

EFEITOS DA PAPAÍNA INTRAMAMÁRIA EM VACAS COM MASTITE SUBCLÍNICA SOBRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E SÓLIDOS TOTAIS

Luiz Romulo Alberton¹
 Paulo Victor Buck Mello²
 Monique Catarine Fischer Possamai³
 Renata Olivotto Agostinis⁴
 Ranulfo Piau Júnior¹
 Lisiane de Almeida Martins¹
 Zilda Cristiani Gazim⁵

ALBERTON, L. R.; MELLO, P. V. B.; POSSAMAI, M. C. F.; AGOSTINIS, R. O.; PIAU JÚNIOR, R.; MARTINS, L. A.; GAZIM, Z. C. Efeitos da papaína intramamária em vacas com mastite subclínica sobre a contagem de células somáticas e sólidos totais. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 19, n. 1, p. 35-39, jan./mar. 2016.

RESUMO: A mastite é a principal enfermidade que acomete o gado leiteiro. De todas as formas, a mastite subclínica é a que causa maiores perdas, na redução da produção, na diminuição da qualidade do leite e pelos altos custos de tratamento e descarte precoce de vacas. Altas contagens de células somáticas e baixo teor de sólidos totais no leite geralmente estão associados à mastite. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos de um creme de papaína a 2%, associado ou não ao cloridrato de ceftiofur (125mg) por via intramamária sobre a contagem de células somáticas e sólidos totais. O estudo foi realizado em 23 quartos mamários com mastite subclínica, detectadas pelo exame do CMT (*California Mastitis Test*) e da CCS (contagem de células somáticas), divididas em 4 grupos (1 – cloridrato de ceftiofur 125 mg; 2- cloridrato de ceftiofur 125mg + papaína 2%; 3- papaína 2%; 4- controle). As análises foram feitas com base no CMT, na CCS e de sólidos totais (ST) antes e após o tratamento. Os quartos mamários que foram tratados com papaína 2% tiveram alterações no leite, com catarro, grumos e coágulo com intensificação do quadro inflamatório. Não houve diferença significativa ao teste T entre as amostras antes e após o tratamento em nenhum dos grupos para as variáveis estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: Contagem de células somáticas. Leite. Mastite. Papaína. Vaca.

EFFECTS OF INTRAMAMMARY PAPAIN "IN" COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS ON SOMATIC CELL COUNT AND SOLID TOTAL

ABSTRACT: Mastitis is the main disease affecting dairy cattle. From all forms, subclinical mastitis is the one that causes the greater losses, with reduced production, decreased milk quality and by high treatment costs and early disposal of cows. High somatic cell counts and low total solids in milk are usually associated with mastitis. Thus, the aim of this study was to assess the effects of a intramammarily 2% papain cream associated or not with ceftiofur hydrochloride (125mg) on somatic cell count and total solids. The study was performed on 23 breasts with subclinical mastitis, detected through CMT (California Mastitis Test) and SCC (somatic cell count), divided into 4 groups (1 - 125 mg ceftiofur hydrochloride, 2 - ceftiofur hydrochloride 125mg + 2% papain, 3 - 2% papain, 4 - control). The analyzes were based on CMT, SCC and total solids (TS) before and after treatment. The breasts that were treated with 2% papain presented changes in milk, with phlegm, lumps and clot with intensification of the inflammation. There were no significant differences between the T-test samples before and after treatment in either group for the studied variables.

KEYWORDS: Cow. Mastitis. Milk. Papain. Somatic cell count.

EFFECTOS DE PAPAÍNA INTRAMAMARIA EN VACAS CON MASTITIS SUBCLÍNICA EN RECUESTA CELULAR SOMÁTICA Y TOTAL DE SÓLIDOS

RESUMEN: La mastitis es la principal enfermedad que afecta el ganado lechero. La mastitis subclínica es la que causa grandes pérdidas en la reducción de la producción, disminución de la calidad de la leche, los altos costos de tratamiento y desecho precoz de vacas. Los altos recuentos de células somáticas y bajo contenido de sólidos totales en la leche están generalmente asociados con mastitis. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de un 2% de papaína crema, con o sin el clorhidrato de ceftiofur (125 mg) por vía intramamaria en el recuento de células somáticas y sólidos totales. El estudio se realizó en 23 cuartos mamarios con mastitis subclínica, detectadas mediante el examen de la CMT (Prueba de Mastitis de California) y CCS (recuento de células somáticas), dividido en 4 grupos (1 - ceftiofur clorhidrato 125 mg; 2- clorhidrato de ceftiofur 125 mg + papaína 2%; 3- papaína 2%; 4 - control). Los análisis se basaron en CMT, en CCS y sólidos totales (ST),

DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v19i1.2016.5788>

¹Docente do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal – Unipar. romulo@unipar.br.

²Docente do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal - Unipar;

³Mestranda do Programa de Pós-graduação em Ciência Animal - Unipar;

⁴Mestre em Ciência Animal pela Unipar.

⁵Docente do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia Aplicada à Agricultura da Unipar.

antes y después del tratamiento. Las glándulas mamarias que fueron tratadas con papaína 2% tuvieron cambios en la leche, con flema, grañones y coágulos con intensificación de inflamación. No hubo diferencia significativa por la prueba T, entre las muestras antes y después del tratamiento, en ninguno de los grupos para las variables estudiadas.

PALABRAS CLAVE: Leche. Mastitis. Papaína. Recuento de células somáticas. Vaca.

Introdução

A mastite bovina é a inflamação da glândula mamária responsável por causar alterações na composição e produção de leite, o que culmina em grandes perdas para produtores rurais e laticínios. A enfermidade é geralmente causada por agentes bacterianos, como *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Corynebacterium* spp. e *Micrococcus* spp. (MARTINS et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011; SAAB et al., 2014).

A alta prevalência de mastite bovina proporciona prejuízos que vão desde a redução na produção e comprometimento da qualidade do leite, até possível perda de função da glândula mamária (RIBEIRO et al., 2003) e menor rendimento dos produtos lácteos.

A ocorrência de mastite é determinada por inúmeros fatores relacionados ao manejo adotado na propriedade rural, principalmente aos fatores ambientais, já que os micro-organismos responsáveis pela enfermidade geralmente são originados da cama, solo, fezes, urina, equipamento de ordenha e água. A doença possui caráter multifatorial e, portanto, o conhecimento de seus fatores determinantes em regiões leiteiras é necessário para sua prevenção e controle em rebanhos bovinos (CUNHA et al., 2015).

Condições de higiene do ambiente dos animais e local de ordenha, qualidade da água, presença de moscas e nutrição inadequada podem comprometer os índices de mastite no rebanho (PICOLI et al., 2014).

As células somáticas encontradas no leite são basicamente células de defesa (leucócitos) que fagocitam os micro-organismos causadores da infecção ou células epiteliais (RIBAS, 1994).

A contagem de células somáticas (CCS) é um importante indicador de infecção do quarto mamário, a qual aumenta de forma significativa na presença de bactérias. Com a implantação de métodos eletrônicos de contagem de células somáticas, este parâmetro pôde ser considerado "padrão ouro" na mensuração da qualidade do leite (ZUNIGA et al., 2013)

Embora a mastite possa ser causada por vários patógenos, a maioria é acarretada por bactérias, principalmente *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulase negativa* *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Corynebacterium bovis* e *Escherichia coli* que são responsáveis por cerca de 80% dos casos (RANJAN; SWARUP; PATRA, 2006; OLIVEIRA et al., 2011; MELLO et al., 2012; SAAB et al., 2014).

Os *S.aureus*, *S.agalactiae*, *Streptococcus* spp. e coliformes, causam maior aumento na CCS e variações na composição do leite, já os *Staphylococcus coagulase negativa* e *Corynebacterium pyogenes*, duplicam ou triplicam a CCS em relação a mamas não infectadas (OLIVEIRA et al., 2011; MELLO et al., 2012).

Em trabalho realizado por Thiers et al. (1999), foram comparados resultados do exame microbiológico com CCS e California Mastitis Test (CMT), havendo uma cor-

relação significativa entre os três testes. Nos experimentos de Souza et al. (2009) a infecção intramamária foi o fator responsável pelo aumento da CCS do leite de vacas leiteiras, e dentre os patógenos isolados, o que acarretou o maior aumento foi o *S. agalactiae*.

A papaína é uma enzima proteolítica muito empregada na indústria farmacêutica, cosmética e alimentícia, é originária do látex das folhas e dos frutos do mamão verde adulto (*Carica papaya* Linn.) (VELASCO, 1993; SANCHES NETO, 1993; AZARKAN et al., 2003). Ela ajuda na remoção de células mortas e exsudatos inflamatórios por meio da digestão desses componentes, e os transforma em peptídeos quimiotáticos para fibroblastos que estimulam a cicatrização precoce, sem que o tecido íntegro ao redor da lesão seja afetado (VELASCO, 1993).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da papaína 2% em associação com o cloridrato de ceftiofur por infusão intramamária em vacas com mastite subclínica sobre a contagem de células somáticas e teores de sólidos totais.

Material e Métodos

Foram avaliados 23 animais, contabilizando 92 quartos mamários em diferentes estágios de lactação e produção de leite, os quais foram objetos deste estudo. Os animais foram provenientes dos atendimentos de rotina da Clínica de Grandes Animais do Hospital Veterinário da UNIPAR com diagnóstico de mastite subclínica confirmada mediante exame do CMT (*California Mastitis Test*) e contagem de células somáticas (CCS). Os grupos avaliados compreenderam um conjunto de quartos mamários, sendo distribuídos da seguinte maneira: Grupo 1: seis quartos mamários em que os animais foram tratados com 4 g de creme de base não iônica de papaína 2%; Grupo 2: seis quartos mamários tratados com 4 g de creme de papaína 2% associado ao cloridrato de ceftiofur 125 mg; Grupo 3: seis quartos mamários tratados somente com cloridrato de ceftiofur 125 mg e o Grupo 4: grupo controle composto de cinco quartos mamários. As aplicações de creme de base não iônica de papaína 2% e o cloridrato de ceftiofur 125 mg, foram aplicados duas vezes aos dias, por um período de sete dias, por meio de aplicações intramamárias e a avaliação do CMT e CCS do leite foi realizado antes e após a aplicação destes produtos.

A papaína foi solubilizada previamente em água e incorporada em uma base cremosa não iônica (BATISTUZZO; ITAYA; YAKUKO, 2002), a uma concentração de 2% (FERREIRA et al., 2008). A composição química e o preparo da base cremosa está descrito no Formulário Nacional (2005). O creme contendo a papaína foi acondicionado em bisnagas ou seringas para aplicação intramamária contendo 4 g do produto.

Durante o tratamento, os animais foram submetidos ao exame físico e do CMT (*California Mastitis Test*), visando à classificação da inflamação da mama em: inflamação nega-

tiva (0) leve (1), moderada (2) e grave (3).

A Contagem de Células Somáticas (CCS – Células/mL) foi realizada utilizando o equipamento modelo Somacount® por citometria de fluxo, e teores de sólidos totais (ST - %) no equipamento automatizado Bentley 2000® pelo método infravermelho na Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa – Curitiba –PR.

Para a análise estatística, primeiramente os dados foram analisados quanto ao tipo de distribuição. Dados com distribuição normal foram comparados por meio do teste T de *Student* para comparar os resultados antes e após o tratamento, e Análise de Variância, para comparações entre os tratamentos. Dados com distribuição livre foram analisados pelo teste *Kruskall-Wallis* para comparações entre os tratamentos. Em todos os testes foi considerado um nível de significância de 5% e foi utilizado o programa BioEstat 5.0 ®

(AYRES et al., 2007).

Resultados e Discussão

Os animais que receberam a aplicação intramamária somente de papaína 2% ou associada ao cloridrato de ceftiofur apresentaram alteração na secreção láctea com presença de catarro, coágulos e aumento da viscosidade do leite. Essa secreção inviabilizou o produto para consumo humano por duas ordenhas após o final do tratamento intrabdominais pós-operatórias em humanos (HELFEKREKERS et al. 2000 citado por CAPUCHO, 2007).

No entanto, quando os animais receberam somente o ceftiofur, não houve alterações no leite.

Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Médias e erro padrão da contagem de células somáticas (CCS) e sólidos totais (ST) do leite de vacas com mastite subclínica antes e após o tratamento com Ceftiofur; papaína 2% + Ceftiofur) e papaína 2% em vacas com mastite subclínica, Umuarama, 2013.

Tratamentos	Qualidade do Leite		
	Antes	Após	P<
Contagem de Células Somáticas (CCS – células/mL)			
Controle	791,2 ± 215,60	1482,4 ± 763,20	0,41
Ceftiofur	2225,83± 968,40	1869,17±719,80	0,73
Papaína 2% + Ceftiofur	910,5 ±491,90	1599,83± 499,00	0,13
Papaína 2%	2382,5±1370,80	2365,3±785,50	0,99
Sólidos Totais (ST – %)			
Controle	11,32±0,40	11,32±0,40	0,08
Ceftiofur	10,07±0,80	10,93±0,80	0,24
Papaína 2% + Ceftiofur	11,10±0,40	11,52±0,50	0,27
Papaína 2%	11,25±0,40	10,52±0,80	0,42

Tabela 2: Médias e erro padrão da contagem de células somáticas (CCS), sólidos totais (ST) e CMT (*California Mastitis Test*) de vacas com mastite subclínica após o tratamento com papaína, cloridrato de ceftiofur e associação. Umuarama, 2013.

Tratamentos	CCS* (células/mL)	ST** (%)	CMT** (células/mL)
Controle	1482,4 ± 763,2	11,86±0,6	1,40±0,68
Cloridrato de Ceftiofur	1869,17±719,8	10,93±0,8	1,83±0,48
Papaína 2% + cloridrato	1599,83± 499	11,52±0,5	2,00±0,52
Papaína 2%	2365,3±785,5	10,52±0,8	2,00±0,52
Valor de P	0,816	0,662	0,877

*Não significativo pela Análise de Variância (P>0,05); ** Não significativo pelo Kruskall wallis (P>0,05).

Tabela 3: Número de mamas (tetos) com redução na CMT, CCS e ST após os tratamentos com papaína, cloridrato de ceftiofur e associação em animais com mastite subclínica. Umuarama, 2013.

	CMT	CCS	ST
Controle	3/5	3/5	1/5
Ceftiofur	2/6	2/6	2/6
Papaína 2% + cloridrato	2/6	1/6	1/6
Papaína 2%	0/6	2/6	4/6

Comparando-se as contagens de células somáticas no grupo que recebeu o cloridrato de ceftiofur foi verificada uma diminuição, embora não significativa, de 16,02% na CCS, passando de 2225,83 células/mL (Tabela 1) para 1869,17 células/mL (Tabela 2) após o tratamento. Em dois quartos mamários (33,33%) que foram submetidos ao tratamento, houve diminuição da CCS (Quadro 3). Os teores de sólidos totais neste grupo, após o tratamento houve aumento de 10,7 para 10,93 % (Tabela 1).

No grupo tratado com associação de papaína 2% + ceftiofur 125 mg, houve aumento na CCS após o tratamento (83,33%), e na reação ao CMT, indicando a agudização do processo inflamatório, porém, neste grupo também não foram encontradas diferenças estatísticas significativas para a CCS, que aumentou de 910,5 (Tabela 1) para 1599,83 (Tabela 2) e nos teores de ST de 11,10 para 11,52% em média, após o tratamento (Tabela 1). Segundo Neubauer (1961) a associação de proteases com antibióticos é benéfica, porque aumenta a concentração do antibiótico em seu sítio de ação. Bock et al. (1998) afirma que talvez a agudização do processo inflamatório seja um efeito sinérgico da associação, pois no tratamento de infecções viscerais em humanos, a papaína atua como promotor de absorção de antibióticos, o que pode induzir a uma resposta inflamatória mais evidente. Este incremento no processo inflamatório deste grupo também pode ser explicado pela indução, pelas proteases, da atividade macrofágica e das células *Natural Killer* (NK) (DESSER et al., 1993).

Quando as mamas foram tratadas somente com a papaína 2% a média da CCS do grupo manteve-se estável, 2382,5 antes e 2365,3 (Tabela 1) pós-tratamento, no entanto 66,66% (4/6) mamas apresentaram aumento na CCS (Tabela 3). Também verificou-se aumento na gravidade do processo inflamatório em cinco quartos mamários tratadas (83,3%). Os teores de sólidos totais médios passaram de 11,25 para 10,52% após o tratamento (Tabela 1). No entanto, as diferenças não foram significativas pelo teste T.

Com relação ao grupo controle, houve aumento na CCS média de 791,2 para 1482,4, e os teores médios de ST flutuaram entre 11,32 a 11,86% (Quadro 1).

Segundo Machado, Pereira e Sarriés (2000), houve tendência de redução da porcentagem de ST, associada a aumento da CCS. Ao avaliar a composição química do leite mediante a presença de diferentes escores de *California Mastitis Test* (CMT), Gomes et al. (2006) demonstraram diminuição no escore de ST com média de 10,32 a 11,35%. De acordo com Pales et al. (2005), úberes com mastite diminuem a concentração de nutrientes do leite como proteína, lactose e gordura, além dos principais componentes minerais e das enzimas também sofrerem variações. Neste estudo esta correlação não pôde ser estabelecida, pois não houve significância estatística entre os tratamentos.

Conclusão

A aplicação intramamária de papaína a 2%, associada ou não ao ceftiofur não foi capaz de diminuir a contagem de células somáticas no leite de vacas em lactação com mastite subclínica, além disso, a secreção láctea apresentou coágulos a aumento de viscosidade após seu uso. Quanto aos sólidos totais, não houve diferença significativa entre os

valores antes e após o uso da papaína, associada ou não ao ceftiofur.

Referências

AYRES, M. et al. **BioEstat**. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Belém: Universidade Federal do Pará, 2007. p. 364.

AZARKAN, M. et al. Fractionation and purification of the enzymes stored and the latex of *Carica papaya*. **Journal of Chromatography B**, v. 790, p. 229-238, 2003.

BATISTUZZO, J. A. O.; ITAYA, M.; YAKUKO, E. **Formulário médico farmacêutico**. 2. ed. São Paulo: Tecnopress, 2002.

BOCK, U. et al. Transport of proteolytic enzymes across Caco-2 cell e monolayers. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 9, p. 1393-1400, 1998.

CAPUCHO, H. C. **Desenvolvimento de formulações tópicas contendo papaína para o tratamento e feridas**. 2007. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

CUNHA, A. F. et al. Prevalência, etiologia e fatores de risco de mastite subclínica em rebanhos leiteiros de Viçosa-MG. **Acta Veterinaria Brasílica**, v. 9, n. 2, p. 160-166, 2015.

DESSER, L. et al. Cytokine synthesis in human peripheral blood mononuclear cells after oral administration of polyenzyme preparations. **Oncology**, v. 50, p. 403-407, 1993.

FERREIRA, A. M. et al. Atividade antibacteriana in vitro de géis com diferentes concentrações de papaína. **Revista eletrônica de enfermagem**, v. 10, n. 4, p. 1035-1040, 2008.

FORMULÁRIO nacional. **Farmacopéia brasileira**. São Paulo: Anvisa, 2005.

FRIEDRICH, M. et al. Avaliação da estabilidade físico-química de creme não iônico inscrito no formulário nacional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 558-562, 2007.

GOMES, V. et al. Composição físico-química do leite de vacas holandesas de acordo com a reatividade ao *California Mastitis Test*. **Ensaio e Ciência**, v. 4, n. 4, p. 5-11, 2006.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRIÉS, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MARTINS, R. P. et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal Brasileira**, v. 11, n. 1, p. 181-187, 2010.

MELLO-PEIXOTO, E. C. T. et al. Própolis no controle da

mastite bovina. **Archives of Veterinary Science**, n. 17, p. 43-52, 2012.

NEUBAUER, R. A plant protease for potentiation of and possible replacement of antibiotics. **Experimental Medicine and Surgery**, v. 19, p. 143-160, 1961.

OLIVEIRA, C. M. C. et al. Prevalência e etiologia da mastite bovina na bacia leiteira de Rondon do Pará, estado do Pará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 2, p. 104-110, 2011.

PALES, A. P. et al. A importância da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil. **Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos**, v. 1, n. 2, p. 162-173, 2005.

PICOLI, T. et al. Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de micro-organismos em leite cru. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 4, p. 2471-2480, 2014.

RANJAN, R.; SWARUP, D.; PATRA, R. C. Bovine protothecal mastitis: a review. **Perspectives in Agriculture, Veterinary Sciences, Nutrition and Natural Resources**, v. 1, n. 17, p. 1-7, 2006.

RIBAS, N. P. Análise do leite. **Revista de Gado Holandês**, v. 2, n. 18, p. 26-31, 1994.

RIBEIRO, M. E. R. et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 287-290, 2003.

SAAB, A. B. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Nova Tebas, Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, n. 2, p. 835-844, 2014.

SANCHES NETO, R. Aspectos morfológicos e morfométricos da reparação tecidual de feridas cutâneas de ratos com e sem tratamento com solução de papaína a 2%. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 8, n. 1, p. 18-23, 1993.

SOUZA, G. N. et al. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 5, p. 1015-1020, 2009.

THIERS, F. O. et al. Conteúdo Celular do leite de bovinos em diferentes fases de lactação. In: ENCONTRO DE PESQUISADORES EM MASTITES, 3., 1999, Botucatu.. **Anais...** Botucatu: FMVZ/UNESP, 1999. p. 145.

VELASCO, M. V. R. Desenvolvimento e padronização de gel contendo papaína para uso tópico. 1993. 144 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1993.

ZUNIGA, E. et al. Análise da contagem de células

somáticas de *Staphylococcus* spp. associados aos fatores de virulência isolados de mastite subclínica bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE DO CONSELHO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 5. **Anais...** Conselho Brasileiro de Qualidade do Leite-CBQL, 2013.

Recebido em: 05.05.2015

Aceito em: 19.03.2016