularidade, fato observado pela elevação da contagem de células somáticas, nos teores de sódio e cloretos e proteínas séricas e na redução dos níveis de lactose, caseína e gordura do leite (RADOSTITS et al., 2002). O diagnóstico da mastite se baseia no exame direto da glândula (inspeção e palpação), complementados pelo exame direto do leite, por meio do teste da caneca telada ou de fundo escuro, e também por métodos indiretos como o Califórnia Mastitis Test (CMT), a Contagem de Células Somáticas (CCS), o Whiteside, o Wisconsin Mastitis Test (WMT), a condutibilidade elétrica, o exame bacteriológico, entre outros (COSTA et al., 1997; DELLA LIBERA et al., 2002; COLDEBELLA et al., 2003).

Os efeitos favoráveis do selênio, vitamina E e outros antioxidantes como beta – caroteno e vitamina A, sobre os mecanismos de defesa da glândula mamária foram descritos por vários autores (HOGAN et al. 1992; JUKOLA et al. 1995; LACETERA et al. 1996).

Existem evidências de que a deficiência de vitamina E e selênio reduz a capacidade de fagocitose dos neutrófilos, a eliminação de microrganismos e a

produção de leucotrienos dessas células, reduzindo a habilidade de quimiotaxia (HOGAN et al., 1992). Em animais que apresentam reduzidas concentrações séricas de alfa-tocoferol, há maior incidência de casos de mastites clínicas e subclínicas (NDIWENI et al., 1991). Em casos de mastite, há redução dos níveis plasmáticos e lácteos de vitamina E, além da diminuição da viabilidade dos neutrófilos polimorfonucleares (ATROSHI et al., 1987; MEHZARD et al., 2004).

Acredita-se que, através de suplementação com vitamina E, teores séricos adequados dessa vitamina e a atividade neutrofilica podem ser mantidos em todo o periparto. A suplementação diária com 1000 UI de alfa – tocoferol em vacas secas que recebem 0,1 ppm de selênio reduz em 30% a incidência de mastites clínicas, ampliando-se para 88% se dose utilizada de vitamina E for de 4000 UI por dia, nos últimos 14 dias do período seco, em comparação com vacas que recebem apenas 100 UI por dia (RADOSTITS et al., 2002).

Em vacas, muitas infecções intramamárias ocorrem nas duas semanas anteriores e posteriores ao parto, quando se observa uma maior probabilidade de deficiência da vitamina E, além da imunossupressão característica desse período, com maior susceptibilidade a doenças. A alimentação de vacas leiteiras predominantemente com silagem, como forma de volumoso, aumenta ainda mais o risco do surgimento da deficiência de vitamina E, comprometendo os mecanismos imunológicos de defesa e facilitando a contaminação da glândula mamária por agentes infecciosos causadores de mastite (HOGAN et al., 1993; SMITH et al., 1997; VALLE, 2005).

Os efeitos da suplementação com vitamina E foram exaustivamente

estudados, sendo esta considerada como estimulante da imunidade, além de retardar o envelhecimento orgânico tanto em humanos quanto em animais domésticos (BRIGELIUS – FLOHÉ e TRABER, 1999). Politis et al. (1995) afirmaram que a vitamina E impede a inibição das funções dos neutrófilos e dos macrófagos no período inicial da lactação. A vitamina E, quando fornecida em doses elevadas, pode prevenir enfermidades como mastite (WEISS et al., 1997; VALLE, 2000) e reduzir distúrbios reprodutivos como retenção de placenta, metrites e cistos ovarianos (WEISS et al., 1990). Diversos autores relataram uma redução na ocorrência de mastites em vacas suplementadas com tocoferol (BATRA et al. 1992; JUKOLA et al., 1996; ZANETTI et al., 1998; VALLE, 2000; PASCHOAL et al., 2003a), entretanto, em outros estudos, não foi observado efeito benéfico sobre a imunidade da glândula mamária (NDIWENI et al. 1991; COSTA et al., 1997; ERSKINE et al., 1997).

No Brasil, diversas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação com vitamina E sobre o sistema imune de ruminantes, não havendo ainda uma padronização de um protocolo a ser utilizado com relação à via de administração, à dose e ao tempo de uso, que poderiam reduzir a incidência de doenças, especialmente as mastites, no período do parto, em vacas ou cabras leiteiras (VALLE, 2000; LOPES et al., 2003; PASCHOAL et al., 2003a; PASCHOAL et al., 2005) ou no período de estresse do desmame, em bezerros (PEIXOTO et al., 2002; COSTA et al., 2004; REIS, et al., 2005; PEIXOTO, 2006).

Esse estudo foi realizado com o objetivo de observar o efeito da suplementação com acetato de DL-alfa-tocoferol, por via de administração parenteral, antes do

parto, sobre a ocorrência de mastites em vacas da raça Jersey.

MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada em uma propriedade leiteira, localizada no distrito de Murutuba, município de Cachoeira, Bahia. Durante a pesquisa, a produção leiteira diária média total foi de 6500 litros de leite tipo A, com média superior a 15 litros por vaca e por ordenha, realizada duas vezes por dia. Foram utilizadas 26 vacas, todas pluríparas, da raça Jersey, mantidas sob regime de pastejo rotacionado, em pastagens irrigadas de capim tifton (*Cynodon spp*), recebendo uma ração complementar preparada na propriedade, a base de milho, soja, trigo, bagaço de laranja e núcleo mineral. Os 26 animais foram selecionados aproximadamente 45 dias antes do parto, baseando-se no controle reprodutivo da propriedade. A distribuição das vacas entre os dois grupos foi feita de forma aleatória, com animais que possuíam tetas perdidas, distribuídos de forma homogênea entre os grupos, alocando-se um animal por vez em cada grupo, até que se alcançasse o número desejado de fêmeas. Os exames das amostras colhidas, foram realizados no laboratório do CDP – EMV – UFBA, em Santo Amaro, Bahia, no laboratório da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), em Curitiba, Paraná e no laboratório de nutrição da Faculdade de Medicina – UNESP, em Botucatu, São Paulo.

O grupo tratado recebeu 3 gramas de acetato de DL – alfa – tocoferol (Vitamina E – LABOVET – Feira de Santana – Bahia), por via intramuscular profunda, aos 45, 30 e 15 dias antes do parto. Os animais do grupo-controle receberam 30 mL de solução fisiológica a 0,9% (placebo), via intramuscular, nos

mesmos períodos utilizados para a suplementação dos animais do grupo tratamento, buscando-se uma idêntica manipulação entre os dois grupos. As doses de 30 mL de soro fisiológico e de vitamina E foram administradas em duas aplicações de 15 mL, em cada um dos membros posteriores.

As colheitas de sangue, obtidas através de punção da veia jugular, foram realizadas entre os meses de junho de 2003 até março de 2004, sendo sempre realizadas pela manhã. As colheitas de sangue foram realizadas ao parto e aos 60, 90 e 120 dias após o parto, consistindo, respectivamente, nos momentos 1 (M1), 2 (M2), 3 (M3). Para as colheitas, foram utilizadas agulhas descartáveis (25x8), acopladas a um canhão adaptador e tubos estéreis a vácuo (Becton – Dixen, Vacutainer System, NJ) sem anticoagulante EDTA, para obtenção de soro sanguíneo, mantido sob abrigo da luz, utilizado na dosagem da vitamina E (alfa-tocoferol). A concentração sérica da vitamina E (alfa-tocoferol) foi determinada através do método de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), segundo as recomendações de ARNAUD et al. (1991).

As amostras de leite para realização dos testes de CMT e de CCS foram obtidas através de colheita direta, em placa ou coletor específicos, respectivamente, entre 4:30 e 5 horas da manhã, após o *pré-dipping*, realizado com produto a base de cloro (Agrisept®) para desinfecção prévia dos tetos e antes da ordenha mecânica.

O CMT foi realizado segundo as recomendações de Schalm & Noorlander (1957), antes da primeira ordenha mecânica, após o *pré-dipping* e secagem dos tetos, de acordo com método utilizado na propriedade. Foram feitas as análises de cada quarto mamário, excetuando-se

os não-funcionais, considerado o número de quartos positivos, para cada vaca, independentemente do número de cruzes encontrado durante o teste. Isso possibilitou a tabulação dos dados e o cálculo do número de quartos acometidos em cada um dos grupos.

Após a realização do CMT, foram colhidos jatos de leite, acondicionados diretamente em frascos específicos para CCS, contendo o conservante bronopol, que mantém as características do leite por até 48 horas, não sendo necessária refrigeração. Os frascos contendo as amostras foram lacrados adequadamente e remetidos, no mesmo dia, ao laboratório da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), em Curitiba. As contagens celulares foram realizadas, em no máximo, 24 horas após o recebimento das amostras, em contador eletrônico de células somáticas (Somacount 500), segundo as recomendações de Harmon (1994). Foram realizadas as CCS de cada quarto mamário, excetuando-se os não-funcionais, sendo considerada, para cada vaca, uma média dos valores obtidos em todos os tetos, tornando-se possível a avaliação e a tabulação dos dados. Foram considerados negativos os quartos mamários com valores de CCS inferiores a 1.000.000 de células/mL, segundo as novas regras da legislação brasileira, adotadas em julho de 2005 (SOUZA, 2005)

Para a análise estatística, foram utilizados testes de livre distribuição, que são análises estatísticas não-paramétricas (ZAR, 1996). Para observação de diferenças significativas entre os períodos, foi utilizada a prova de Friedman, com 5% de significância e 95% de confiança, e, para análise das diferenças entre os grupos-controle e tratamento, a prova de Mann – Whitney, com 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios das concentrações séricas de alfa-tocoferol, expressos em $\mu\text{g/mL}$, de vacas da raça Jersey tratadas e do grupo-controle, estão representados na Figura 1. No momento do parto, foram observadas as menores concentrações de alfa-tocoferol no grupo-controle, havendo concordância com as afirmações de Hogan et al. (1990) e Smith et al. (1997), que observaram reduções das concentrações plasmáticas de tocoferol durante o período compreendido entre o 7º e o 10º dia antes do parto, até o 3º ao 5º dias após o parto. Essa queda pode decorrer da mobilização da vitamina E para o colostro, que é rica em gorduras e substâncias lipossolúveis (McDOWELL et al., 1996), ou ainda do estresse característico desse período, com intensas alterações físicas, metabólicas e hormonais (SMITH et al., 1984).

As concentrações séricas de alfa-tocoferol, observadas em ambos os grupos, talvez estejam atreladas em parte à concentração satisfatória de vitamina E das forragens, haja vista que os animais permaneceram em pastagens irrigadas de ótima qualidade, em sistema de pastejo rotacionado, durante todo o experimento. Esses valores, obtidos em regiões de clima tropical, têm sido superiores aos descritos em experimentos realizados em regiões temperadas, provavelmente, porque os animais criados no Brasil têm acesso a pastagens frescas durante todo o ano, enquanto que os animais de áreas mais frias permanecem, por vezes, boa parte do ano estabulados, alimentando-se de feno e silagens, devido às baixas temperaturas, não sendo possível a ingestão de forragens “in natura” (ZUST et al., 1996).

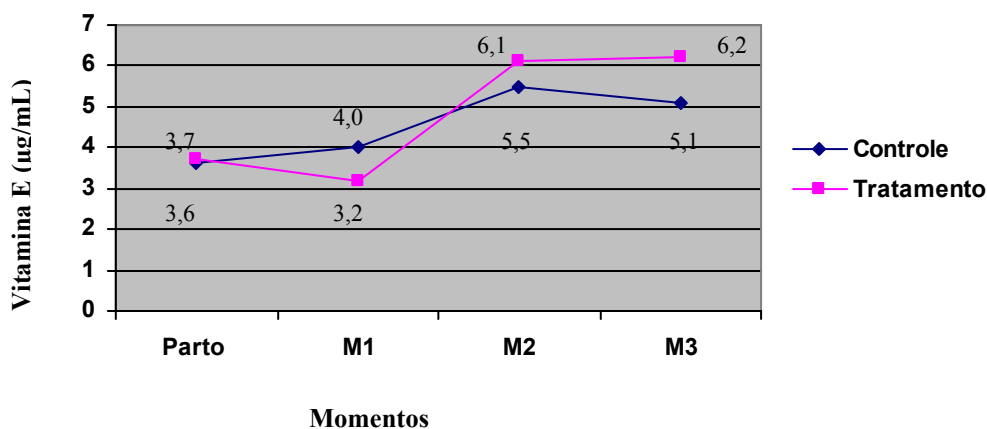


Figura 1. Valores médios da concentração sérica de alfa-tocoferol, expressos em $\mu\text{g/mL}$, de vacas da raça Jersey, não-tratadas e tratadas com acetato de DL-alfa-tocoferol ao parto, aos 60 (M1), aos 90 (M2) e aos 120 dias (M3) após o parto.

De acordo com McDowell et al. (1996), a fenação e ensilagem podem reduzir em

até 50% os teores de vitamina E do alimento.

Os valores similares observados entre os grupos, em todos os momentos avaliados, ou inferiores, observados no grupo suplementado, aos 60 dias após o parto e no controle ao parto, evidenciaram que o protocolo de suplementação com acetato de DL-alfa-tocoferol utilizado no experimento não foi eficiente para elevar significativamente ($p \leq 0,05$) os teores séricos dessa vitamina no grupo tratado, no período do parto e pós-parto. Essas elevações foram mais evidentes aos 90 e aos 120 dias de lactação, quando foram observados os valores máximos da concentração sérica de alfa-tocoferol no grupo tratado. Reis (2005) observou efeito positivo da suplementação sobre os níveis séricos de tocoferol, ao fornecer vitamina E, por via oral, a bezerras da raça Jersey. A ausência de influência da suplementação sobre os teores séricos está de acordo com o descrito por Brito (2005), ao avaliar vacas da raça Jersey. Os valores de CMT, descritos na Tabela 1, foram analisados considerando-se os quartos positivos dos animais que apresentavam a partir de 1+, sendo utilizado, para unificação dos achados obtidos por grupo, o número de tetos positivos. Não foi observada diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre os grupos, no que diz respeito ao CMT. Entretanto, os animais do grupo-controle, apesar de apresentarem um número menor de quartos positivos na maioria dos períodos,

demonstraram reações de 3+, o que não foi observado nos animais tratados em nenhum dos períodos. Quartos que apresentam resultado fortemente positivo ao CMT (3+) têm maior celularidade, fato observado pelas maiores CCS observadas nos animais controle. Os valores da CCS, para os grupos-controle e tratamento, estão descritos na Tabela 1. Foi considerada, para unificação dos achados obtidos por vaca, uma média dos valores de todos os tetos encontrados nesse experimento. Os resultados obtidos estão de acordo com aqueles observados por Fonseca & Santos (2000), Gregory et al. (2001) e Paschoal et al (2003b). Em todos os períodos e em ambos os grupos experimentais, foram observados, nesta pesquisa, valores acima de 200000 células/mL, valores que, segundo Thiers (1999) e Souza (2005), já indicariam mastite subclínica, com pelo menos um quarto mamário afetado. Coldebella et al. (2003), relatam perdas produtivas em animais com CCS superior a 14270 células/mL. Paschoal et al. (2003b) discordam desses valores limites, afirmando que o total de células somáticas não indicativo de mastites subclínicas é de até 300000 células/mL, enquanto Fonseca e Santos (2000) relatam contagens entre 200000 e 400000 células/mL, indicando baixa probabilidade de infecção da glândula mamária.

Tabela 1. Número total de quartos, quartos positivos e porcentagem de quartos positivos ao teste do CMT e valores médios da CCS, expressos em células x 10³/mL, obtidos de vacas da raça Jersey, não tratadas e tratadas com acetato de DL-alfa-tocoferol, aos 60 (M1), 90 (M2) e 120 dias (M3) depois do parto.

Grupo	M1				M2			M3		
	NQ	QP	%P	CCS	QP	%P	CCS	QP	%P	CCS
Controle	48	11	22,9	318,4Aa	10	20,8	319,8Aa	10	20,8	313,6Aa
Tratamento	48	13	27,1	310,9Aa	10	20,8	318,3Aa	11	22,9	296,4Aa

NQ – Número de quartos avaliados %P – Porcentagem de quartos positivos
QP – Quartos positivos ao CMT CCS – Contagem de células somáticas

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna, não diferem entre si pela prova de Mann –Whitney a 5% de significância.

Letras minúsculas iguais na mesma linha, não diferem entre si pela prova de Wilcoxon a 5% de significância.

Os valores de CCS, obtidos em ambos os grupos experimentais em todos os momentos avaliados, sempre foram inferiores ao máximo permitido por lei, pois a legislação brasileira passou a exigir, a partir de julho de 2005, a CCS como requisito de qualidade para o leite cru, refrigerado, nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste. Os limites máximos permitidos são de 1000000, 750000 e 400000 células/mL, nos anos de 2005, 2008 e 2011, respectivamente. Entretanto, nas regiões Norte e Nordeste, esses limites deverão ser atingidos a partir de 2007, 2010 e 2012 (SOUZA, 2005).

Não foi observada similaridade entre os resultados do CMT e CCS, nesta pesquisa, na maioria dos momentos avaliados, em ambos os grupos, fato também observado por Zafalon et al (2005), que difere das observações de Brito et al. (1997), Silva et al (2001), Cademartori (2001), Della Libera et al. (2001) e Barbosa et al. (2002). Brito et al. (1997) destacam que, apesar do CMT ser um ótimo teste para o diagnóstico dos casos subclínicos de mastites, devido ao seu baixo custo e a sua fácil realização, o seu caráter subjetivo, que depende da interpretação da viscosidade observada e

da sua classificação em escores, pode ocasionar tanto resultados falsos positivos quanto falsos negativos, sendo indicada a CCS como método diagnóstico mais seguro. Esses autores descrevem variadas relações entre o CMT e a CCS, mas relatam relação positiva na maioria das vezes. Zafalon et al. (2005) observaram que, para uma boa interpretação do CMT e dos resultados da CCS, são necessários alguns cuidados, como a observação das diferenças individuais, das variações diurnas, do estágio de lactação e de processos irritativos, decorrentes de falhas no equipamento ou no manejo durante a ordenha.

Foram obtidos menores valores de CCS no grupo tratado em todos os momentos, apesar do maior número de quartos positivos ao CMT, observados nesses animais, nos M1 e M3. Entretanto, o menor valor de CCS, obtido para o grupo suplementado, especialmente aos 90 dias de lactação, pode estar relacionado ao fato de que em nenhum dos animais desse lote foi observada reação de 3+, enquanto que, no grupo-controle, houve resultado fortemente positivo. Alguns autores como, Della Libera et al. (2002), Silva et al. (2001), Blagitz et al. (2004) e Zafalon

et al. (2005), relatam que, para se obter uma melhor avaliação da ocorrência de mastites, testes como o CMT e a CCS devem ser associados a análises microbiológicas, alcançando-se assim resultados mais representativos, evitando-se falsos positivos e negativos.

Não foram observadas diferenças significativas ($p \leq 0,05$) entre os grupos e entre os períodos para o teste do CMT e da CCS, ou seja, no número de mastites subclínicas. Tal fato também foi relatado por Batra et al. (1992), Jukola et al. (1996), Zanetti et al (1998) e Valle (2000), porque os protocolos de suplementação de vitamina E utilizados por esses pesquisadores também não foram suficientes para reduzir os valores de CMT e CCS do grupo tratado. Isso, entretanto, não está em concordância com os achados de Paschoal et al. (2003b), em que a suplementação com vitamina E e selênio reduziu os valores de CCS. Não houve uma linearidade nos resultados desses testes no experimento, não sendo possível correlacioná-los com os valores de alfa-tocoferol séricos, sugerindo-se que o protocolo de suplementação utilizado não obteve efeito sobre a ocorrência de mastites entre os diferentes grupos experimentais.

O único caso de mastite clínica que foi observado em uma vaca do grupo-controle (C9), no quarto posterior direito, ocorreu no M3. Após o tratamento, segundo o protocolo utilizado na propriedade, houve melhora clínica evidente, inclusive no CMT, quatro dias depois do início da doença. Entretanto, isso não determina diferença significativa na ocorrência de mastites clínicas entre os grupos, nos momentos estudados, fato

esse também observado por Batra et al. (1992) e Erskine et al. (1997). Outros autores como Smith et al. (1984), Weiss et al. (1997) e Valle (2000) observaram redução significativa no número de casos clínicos dessa doença no grupo tratado com vitamina E e/ou selênio.

CONCLUSÃO

Não foi observada deficiência de vitamina E, em nenhuma das vacas utilizadas neste experimento, em nenhum dos momentos estudados. O protocolo de suplementação com acetato de DL-alfa-tocoferol, utilizado neste trabalho, não foi eficiente para ampliar significativamente ($p \leq 0,05$) os valores séricos de alfa-tocoferol nos animais do grupo tratamento, nos momentos avaliados, com animais suplementados apresentando maiores concentrações séricas de alfa-tocoferol apenas aos 90 e 120 dias de lactação.

A similaridade dos resultados de CMT e CCS de ambos os grupos experimentais evidenciaram que o protocolo de suplementação utilizado não influenciou na ocorrência de mastites clínicas e subclínicas no grupo tratado, quando comparado com o controle, durante os períodos avaliados.

AGRADECIMENTOS

Ao LABOVET, pela doação da vitamina E utilizada no experimento; ao Sr. José Rial, pela cessão da sua propriedade e dos seus animais; à CAPES, pela bolsa de estudos concedida.

REFERÊNCIAS

- ARNAUD, J.; FORTIS, I.; BLACHIER, D.; FAVIER, D. Simultaneous determination of retinol, α – tocopherol and β – carotene in serum by isocratic high – performance liquid chromatography. *J. Chromother.*, v.572, p. 103 – 16, 1991.
- ATROSHI, F.; TYOPPONEN, J.; SANKARI, S.; KANGASNIEMI, R.; PARANTANEIN, J. Possible roles of vitamin E and glutathione metabolism in bovine mastitis. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, v. 57, n.1, p. 37 – 43, 1987.
- BARBOSA, C. P.; BENEDETTI, E.; RIBEIRO, S. C. de A.; GUIMARÃES, E. C. Relação entre Contagem de Células Somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test” (CMT), no diagnóstico de mastite bovina. *Biosci. J.*, v. 18, n. 1, p. 93 – 102, 2002.
- BATRA, T. R.; HIDIROGLOU, M.; SMITH, M. W. Effect of vitamin E on incidence of mastitis in dairy cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, v. 72, p. 287 – 297, 1992.
- BLAGITZ, M. G.; RICCIARD, M.; FREITAS, C.; KITAMURA, S. S.; GOMES, V.; MADUREIRA, K. M.; DELLA LIBERA, A.M.M.P. Efeito do desmame na contagem de células somáticas (CCS) e exame microbiológico do leite de ovelhas. *Arq.Inst.Biol.*, São Paulo, v. 71, p. 741 – 749, 2004. (supl.)
- BRIGELIUS – FLOHÉ, R.; TRABER, M. Vitamin E: function and metabolism. *FASEB J.*, v. 13, p. 1145 – 1155, 1999.
- BRITO, J. R.F.; CALDEIRA, G.A.V.; VERNEQUE, R. da S.; BRITO, M.A.V. P. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. *Pesq. Vet. Bras.*, v. 17, n. 2, p. 49 – 53, 1997.
- BRITO, O. S. Efeito da suplementação parenteral com vitamina E no pré-parto sobre a eficiência reprodutiva de vacas leiteiras. 2005. 87 p. (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical) – Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Salvador.
- CADEMARTORI, A. Contagem eletrônica de células somáticas no leite como método auxiliar no controle de mastite bovina em uma propriedade leiteira no Rio Grande do Sul. *Arq. da Fac. Vet. UFRGS.* v. 29, n. 1, p. 69 – 70, 2001.
- COLDEBELLA, A.; MACHADO, P.F.; DEMÉTRIO, C.G.B.; RIBEIRO JR, P.J.; CORASSIN, C.H.; MEYER, P.M.; CASSOLI, L.D. Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas de alta produção. *Pesq. Agropec. Bras.*, v.38, n.12, p. 1451 – 7, 2003.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E. T.; WHITE, C. R.; PARDO, R. B. Índices de mastite bovina clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. *Ver. Bras. Med. Vet.*, v. 17, n. 5, p. 215 – 217, 1995.
- COSTA, E.O.; LUCCI, C.S.; ABE, S.Y.; WHITE, C.R.; RIBEIRO, A.R.; WATANABE, E.T.; GABALDI, S.A.; SA FILHO, R. Influência da suplementação de selênio na incidência de mastite. *Ver. Bras. Med. Vet.*, v.19, n.4, p. 169 – 172, 1997.
- COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Ver. Educ.Contin. São Paulo, CRMV*, v. 1, p. 3 – 9, 1998.
- COSTA, J. N.; PEIXOTO, A. P. C.; KOHAYAGAWA, A.; FERREIRA, A. F. M. S. da C.; CASSETARI, M. L.; CROCCI, A. D. Influência do desenvolvimento etário e da suplementação com vitamina E (acetato de DL – alfa – tocoferol) no metabolismo oxidativo de neutrófilos de bovinos da raça

Holandesa (*Bos taurus*), Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci., v. 41, n. 5, p. 293-298, 2004.

DELLA LIBERA, A.M.M.P.; ARAÚJO, W.P.; COSTA, E. O.; GARCIA, M.; TÁVORA, J.F. P.; BENATTI, L.A.T. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alterações ao exame físico da glândula mamária e com alta contagem de células somáticas. Rev. Bras. Saúde Prod. Anim., v.1, n.2, p. 42 – 47, 2001.

DELLA LIBERA, A.M.M.P.; KITAMURA, S.S.; ROSENFELD, A.M.F.; GARCIA, M.; MIRANDOLA, R.M.S.; ARAÚJO, W.P. Influência do tipo de leite produzido no emprego da contagem de células somáticas para o diagnóstico das afecções da glândula mamária. Arq. Inst. Biol., v.69, n.4, p. 33 – 9, 2002.

ERSKINE, R. J.; BARTLETT, P. C.; HERDT, T.; GASTON, P. Effects of parenteral administration of vitamin E on health of periparturient dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc., v. 211, n. 4, p. 466 – 9, 1997.

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

GREGORY, L.; BIRGEL, E.H.; HOEDEMAKER, M.; GRUNERT, E. History of mastitis clinical classification. Rev. Educ. Contin. , v. 4, n. 3, p. 31 – 38, 2001.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cells counts. J. Dairy Sci., p.52,1994.

HOGAN, J.S.; SMITH, K. L.; WEISS, W. D.; TODHUNTER, D. A.; SHOCKEY, W. L. Relationships among vitamin E, selenium and bovine blood neutrophils. J. Dairy Sci., v. 73, p. 2372 – 8, 1990.

HOGAN, J. S.; WEISS, W. P.; TODHUNTER, D. A.; SMITH, K. L.;

SCHOENBERGER, P. S. Bovine neutrophil responses to parenteral vitamin E. J. Dairy Sci., v. 75, p. 399 – 405, 1992.

HOGAN, J. S.; WEISS, W. P.; SMITH, K. L. Role of vitamin E and selenium in host defense against mastitis. J. Dairy Sci., v. 76, p. 2795 – 2803, 1993.

JUKOLA, E.; HAKKARAINEN, J.; SALONIEMI, H.; SANKARI, S. Blood selenium, vitamin E, vitamin A and β – carotene concentrations and udder health, fertility treatments e fertility. J. Dairy Sci., v. 79, p. 838 – 845, 1995.

JUKOLA, E.; HAKKARAINEN, J.; SALONIEMI, H.; SANKARI, S. Blood selenium, vitamin E, vitamin A e β – carotene concentrations and udder health, fertility treatments and fertility. J. Dairy Sci., v. 79, p. 838 – 845, 1996.

LACETERA, N.; BERNABUCCI, U.; RONCHI, B.; NARDONE, A. Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. Am. J. Vet. Res., v. 57, n. 12, p. 1776 – 1780, 1996.

LOPES, S. T. A.; PAES, P. R. O.; KOHAYAGAWA, A.; LOPES, R. S.; LANGONI, H.; BULLA, C.; LANGRAFE, L. Atividade funcional neutrofílica em cabras com mastite induzida experimentalmente por *Staphylococcus aureus* e suplementadas com vitamina E (acetato de DL – alfa – tocoferol). Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., v. 55, n. 5, p. 515 – 521, 2003.

MCDOWELL, L. R.; WILLIAMS, S. N.; HIDIROGLOU, N.; NJERU, C.A.; HILL, G.M.; OCHOA, L.; WILKINSON, N. S. Vitamin E supplementation for the ruminant. Animal Feed Sci. Technology, v. 60, p. 273 – 296, 1996.

MEHRZAD, J.; DUCHATEAU, L.; BURVENICH, C. Viability of milk

neutrophils and severity of bovine coliform mastitis. *J. Dairy Sci.*, v. 87, n. 12, p. 4150 – 62, 2004.

NDIWENI, N.; FIELD, T.R.; WILLIAMS, M.R.; BOOTH, J.M.; FINCH, J.M. Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and selenium in dairy herds in England. *The Vet. Record*, v. 129, p. 86 – 88, 1991.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. M.; CUNHA, J. A. Efeito da suplementação de selênio e vitamina E sobre a incidência de mastites em vacas da raça holandesa. *Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.*, v. 55, n. 3, p. 2012 – 2019, 2003a..

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. M.; CUNHA, J. A. Suplementação de selênio e vitamina E sobre a contagem de células somáticas do leite de vacas da raça holandesa. *R. Bras. Zootec.*, v. 32, n. 6, p.2032 – 2039, 2003b.

PASCHOAL, J. J.; ZANETTI, M. M.; CUNHA, J. A. Mastite clínica em vacas leiteiras suplementadas com selênio e vitamina E. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 40, n. 10, p. 2020– 2029, 2005.

PEIXOTO, A.P.C.; COSTA, J.N.; KOHAYAGAWA, A.; TAKAHIRA, R.K.; SAITO, M.E. Hemograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos de bovinos da raça Holandesa preta e branca – Influência dos fatores etários. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* v. 3, n.1, p. 16 – 20, 2002.

PEIXOTO, A.P.C. Alterações hematológicas e determinação de imunoglobulinas anti-Anaplasma marginale pela técnica de imunofluorescência indireta e de imunoabsorção enzimática em bovinos suplementados acetato de DL-alfa-tocoferol durante o primeiro ano de vida. 2006. 130 p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências de Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

POLITIS, I.; HIDIROGLOU, M.; BATRA, T. R.; GILMORE, J. A.; GOREWIT, R. C.; SHERF, H. Effects of vitamin E on immune function of dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, v. 56, p. 179 – 84, 1995.

RADOSTITS, M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C. Capítulo 28 – Doenças metabólicas. In: _____ Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 1366 - 1370.

REIS, M. C. Efeito da idade e da suplementação com vitamina E sobre o metabolismo oxidativo dos neutrófilos e sobre o proteinograma de bezerros da raça Jersey do nascimento aos 45 dias., 2005. 87 p. (Mestrado em Medicina Veterinária Tropical) – Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Salvador.

REIS, M. C.; COSTA, J.N.; PEIXOTO, A.P.C.; FERREIRA, A.F.M.S. da C. Efeito da idade e da suplementação oral com acetato de DL-alfa-tocoferol sobre os níveis séricos de vitamina E e sobre o metabolismo oxidativo dos neutrófilos em bezerros. *Rev. Bras. Saúde e Prod. An.*, v. 6, n. 1, p. 8 – 17, 2005.

SCHALM, A. W.; NOORLANDER, D. O. Experiments in observations leading to developments and the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 130, n. 5, p. 199 – 207, 1957.

SILVA, E.R.; ARAÚJO, A.M. de; ALVES, F.S.F.; PINHEIRO, R.R.; SAUKAS, T.N. Associação entre o California Mastitis Test e a contagem de células somáticas na avaliação da saúde mamária caprina. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 46 – 48, 2001.

SMITH, K.L.; HARRISON, J.H.; HANCOCK, D.H.; Effect of vitamin E and selenium supplementation on incidence of clinical mastitis and duration of clinical symptoms. *Journal of Dairy Science*, v. 67, p. 1293 – 1300, 1984.

SMITH, K. L.; HOGAN, L. S.; WEISS, W. P. Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *J. Anim. Sci.*, v. 75, p. 1659 – 1665, 1997.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DeROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, v. 80, n.8, p. 1851 – 1865, 1997.

SOUZA, G. N. Mastite, contagem de células somáticas e os novos parâmetros para a comercialização do leite cru no Brasil.– Minas Gerais: Embrapa Gado de leite. 2005. (Circular Técnica, 70).

THIERS, F. O. Análise do conteúdo de células somáticas de amostras de leite de bovinos leiteiros em diferentes fases da lactação e do tanque de expansão de propriedades produtoras de leite do estado de São Paulo e Minas Gerais. São Paulo, 1999. 129 p. dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

VALLE, C. R. Influência da suplementação com vitamina E nos períodos pré e pós-parto na ocorrência de mastite. Pirassununga, São Paulo – Brasil, 2000. Dissertação (Mestrado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

VALLE, C. R. Estudo da influência da suplementação de vitamina E nas atividades funcionais dos neutrófilos do leite de bovinos. Pirassununga, São Paulo – Brasil, 2005. Dissertação (Doutorado), Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo.

WEISS, W. P.; TODHUNTER, D. A., J. S.; SMITH, K. L. Effect of duration of supplementation of selenium and vitamin E on periparturient dairy cows. *J. dairy Sci.*, v. 73, p. 3187 – 3194, 1990.

WEISS, W. P.; HOGAN, J. S.; TODHUNTER, D. A.; SMITH, K. L. Effects of vitamin E supplementation in diets with a low concentration in diets with a low concentration of selenium on mammary gland of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, v. 80, p. 1483 – 90, 1997.

ZAFALON, L. F.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, J.V.; RESENDE, F.D. Comparação entre o California mastitis test e a contagem de células somáticas como métodos auxiliares para o diagnóstico da mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium spp.* *B. Industr. Anim.*, v. 62, n. 1, p. 63 – 69, 2005.

ZANETTI, M. A.; NEUENHAUS, L. E. D.; SCHALCH, E.; MARTINS, J. H. Efeitos da suplementação com selênio e vitamina E em bovinos leiteiros. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 27, n. 2, p. 405 – 408, 1998.

ZAR, J. H. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall. New Jersey. 718 p. 1996.

ZUST, J.; HROVATIN, B.; SIMUNDIE, B. Assessment of selenium and vitamin E deficiencies in dairy herds and clinical disease in calves. *Vet. Rec.*, v. 139, p. 391 – 394, 1996.