

## **Agradecimentos**

O presente trabalho não seria possível sem a inestimável colaboração de todos os que, de alguma forma contribuíram para a sua realização, aos quais expresso a minha gratidão, bem como às Instituições e Explorações que permitiram a sua realização, e muito particularmente:

Ao Senhor Professor Doutor António Manuel Moitinho Nogueira Rodrigues, Professor Coordenador da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, orientador científico deste trabalho, pelos ensinamentos, sugestões, esclarecimentos, realização da análise estatística e leitura crítica do trabalho.

À Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, na pessoa do Director, Senhor Professor Doutor António Manuel Moitinho Nogueira Rodrigues, pelas facilidades concedidas, determinantes para a concretização deste trabalho.

À Senhora Engenheira Sandra Duarte Dias, Responsável pelo Sector de Bovinicultura da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, pela sua ajuda e participação indispensável e fundamental na realização do trabalho realizado nas explorações.

Ao Senhor António Paulo Abrantes Carlos, produtor de bovinos de leite na Quinta Vale de Ademendinha, em Orjais, pelas facilidades concedidas na utilização do seu efectivo para a realização dos testes de campo e recolha de amostras de leite, e à Senhora Engenheira Daniela Marques pela boa disposição com que sempre nos acolheu, acompanhou e disponibilizou informações necessárias da exploração.

À Sociedade M. Rito, Lda., por nos permitir realizar provas de campo e colheitas de amostras de leite às vacas da sua exploração leiteira, sita no Ladoeiro, e à pessoa do Senhor Engenheiro Hugo Coelho.

À Técnica do Laboratório de Águas Residuais e Técnicos do Laboratórios de Nutrição Animal da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, pela simpatia e disponibilidade que sempre demonstraram para a realização das análises do leite.

Ao Laboratório de Qualidade Alimentar da Direcção Regional de Agricultura e Pescas do Centro, em particular à Senhora Engenheira Cidalina Marques, pela disponibilidade de execução da CCS do leite.

À Doutora Maria Isabel Réfega de Figueiredo e Silva, Professora Adjunta da Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, pela ajuda na tradução do abstract.

Ao Senhor Professor Doutor Joaquim Fernando Moreira da Silva, Coordenador do Mestrado em Engenharia Zootécnica da Universidade dos Açores, pela estima e incentivo.

À minha família, em especial ao Gonçalo e Joaquim António os meus mais queridos, pelo apoio e paciência demonstradas.

A Deus por me ajudar a superar mais este desafio.

## Resumo

Com o objectivo de avaliar a sanidade do úbere, foram recolhidas 176 amostras de leite de quartos de vacas Holstein Frísia criadas em 3 explorações localizadas na Beira Interior (concelhos de Castelo Branco, Covilhã e Idanha-a-Nova). Uma amostra de leite de cada quarto foi imediatamente analisada na sala de ordenha através dos testes de campo Teste Californiano de Mamites (TCM) e condutivímetro portátil para determinação da condutividade eléctrica do leite, com o intuito de avaliar a eficácia destes métodos na determinação de mamites subclínicas.

Em laboratório foram determinados os parâmetros contagem de células somáticas (CCS), condutividade eléctrica (CE), pH, teores de lactose (TL), gordura (TG), proteína (TP) e sólidos totais (ST) para que fosse possível identificar as alterações que a mamite provoca no leite de quartos infectados.

Determinaram-se diferenças estatisticamente significativas ( $p < 0,05$ ) para os parâmetros CE ( $5,61 \text{ mS/cm} \pm 0,800$ ), pH ( $6,75 \pm 0,128$ ), CCS ( $1.098.676 \text{ cel/ml}$ ) e TL ( $4,54\% \pm 0,579$ ) do leite identificado como mamítico pelo condutivímetro portátil (luz E - encarnada) em relação ao leite não mamítico. Não se encontraram diferenças relativamente à PB, GB e ST, embora para estes dois últimos parâmetros tenha havido uma redução acentuada nos valores determinados no leite mamítico.

Determinaram-se correlações positivas entre a condutividade obtida com o condutivímetro portátil e o TCM ( $r=0,612$ ;  $p < 0,001$ ), a CCS ( $r=0,377$ ;  $p < 0,001$ ) e entre o TCM e a CCS ( $r=0,654$ ;  $p < 0,001$ ). Para valores baixos de TL encontraram-se valores elevados de CE portátil ( $r=-0,349$ ;  $p < 0,001$ ) e de CE laboratório ( $r=-0,598$ ;  $p < 0,001$ ).

Concluiu-se que o TCM e o condutivímetro portátil são métodos de campo válidos para avaliar a sanidade do úbere e estimar o efeito da mamite na composição do leite de vaca.

**Palavras-chave:** leite; condutividade eléctrica; condutivímetro portátil; mamites; Teste Californiano de Mamites; células somáticas.

## Abstract

The aim of the present work was to assess dairy cows' udder health. Milk samples were collected from 176 quarters of Holstein Friesian cows raised on three farms located in the Beira Interior region (municipalities of Castelo Branco, Covilhã and Idanha-a-Nova), Portugal. A milk sample of each quarter was analysed immediately after collection in the milking parlour both using the California Mastitis Test (CMT) and a hand-held electrical conductivity test carried out with a hand-held electrical conductivity meter. The aim of these tests was to evaluate the effectiveness of two methods to determine subclinical mastitis. Somatic cell count (SCC), electrical conductivity (EC), pH, lactose content, fat content, protein content and total solids content were determined in a laboratory in order to identify changes caused by mastitis in milk from infected quarters. There were significant differences ( $p < 0.05$ ) for the following parameters EC ( $5.61 \text{ mS / cm} \pm 0.800$ ), pH ( $6.75 \pm 0.128$ ), SCC ( $1,098,676 \text{ cells / ml}$ ) and lactose content ( $4.54\% \pm 0.579$ ) of milk with mastitis identified by the hand-held electrical conductivity meter compared to non-mastitis milk. There were no significant differences for protein content, fat content and total solids content. However, the last two parameters showed a marked reduction in the values determined in milk with mastitis. Positive correlations between CMT and hand-held electrical conductivity test ( $r = 0.612$ ,  $p < 0.001$ ), SCC ( $r = 0.377$ ,  $p < 0.001$ ) and also between CMT and SCC ( $r = 0.654$ ,  $p < 0.001$ ) were observed. EC high values were obtained with the hand-held electrical conductivity meter ( $r = -0.349$ ,  $p < 0.001$ ) and also in a laboratory ( $r = -0.598$ ,  $p < 0.001$ ) for low lactose content. It can be concluded that both CMT and the hand-held electrical conductivity test are valid field methods to determine milk electrical conductivity, to assess udder health and to estimate the effect of mastitis on the composition of cows' milk.

**Keywords:** milk; electrical conductivity; hand-held electrical conductivity test; mastitis; California Mastitis Test; somatic cell count.

## Lista de abreviaturas

CCS	contagem de células somáticas
CCS_CL	contagem de células somáticas do último contraste leiteiro
CE	condutividade eléctrica
cel/ml	células por mililitro
Cl <sup>-</sup>	ião cloro
K <sup>+</sup>	ião potássio
ml	mililitro
mS	miliSiemens
N	número de amostras
Na <sup>+</sup>	ião sódio
p	probabilidade
r	coeficiente de correlação
SNF	sólidos totais isentos de gordura
ST	sólidos totais
TCM	teste californiano de mamites
TG	teor de gordura
TL	teor de lactose
TP	teor de proteína
>	maior
<	menor

## Índice de figuras

	pg
<b>Figura 1.</b> Esquema do detector portátil de mamites - condutímetro .....	26
<b>Figura 2.</b> Representação gráfica da relação linear entre a condutividade eléctrica (mS/cm) e o teor de lactose (%) do leite [Lactose(%)=-0,406xCE laboratório+6,915 (r=-0,598; p<0,001)] .....	39

## Índice de quadros

	pg
<b>Quadro 1.</b> Efeito da mamite subclínica sobre os componentes do leite .....	19
<b>Quadro 2.</b> Mudanças na composição do leite associadas a elevada contagem de células somáticas .....	20
<b>Quadro 3.</b> Resultados das determinações da condutividade eléctrica (CE), pH e contagens de células somáticas (CCS) do leite obtidos por quartos, em função da classificação por classes com indicação de cores da CE medida com o aparelho portátil na sala de ordenha (V - verde; VE – verde e encarnado e E – encarnado). Valores expressos em termos médios e $\pm$ desvio padrão .....	29
<b>Quadro 4.</b> Resultados observados pela aplicação do Teste Californiano de Mamites (TCM) e valores médios da CCS do leite por quarto .....	32
<b>Quadro 5.</b> Percentagem de casos positivos e negativos detectados pelo Teste Californiano de Mamites (TCM) por quarto .....	32
<b>Quadro 6.</b> Médias e percentagem de células somáticas do leite por quarto e seus correspondentes intervalos de CCS (cel/ml) .....	33
<b>Quadro 7.</b> Resultados dos teores de lactose, gordura, proteína e sólidos totais do leite distribuídos segundo a classificação da CE medida com o aparelho portátil na sala de ordenha (V - verde; VE – verde e encarnado; E – encarnado). Valores expressos em termos médios e $\pm$ desvio padrão .....	34
<b>Quadro 8.</b> Leite do quarto - coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros: condutividade eléctrica (CE), Teste Californiano de Mamites (TCM), contagens de células somáticas (CCS), sólidos totais (ST), lactose e pH .....	37
<b>Quadro 9.</b> Leite do úbere - coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros: Teste Californiano de Mamites (TCM), electrocondutividade (CE), pH, lactose, gordura, proteína, sólidos totais (ST), contagens de células somáticas (CCS) e contagens de células somáticas do último contraste (CCS_CL) .....	39

## Índice geral

	pg
<b>Agradecimentos</b> .....	i
<b>Resumo</b> .....	iii
<b>Abstract</b> .....	iv
<b>Lista de abreviaturas</b> .....	v
<b>Índice de figuras</b> .....	vi
<b>Índice de quadros</b> .....	vii
<b>Índice geral</b> .....	viii
<b>1. Introdução</b> .....	1
<b>2. Revisão bibliográfica</b> .....	5
2.1 Mamite bovina: considerações gerais .....	5
2.2 Detecção e diagnóstico de mamites .....	7
2.2.1 Testes para a detecção de células somáticas .....	9
2.2.1.1 Contagem de células somáticas .....	9
2.2.1.2 Teste californiano de mamites .....	11
2.2.2 A condutividade eléctrica do leite na detecção de mamites .....	13
2.2.2.1 Medição da condutividade eléctrica na sala de ordenha .....	14
2.2.2.1.1 Sistemas automáticos .....	14
2.2.2.1.2 Equipamento portátil .....	15
2.2.2.2 Medição da condutividade eléctrica no laboratório .....	16
2.2.3 Testes bacteriológicos .....	18
2.3 Alterações da composição e características físico-químicas do leite .....	18
<b>3. Material e métodos</b> .....	24
3.1 Objectivo do trabalho .....	24
3.2 Explorações .....	24
3.3 Amostragem/Animais .....	24
3.4 Testes realizados na sala de ordenha - testes de campo .....	25

<b>3.4.1</b> Condutividade eléctrica com detector portátil .....	25
<b>3.4.2</b> Teste Californiano de Mamites .....	26
<b>3.5</b> Colheita de amostras .....	26
<b>3.6</b> Testes realizados em laboratório - provas complementares (Exames físico-químico, bioquímico e celular do leite) .....	27
<b>3.7</b> Análise estatística .....	27
<b>4. Resultados e discussão</b> .....	<b>28</b>
<b>4.1</b> Avaliação das características físico-químicas e celulares do leite por quarto .....	28
<b>4.2</b> Avaliação da repercussão da condutividade eléctrica nos constituintes do leite por quarto .....	34
<b>4.3</b> Avaliação da correlação entre os constituintes do leite por quarto .....	36
<b>4.4</b> Avaliação da correlação entre os constituintes do leite por úbere .....	39
<b>5. Considerações finais</b> .....	<b>44</b>
<b>Referências bibliográficas</b> .....	<b>45</b>
<b>Anexo I</b> - Análises de variância e testes de comparações múltiplas para os parâmetros físico-químicos e celulares do leite por quarto.....	I
<b>Anexo II</b> - Análises de variância e testes de comparações múltiplas para os parâmetros bioquímicos do leite por quarto .....	IV
<b>Anexo III</b> - Equação de regressão da Figura 2 .....	VII
<b>Anexo IV</b> - Tabela de correlações de Pearson encontradas entre diferentes parâmetros analisados por quarto .....	IX
<b>Anexo V</b> - Tabela de correlações encontradas entre diferentes parâmetros analisados por úbere .....	XI
<b>Anexo VI</b> - Ofício-Circular n.º 51 / DIS de 04/07/2007 da Direcção de Serviços de Higiene Pública e Veterinária, Direcção Geral de Veterinária, sobre “Controlo do leite crú ao nível da recolha” .....	XIII

## 1. Introdução

A inflamação da glândula mamária representa um sério problema para a indústria leiteira, influenciando de forma decisiva o lucro das explorações (Oliveira, 2003). A mamite é, de entre os processos patológicos que afectam o gado bovino, um dos que representa maiores custos económicos senão o maior de todos (Mazzucchelli Jiménez, 1996). Produz um decréscimo da produção leiteira, entre 5 e 40%, dependendo do grau de infecção, modifica a composição do leite (Such Martí e Peris Miras, 1996) e reduz a valorização do leite para efeitos de pagamento (Ribeiro, 1996). Além dos custos elevados de terapêutica (custos dos medicamentos, despesas com o veterinário e trabalho extra), aumenta as perdas devido ao leite rejeitado durante a infecção e tratamento e provoca refugo precoce dos animais, ocasionando perdas genéticas importantes e perdas por necessidade de reposição de novilhas (Ribeiro; Ribeiro e Madeira, 1996).

Anualmente, três em cada dez vacas leiteiras apresentam inflamação mamária clinicamente aparente, sendo 7% destes animais refugados por lesões irreversíveis e 1% por morte (Ribeiro Júnior *et al.*, 2008 citando Smith, 2006).

Pereira (1999) observou que das patologias mais frequentes nas 49 explorações estudadas no concelho de Arouca, as mamites ocuparam o primeiro lugar com uma frequência de 25,7%, sendo que em 18% das explorações foi a causa principal de refugo precoce.

Nas mamites, a infecção subclínica é a que maior prejuízo causa ao produtor (Nascif Júnior *et al.*, 2006), sendo responsável por perdas superiores a 70% (Kirk e Bartlett, 1988 citados por Seguya e Mansell, 2000). Isso deve-se ao facto da sua identificação só ser possível com o auxílio de métodos de diagnóstico fiáveis e pela alta prevalência observada nos efectivos, chegando a ser 15 a 40 vezes mais prevalente do que a mamite clínica (Nascif Júnior *et al.*, 2006).

As avultadas perdas económicas devido às mamites subclínicas na Região do Entre Douro e Minho e Trás-os-Montes, foram avaliadas em 298 litros/lactação de leite não produzido, sendo as perdas causadas por mamites, em média, 300 litros/lactação.

Podem ascender a 400 litros/lactação quando a incidência teve lugar nos primeiros 60 dias após o parto (Cerqueira e Ribeiro, 1997).

Não sendo detectada pelo exame físico da glândula mamária ou do leite (Nascif Júnior *et al.*, 2006 citando Grunet, 1990) a mamite subclínica pode atingir de modo inaparente cerca de 40% de um efectivo não controlado (Angélico, 1998). O quarto infectado apresenta uma diminuição na produção láctea, uma composição alterada do leite e uma eliminação de microrganismos patogénicos (Nascif Júnior *et al.*, 2006 citando Bramley, 1992). O diagnóstico, neste caso, exige o uso de métodos auxiliares (Nascif Júnior *et al.*, 2006 citando Nader Filho, 1983).

Considerando que as principais alterações na glândula mamária incluem a passagem de iões, proteínas e enzimas do sangue para o leite devido ao aumento da permeabilidade, invasão de fagócitos e redução da capacidade de síntese láctea da glândula, torna-se evidente que alguns componentes são mais marcantes do que outros, podendo ser utilizados como uma ferramenta para a detecção do processo inflamatório (Pyörällä, 2003 citado por Della Libera *et al.*, 2009).

A análise das variações da composição do leite baseada na medição dos iões mediante a condutividade eléctrica e outros parâmetros como a lactose e as proteínas do soro do leite pode ser quantificada através de testes (Mota, 2008).

Segundo Nascif Júnior *et al.* (2006) são vários os exames que se podem aplicar ao leite para a detecção de mamites. Eles podem detectar os microrganismos infectantes (directa ou indirectamente) ou as alterações na secreção láctea em consequência da inflamação (Schalm *et al.*, 1971; Jensen e Knudsen; 1991; Bramley, 1992 citados por Nascif Júnior *et al.*, 2006).

Actualmente, existem vários métodos auxiliares de diagnóstico utilizados para a detecção das formas subclínicas da mamite bovina. Desde que foi desenvolvido, em 1957 por Schalm e Noorlander, California Mastitis Test (TCM) tem sido utilizado, com bons resultados, na triagem de animais com contagens altas de células somáticas. Nos últimos anos, vários investigadores têm utilizado a condutividade eléctrica do leite (CE)

para esse fim (Emanuelson *et al.*, 1987; Bramley, 1992; Milner *et al.*, 1996 citados por Nascif Júnior *et al.*, 2006). Sendo o aumento da CE do leite directamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e da contagem de células somáticas (CCS), o aumento dos iões sódio e cloro e a diminuição do cálcio e outros constituintes do leite são características do leite mamítico (Teixeira *et al.*, 2008).

De entre as provas utilizadas para avaliação da qualidade do leite, principalmente em bovinos, o conteúdo leucocitário representado pela CCS, é um bom indicador do estado de saúde glândula mamária (Meirelles *et al.*, 1997 citados por Oliveira, 2003). Teixeira *et al.*, (2008) referem que a CCS é o parâmetro de avaliação leiteira que mais directamente está relacionado com a incidência de mamites numa exploração visto que as células somáticas reflectem a resposta imunitária do animal à infecção. Deste modo, a contagem de células somáticas constitui a base das técnicas de diagnóstico indirecto das mamites em todas as espécies de ruminantes leiteiros (Mota, 2008), na avaliação do nível de mamite subclínica no rebanho, na estimativa das perdas quantitativas e qualitativas de produção do leite e derivados (Müller, 2002).

O diagnóstico precoce desempenha um papel fundamental na avaliação do estado sanitário do úbere (Ribeiro Júnior *et al.*, 2008), permite estabelecer medidas sanitárias adequadas e reduzir a transmissão da doença (Nascif Júnior *et al.*, 2006).

Os testes diagnósticos de mamites podem ser realizados na exploração (testes de campo) ou em laboratório: os de campo são mais simples e podem ser realizados diariamente no momento da ordenha (Ribeiro Júnior, *et al.*, 2008; Teixeira *et al.*, 2008). No entanto, os métodos de diagnóstico mais precisos nem sempre podem ser executados, considerando as dificuldades inerentes à rotina de campo e ao seu alto custo (Ribeiro Júnior, *et al.*, 2008). Teixeira *et al.*, (2008) referem que as provas laboratoriais aumentam a certeza que estamos perante um problema de mamites e que complementam a habitual e tradicional inspecção e palpação dos úberes.

Nesta perspectiva, idealizou-se o presente trabalho com o objectivo detectar o estado individual do úbere de vacas em lactação, procedendo à identificação imediata de

quartos mamários doentes, através de testes realizados na sala de ordenha: a condutividade eléctrica (CE), utilizando um medidor manual portátil, e o Teste Californiano de Mamites (TCM).

A qualidade do leite recolhido, por cada quarto do úbere das vacas testadas, foi determinada em laboratório onde se procedeu à avaliação do conteúdo leucocitário das amostras do leite, medição do pH e da electrocondutividade e determinação dos teores de gordura (TG), proteína (TP), lactose (TL) e sólidos totais (ST), com intuito de conhecer e avaliar o desempenho dos testes de campo utilizados para a identificação precoce de mamites subclínicas.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1 Mamite bovina: considerações gerais

A mamite é a inflamação da glândula mamária, produzida como resposta a diferentes agentes (infecciosos, traumáticos, irritantes químicos, etc.), sendo os mais frequentes os infecciosos provocados por bactérias. Estas penetram no úbere desde o exterior ou desde o próprio organismo do animal (muito menos frequente), desenvolvendo-se o processo, quer pela multiplicação dos germens, quer pelas toxinas que estes produzem (Mazzucchelli Jiménez, 1996).

As bactérias, a principal causa desta doença, invadem a glândula mamária causando lesões nos tecidos secretores, variando desde uma leve infecção autolimitante até quadros severos com perda da glândula mamária podendo, em algumas casos, causar a morte do animal (Nascif Júnior *et al.*, 2006).

Segundo a gravidade e expressão da sintomatologia, as mamites podem manifestar-se nas formas clínica, quando apresentam sintomas evidentes, e subclínica, sem que se observem sinais da doença (Rodrigues, 1998a).

Na mamite subclínica a infecção só é detectável por análises e ensaios (Mathieu, 1985). No leite mamítico observa-se aumento na contagem de células somáticas (CCS), aumentos nos teores de proteínas do soro e diminuição dos teores de caseína, lactose, gordura e cálcio do leite (Dias, 2007 citando Gianola *et al.*, 2004).

As mamites clínicas não representam mais de 2 a 5% dos casos. São reconhecíveis a olho nu e ao tacto e são o sinal duma evolução grave da infecção. Numa fase inicial, observam-se, quase sempre grumos nos primeiros jactos de leite, ficando depois, em fases ulteriores, o úbere congestionado e dorido. O leite é anormal e para além dos grumos, o leite corre em fio, é amarelo e mais espesso (Mathieu, 1985).

Numa mamite crónica, o único sintoma visível no leite é que este se apresenta viscoso e de cor alterada. O úbere pode apresentar partes duras à palpação como

resultado do tecido necrótico e cicatricial aglomerado, característicos de infecções crónicas por *Staphylococcus aureus* (Teixeira *et al.*, 2008).

Sendo a mamite uma doença multifactorial (Ribeiro, 1996) onde a interacção entre o agente infeccioso, o hospedeiro e o ambiente é afectado pelo manejo (Ribeiro, 1997, Ribeiro, 1996), o risco de mamite na vaca leiteira depende da forma como os seus mecanismos de defesa se ajustam ao desafio do ambiente e microrganismos.

Os agentes bacterianos podem ser classificados consoante a fonte de infecção e a forma de disseminação em contagiosos e ambientais. Entre os contagiosos mais importantes estão os *Staphylococcus* coagulase positivos (na sua maioria *Staphylococcus aureus*) e os coagulase negativos, o *Streptococcus agalactiae*, os *Corynebacterium bovis*. São considerados ambientais os restantes *estreptococcus* e as enterobactériáceas (*Escherischia coli*, *Proteus*, *Klebesiela*, entre outros) (Ribeiro, 1996). As mamites provocadas por alguns microrganismos esporádicos, nos quais se encontram as leveduras, podem provocar altas descargas celulares e mesmo surtos epidémicos em explorações, onde o tratamento é difícil ou mesmo impossível (Ribeiro, 1996).

A presença de fungos causadores de mamites como único agente ou associado, tem tido grande importância actual não só como causa de grandes prejuízos económicos, mas também por tornar o leite impróprio para consumo (Oliveira, 2003).

Segundo Zafalon *et al.* (2005) o *Staphylococcus aureus* é amplamente conhecido como um dos principais agentes bacterianos envolvidos na etiologia infecciosa da doença, assim como as bactérias do género *Corynebacterium* apesar destas, às vezes, causarem reduzidas alterações nas características do leite que impossibilitam o diagnóstico pela utilização de métodos auxiliares.

Para além dos vários agentes patogénicos, existem diversos factores de risco que actuam como adjuvantes e predisponentes na patogenia das mamites, dos quais se destacam: o estágio da lactação ou período de secagem, determinantes genéticos (tipo anatómico do úbere e do teto; diâmetro do canal do teto), lesões dos tetos (feridas, ulcerações), idade (vacas mais velhas são mais susceptíveis), higiene da exploração

(camas, sala de ordenha, tetinas, toalhetes e mãos do ordenhador), equipamento de ordenha e doenças puerperais (paresia pós-parto, retenção placentária, acetonemia entre outros) (Pereira, 1999 e Ribeiro, 1996), retenção láctea e todo o stress susceptível de diminuir a resistência natural da mama (Mathieu, H., 1985).

O úbere é órgão onde convergem e se interligam todos os múltiplos factores que intervêm na rentabilidade da produção de leite (opções de melhoramento genético, os múltiplos aspectos de manejo, factores higio-sanitários e metabólicos, nutrição e alimentação), constituindo cada ordenha a confirmação categórica da forma com se estão a interligar (potenciando-se ou prejudicando-se) as múltiplas opções e decisões adoptadas no dia-a-dia (Pinto, 1999).

Estima-se que os factores que intervêm na variação da composição do leite, 26 a 36% estão ligados ao animal (caracteres hereditários) e 60% são consequência do meio ambiente em que vive a vaca (Mathieu, 1978 citado por Franch, 1996).

Na mamite é o factor humano que contribui decisivamente para o seu aparecimento ou controlo (Ribeiro, 1996). A realização do diagnóstico precoce da doença assume extrema importância para a prática de medidas sanitárias adequadas (Nascif Júnior *et al.*, 2006). A sua prevenção em vacas de aptidão leiteira afigura-se como um ponto fulcral no manejo reprodutivo e produtivo e num factor contributivo decisivo para a produção animal (Teixeira *et al.*, 2008).

## **2.2 Detecção e diagnóstico de mamites**

O diagnóstico do processo inflamatório da glândula mamária pode ser efectuado por vários métodos. Os exames directos fundamentam-se na identificação do agente etiológico mediante a demonstração da presença de microrganismos no leite dos indivíduos mamíticos. Os exames indirectos baseiam-se em vários critérios de evolução de intensidade da reacção inflamatória (Mota, 2008). Nas formas agudas e crónicas o diagnóstico é realizado considerando os sinais clínicos, onde no primeiro caso, Ribeiro e Madeira, (1996) refere que, a sintomatologia é visível, observando-se inchaço, rubor, dor,

aumento de temperatura local e perda de função da glândula mamária. O leite apresenta-se anormal e durante toda a ordenha as alterações observadas incluem a presença de pequenos coágulos, descoloração, aspecto líquido, sanguinolento, purulento, grumos, flocos (que são aglomerações de células somáticas e proteínas) e pode encontrar-se mais espesso. Estas alterações podem ser facilmente detectadas pelo produtor com remoção dos primeiros jactos para uma caneca de fundo escuro (Ribeiro e Madeira, 1996).

Um teste diagnóstico, no contexto do controlo e erradicação da doença animal, tem por objectivo identificar efectivos doentes e identificar, individualmente, animais infectados (Zafalon *et al.*, 2005). A precisão destes testes pode ser medida pela sensibilidade (SE), que é a proporção de animais doentes que são correctamente classificados como doentes, e pela especificidade (ES), que é denominada como a percentagem de animais sadios que são devidamente enquadrados como sadios (Della Libera *et al.*, 2009).

Durante a fase inicial de um programa de controlo, a sensibilidade de um teste diagnóstico é considerada como a característica mais importante para garantir que todos os animais doentes num rebanho sejam detectados. A não ser quando se tem uma reduzida prevalência da doença, a especificidade torna-se mais importante e um segundo teste diagnóstico pode ser conduzido para aumentar a capacidade de identificação de animais não doentes (Pfeiffer, 1999 citado por Zafalon *et al.*, 2005).

Na prática, para além de fomentar a qualidade do leite, a CCS tem como principal objectivo o despiste e controlo de mamites em larga escala (Angélico, 1999), sendo referido por Dias (2007) que a principal característica utilizada no diagnóstico da mamite subclínica é o aumento da CCS.

Com base no princípio em que o aumento da CE do leite é directamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e da CCS, os dados obtidos a partir deste teste deverão ser analisados rotineiramente e considerar que este não substitui nenhuma das outras provas, pelo que é um complemento a estas (Teixeira *et al.*, 2008).

## **2.2.1 Testes para a detecção de células somáticas**

Nas mamites subclínicas a infecção do úbere não evidencia sinais externos sendo identificadas somente com o recurso a provas laboratoriais/campo, como CCS ou realização do Teste Californiano de Mamites (TCM), entre outros (Teixeira *et al.*, 2008).

O conteúdo de células somáticas pode ser medido através de métodos directos ou indirectos. No primeiro caso, fazem-se contagens ao microscópio das células coradas; temos por exemplo, o método de Breed “manual”, método de epifluorescência (COBRA) ou fluorescência (FOSSOMATIC) automatizados. O Teste Californiano de Mamites (TCM) é um excelente exemplo de um método indirecto (Ribeiro, 1996).

### **2.2.1.1 Contagem de células somáticas**

A CCS, sendo uma expressão directa da severidade do processo inflamatório, é um parâmetro vantajoso para avaliar a relação entre as infecções intramamárias e as alterações na composição do leite (Zecconi, 1995 citado por Tavares, 2003), uma vez que as contagens das células somáticas são aceites como a medida padrão internacional da qualidade do leite (Harmon, 1998; 2001), quer de um quarto, de uma vaca (amostra composta) ou de um efectivo (Domingues, 2001). Segundo Mota (2008) a contagem de células somáticas constitui a base das técnicas de diagnóstico indirecto das mamites em todas as espécies de ruminantes leiteiros. Os neutrófilos afluem para o sangue e para a glândula mamária por efeito quimiostático e como resposta ao estímulo inflamatório (Mota, 2008).

A CCS consiste na determinação laboratorial do número de células somáticas existentes por mililitro numa determinada amostra de leite sendo usualmente efectuada na União Europeia, através do FOSSOMATIC. Este equipamento apresenta elevada precisão, fiabilidade e rapidez não necessitando de prévia preparação da amostra (Angélico, 1999). No entanto, a precisão da contagem celular no leite, como único método de diagnóstico de mamites depende de factores que a influenciam e que não estão directamente relacionados com o fenómeno inflamatório (Angélico, 1999). O stress,

as agressões do úbere com traumatismo interno da glândula, a ligeira variação que existe entre a ordenha da manhã e da noite, a variação individual diária, o número de partos e o estágio de lactação podem influenciar esse aumento (Ribeiro, 1996). A época do ano, a raça, a produção de leite, problemas nutricionais, condições climáticas e doenças intercorrentes podem interferir na CCS (Müller, 2002 citando Viana, 2000 e Ostrensky, 1999).

A contagem celular individual proporciona uma panorâmica sanitária do úbere duma determinada vaca (Angélico, 1998; 1999) tornando-se um indicador bastante fiável de sanidade da glândula mamária (Müller, 2002).

De uma maneira objectiva, o leite com baixa CCS evidencia a boa saúde do úbere de vacas e, conseqüentemente, a boa qualidade do leite produzido (Santos, 2006). O leite de vacas sadias apresenta, normalmente, contagens em torno de 50.000 cel/ml sendo aceite, como normal, contagens até 100.000 cel/ml (Ribeiro, 1996) e nos animais de primeira lactação (Harmon, 2001). Smith *et al.* (2001) consideram que as contagens de células entre 100.000 e 199.999 cel/ml representam uma amplitude de variação, difícil de atribuir à inflamação e/ou infecção intramamária. A maioria dos autores consideram como limite aceitável 200.000 cel/ml para separar vacas não infectadas das infectadas (Tavares, 2003 citando Leslie, 1996). Acima dos 200.000 cel/ml estes valores são considerados anormais e uma indicação de inflamação no úbere (Harmon, 1998 e 2001; Evangelista, 1999; Cerqueira e Ribeiro, 1997; Ribeiro, 1996). No entanto, Teixeira *et al.* (2008) referem que valores até 250.000/ml de leite destas células são consideradas normais e, muito provavelmente, necessárias para uma primeira linha de ataque às mamilas. Hanekamp e Hogeveen (1999) citados por Tavares (2003) consideram 250.000 cel/ml o limiar para a CCS das vacas, referindo que uma contagem igual ou superior é sempre anormal independentemente do estado de lactação, número de partos, etc.

A contagem de células somáticas acima de 300.000 cel/ml indica a existência de mamite subclínica (Ribeiro; Ribeiro e Madeira, 1996; Tavares, 2003 citando Goff e Hill, 1993). Estes autores consideram que um quarto tem mamite subclínica sempre que

apresenta contagens iguais ou superiores a 300.000 cel/ml, ou uma cruz de TCM e que, quando no leite total de ordenha de uma vaca existe uma contagem superior ou igual a 200.000 cel/ml deve-se suspeitar da existência de pelo menos um quarto infectado (Ribeiro; Ribeiro e Madeira, 1996).

Segundo Mathieu (1985) por razões fisiológicas, o número de CCS aumenta de um modo muito significativo com a idade das vacas. No início e, sobretudo, no final da lactação, o número é de aproximadamente, 500.000 cel/ml.

Ribeiro e Madeira (1996) referem que quando os mecanismos de defesa não são suficientes para controlar a infecção, as células somáticas atingem valores elevados, instalando-se uma mamite clínica. (A contagem das células somáticas deste leite deve ser superior a 500.000 cel/ml). Animais que apresentam persistentemente contagens celulares acima do normal intercaladas com ocorrência de casos clínicos são animais com infecções crónicas, a maioria das quais sem resolução terapêutica.

Para Müller (2002) a CCS é uma ferramenta valiosa na avaliação do nível de mamite subclínica no rebanho, na estimativa das perdas quantitativas e qualitativas de produção do leite e derivados, como indicativo da qualidade do leite produzido na exploração e para estabelecer medidas de prevenção e controle da mamite.

### **2.2.1.2 Teste Californiano de Mamites**

O Teste Californiano de Mamites (TCM) é um método indirecto, que avalia a quantidade de células somáticas do leite (Mota, 2008; Ribeiro Júnior *et al.*, 2008; Ribeiro, 1996), sendo o teste de campo de eleição para o diagnóstico das mamites subclínicas pela sua fácil execução, por ser económico e por dar uma ideia muito aproximada da situação do rebanho (Mota, 2008). Consiste numa reacção química em que se junta ao leite um reagente (Teepol + Bromocresol púrpura). O contacto do reagente específico com as células somáticas dá origem à formação de uma gelatina provocada pela aglutinação das proteínas (Teixeira *et al.*, 2008). As reacções são classificadas em graus,

de acordo com as características que apresentam sendo proporcionais à contagem de células somáticas (Ribeiro e Madeira, 1996).

Sendo bastante útil e rápida, o TCM é a prova mais conhecida e mais difundida em todo o Mundo (Teixeira *et al.*, 2008). É realizada no próprio estábulo e com o primeiro leite da ordenha. Para o efeito, devem ser retirados os primeiros jactos de leite (Ribeiro e Madeira, 1996), visto que o primeiro leite a sair do teto tem sempre uma carga maior de glóbulos brancos (leucócitos ou, como mais frequentemente conhecidas, células somáticas) e bactérias, pelo que deve ser aproveitado para fazer o teste mais simples para observar alguma anormalidade do leite (Rodrigues, 1998a).

Ao ser efectuado aos quatro quartos, dá uma indicação rápida da presumível situação de infecção de cada um, sendo um excelente indicador de quartos suspeitos quando usado para acompanhar periodicamente o estado dos quartos individuais do rebanho ou para identificar quartos suspeitos em vacas com descargas celulares altas sem necessidade de se recorrer a contagens de células suplementares (Ribeiro, 1997). No entanto, o TCM tem como principal desvantagem a subjectividade na interpretação da viscosidade da amostra analisada (Teixeira *et al.*, 2008), podendo revelar resultados falso-positivos ou falsos-negativos (Oliveira, 2003). Para Mota (2008) as reacções negativas e de 3+ são facilmente interpretadas, mas nas reacções intermédias existem algumas discrepâncias, que podem dificultar a interpretação dos resultados.

Ribeiro Júnior *et al.* (2008) ao compararem os métodos de diagnóstico TCM e Whiteside (prova laboratorial), sob o ponto de vista económico e de eficiência da mamite subclínica no campo constataram que o TCM se mostrou mais sensível e economicamente mais viável como método de diagnóstico de campo quando comparado com a prova Whiteside.

Para além de detectar a concentração de células somáticas, o TCM também detecta o pH do leite mamítico. Uma coloração púrpura intensa da mistura indica que o pH está alcalino, característico do leite mamítico (Silva, 2005).

### **2.2.2 A condutividade eléctrica do leite na detecção de mamites**

O leite contém electrólitos (sais, ácidos e bases) que facilitam a passagem de corrente eléctrica. Esta pode ser utilizada para detectar leites anormais, como aqueles provenientes de animais com mamite (ocorre aumento de cloretos) e provenientes de fraudes por adição de substâncias neutralizantes (Ferreira, 2007).

O uso da CE do leite como indicador de mamite é um método bastante conhecido. Os primeiros estudos tiveram início a partir de 1940. Existe uma enorme variedade de trabalhos de investigação que foram desenvolvidos para avaliar o aperfeiçoamento e adaptação deste método. Na última década, os avanços na tecnologia para medição da CE do leite permitiram o uso deste método para monitorizar o aumento do número de mamites nos efectivos leiteiros (Norberg, 2005).

Actualmente, a CE do leite pode ser utilizada como auxiliar no diagnóstico da mamite subclínica (Zafalon *et al.*, 2005). No leite, a CE é determinada pela concentração de iões, sendo o sódio, o potássio e o cloro, os mais importantes. Quando um animal é acometido pela doença, a concentração de potássio no leite diminui, enquanto as concentrações dos iões sódio e cloro elevam-se devido ao aumento da permeabilidade dos capilares sanguíneos e á destruição dos sistemas de bombeamento iónico, conduzindo ao aumento da condutividade láctea (Nielen *et al.*, 1992 citado por Zafalon *et al.*, 2005).

Segundo Murray *et al.* (1998) citado por Zafalon *et al.* (2005), a condutividade pode ser utilizada para diagnosticar a mamite. A fracção do leite com que é realizado o exame é fundamental. Uma maior sensibilidade no diagnóstico parece ser alcançada ao serem usados os primeiros jactos de leite para serem examinados (Zafalon *et al.*, 2005). Para Graupner *et al.* (1989) citados por Barth *et al.* (2002) a CE dos primeiros jactos de leite, antes da produção da ejeção do leite alveolar, dá valores mais credíveis do que o leite extraído posteriormente, referindo Barth *et al.* (2002) que este é o mais importante quando se mede a CE com o condutímetro manual. Também Hamann e Gyodi (1999)

citados por Zafalon *et al.* (2005) referem que após as primeiras fracções de leite, a condutividade eléctrica diminui.

### **2.2.2.1 Medição da Condutividade Eléctrica na sala de ordenha**

A medição da CE é uma prova de utilização recente nas salas de ordenha. Baseia-se no princípio de que o aumento da CE do leite é directamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e aumento da CCS, visto que o aumento dos iões sódio e cloro e a diminuição do cálcio e outros constituintes do leite são características do leite mamítico (Teixeira *et al.*, 2008). Assim, uma corrente eléctrica irá fluir mais facilmente através do leite com mamite do que num leite normal não infectado, devido ao alto conteúdo iónico (Silva, 2005).

Existem vários equipamentos disponíveis comercialmente para o controle da CE ao nível da vaca ou do quarto de úbere destinados a ajudar a rápida detecção de infecções no úbere (Ohnstad, *et al.*, 2002).

#### **2.2.2.1.1 Sistemas automáticos**

Recentemente, a avaliação da CE do leite tornou-se disponível nos modernos sistemas de ordenha, nos quais a medição pode ser feita ao longo do período de ordenha (Teixeira *et al.*, 2008; Santos, 2005; Rodrigues, 1998b). Estas informações, associadas a outros dados sobre a produção e a temperatura do leite registada automaticamente, através de um termómetro electrónico colocado no tubo curto do leite destes equipamentos, constituem preciosos auxiliares para a gestão da exploração (Rodrigues, 1998b).

Segundo Maatje e Rossing (1976) citados por Rodrigues (1998b) a temperatura do leite é um bom indicador da temperatura corporal do bovino, havendo uma correlação positiva entre as duas medidas. Nestes equipamentos, normalmente as medições diárias são comparadas com os limites normais daquela vaca e em caso de elevação da CE o

sistema alerta o proprietário para uma avaliação individual da vaca com suspeita de mamite (Santos, 2005).

Rodrigues (1998b) citando Nielen (1992) refere que os sistemas automáticos para medição da CE do leite são fiáveis uma vez que há uma elevada correlação entre os valores obtidos por aquela via e os valores obtidos em laboratório. A correlação é de 0,83 para os primeiros jactos de leite, 0,89 para o leite do período em que há máximo fluxo, 0,85 para o repasse e de 0,86 para o leite de toda a ordenha.

Santos, (2005) refere que neste tipo de diagnóstico de mamite, pode atingir-se cerca de 80% de sensibilidade (identificação correcta de vacas infectadas) e 75% de especificidade (correcta identificação de vacas sadias). Desta forma, o uso da CE para detecção de mamite subclínica pode ser uma excelente ferramenta no controle de mamite, quando a medição é acoplada à ordenha, pois permite a identificação precoce e a monitorização diária de casos de mamite em vacas leiteiras.

#### **2.2.2.1.2 Equipamento portátil**

Desde há vários anos que têm sido desenvolvidos equipamentos portáteis para testar, no estábulo e ao lado da vaca, a CE do leite. A maior parte destes equipamentos permite avaliar a CE de um quarto de cada vez com resultados muito bons (Milner *et al.*, 1997; Milner *et al.*, 1996; Tongel *et al.*, 1994; Hillerton e Walton, 1991; Barta *et al.*, 1990; Okigbo *et al.*, 1984 citados por Rodrigues, 1998b).

Os detectores manuais da CE são mais baratos e, como são portáteis, podem ser utilizados em diferentes estábulos sendo considerados, equipamentos suficientemente eficazes para detectar leite anormal e serem utilizados como alternativa ao TCM (Rodrigues, 1998b).

No entanto, os resultados encontrados no trabalho realizado por Nascif Júnior *et al.* (2006) sobre a sensibilidade e especificidade do TCM e da CE do leite de vacas durante a lactação, sugerem que alterações fisiológicas que ocorrem no início e fim da lactação podem interferir significativamente na interpretação dos resultados da TCM e CE. Este

problema pode ser minimizado pelo uso de ambos os testes, uma vez que se baseiam em tipos diferentes de resposta inflamatória e, deste modo, os resultados obtidos podem ser mais fiáveis e melhor utilizados na tomada de decisão sobre as medidas sanitárias aplicadas ao efectivo (Nascif Júnior *et al.*, 2006). Ambos são rápidos e fornecem, ao produtor, informação imediata sobre a qualidade do leite (Rodrigues, 1998b).

#### **2.2.2.2 Medição da condutividade eléctrica no laboratório**

A CE determinada por um condutímetro consiste na capacidade de uma solução conduzir uma corrente eléctrica entre dois eléctrodos e é medida em miliSiemens (mS) (Norberg, 2005 e Rodrigues, 1998b). Este equipamento pode ser uma ferramenta útil, mas o seu uso na rotina da sala de ordenha é pouco provável (Hillerton e Walton, 1991).

As concentrações dos iões (catiões e aniões) como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> do leite são os principais determinantes da CE do leite (Norberg, 2005 e Rodrigues, 1998b). Em condições normais, estes iões transportados pelas células da glândula mamária a partir do sangue (Santos, 2005), apresentam concentrações cujos valores oscilam entre 4,61 e 4,92 mS/cm para a CE no leite de vaca (Ferreira, 2007; González, 2001) e 4,0 a 5,0 mS/cm no leite normal a 25°C (Wong, 1988 citado por Norberg, 2005). Quando medida directamente, a CE terá valores mais elevados devido à temperatura do leite (38°C) (Norberg, 2005).

Segundo Rodrigues, (1998b) citando Nielen *et al.* (1992), existe uma relação linear positiva entre o aumento da temperatura das amostras de leite e o aumento da CE (0,113 mS/ °C) entre os 15 e os 40°C.

Quando a vaca apresenta mamite ocorre aumento das concentrações de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> no leite, o que tem como consequência o aumento da CE (Norberg, 2005).

Norberg (2005) refere que Norberg *et al.*, (2004) encontraram valores médios de CE em mS para casos subclínicos e clínicos de mamite 5,75 (±0,04) e 6,73 (±0,06) mS/cm (p<0,001), respectivamente, enquanto que para vacas sadias a CE do leite encontrada foi 5,3 (±0,03) mS/cm. No entanto, Santos (2005) refere que a CE apresenta algumas

limitações, pois existe variação normal individual entre vacas. Segundo Norberg (2005) as infecções causadas por diferentes bactérias podem causar diferentes alterações ao nível do aumento da CE. Hillerton e Walton (1991) encontraram para o leite de vacas com infecção subclínica por *Staphylococcus aureus* uma condutividade do leite elevada (7,1 a 7,5 mS/cm), mas o leite de vacas com infecções subclínicas por *Streptococcus uberis* não evidenciaram acentuado aumento da condutividade (5,3 a 5,6 mS/cm). Estes autores referem que as infecções por *Streptococcus uberis* foram detectadas em 50% dos casos, verificando-se um aumento ligeiro da CE do leite duas ordenhas antes do aparecimento dos sinais visíveis da mamite.

Além da mamite, outros factores podem influenciar a CE, entre os quais se destacam a raça, número de partos, estágio de lactação, intervalo entre ordenhas e a composição do leite (Norberg, 2005). O estro, as alterações ao regime alimentar (ex. afastamento brusco das vacas da pastagem de primavera) a ingestão de silagens de má qualidade, a febre do leite e a aplicação de antibióticos intramamários entre quartos não afectados com mamite, afectam a CE do leite produzido pelos bovinos. Também a utilização de oxitocina altera a composição do leite de forma semelhante à do aparecimento de mamites (Nielen *et al.*, 1992 citado por Rodrigues, 1998).

Santos (2005) refere que ao longo da lactação ocorre uma diminuição da CE nas primeiras semanas aumentando gradualmente na restante lactação, seguindo a curva da CE o mesmo padrão da curva de CCS, visto que a prevalência de mamites tende a aumentar com o avanço da lactação.

Para quartos infectados com *Staphylococcus aureus*, Norberg (2005) registou um aumento em média de 5,8 (mS) na primeira lactação para 7,5 mS nas lactações posteriores. Sheldrake *et al.* (1983) citados por Rodrigues, (1998b), encontraram valores que variam entre 4,5, 5,8 e 6,5 mS/cm, respectivamente, para leites com uma contagem média de células somáticas de 158.000, 200.00 e 251.000. Também a diferença entre a CE do leite obtido nas ordenhas da manhã e da tarde é mais evidente em leites

provenientes de quartos mamíticos (Puckett 1984 citado por Nielen *et al.*, 1992; citados por Rodrigues, 1998).

### **2.2.3 Testes bacteriológicos**

A bacteriologia é um recurso de maior importância, tanto para o tratamento de mamites clínicas como para a caracterização epidemiológica da situação da exploração (Ribeiro, 1996).

A análise microbiológica tem como objectivo a identificação do agente etiológico mediante a cultura e posterior prova de sensibilidade a antibióticos (antibiograma). Devido ao seu alto custo, a sua utilização deve-se restringir aos casos de mamites clínicas, crónicas, suspeita de microrganismos pouco habituais ou estudos experimentais (Mota, 2008). Além disso, os testes bacteriológicos nem sempre são fiáveis já que o sucesso da cultura varia, dependendo do tipo de microrganismo, metodologia da colheita e procedimentos laboratoriais (Pyörälä, 2003 citado por Della Libera *et al.*, 2009). Nestes casos, é da maior importância que se faça uma colheita asséptica para obter um bom resultado, tanto na identificação de agentes como no antibiograma, uma vez que, o conhecimento dos agentes envolvidos numa mamite contribui para a decisão do clínico relativamente à terapia a utilizar e para o prognóstico da situação (Ribeiro, 1996).

### **2.3 Alterações da composição e características físico-químicas do leite**

A qualidade do leite *in natura* é influenciada por muitas variáveis, entre as quais se destacam factores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e factores relacionados à obtenção e armazenamento do leite. Uma das causas que exerce influência extremamente prejudicial sobre a composição e as características físico-químicas do leite é a mamite, acompanhada por um aumento na CCS no leite (Müller, 2002). Consequentemente, a composição do leite, a actividade enzimática, o tempo de coagulação, a produtividade e a qualidade dos derivados lácteos, são influenciados negativamente (Müller, 2002 citando Kitchen, 1981). Além disso, a

baixa qualidade do leite para consumo acarreta sérios problemas para a saúde pública (Ribeiro Júnior *et al.*, 2008).

Além do aumento do número de células, a mamite provoca alterações nas concentrações tanto dos componentes principais do leite (proteína, gordura, lactose e sólidos totais) como nos minerais e enzimas (Silva, 2005 e Müller, 2002), podendo estas alterações ser observadas na Quadro 1.

**Quadro 1.** Efeito da mamite subclínica sobre os componentes do leite

<b>Componentes do leite</b>	<b>Leite Normal (%)</b>	<b>Leite com altas CCS</b>
Sólidos totais isentos de gordura	8,9	8,8
Gordura	3,5	3,2
Lactose	4,9	4,4
Proteína total	3,6	3,5
Caseína	2,8	2,3
Proteínas do soro	0,8	1,3
Imunoglobulinas	0,1	0,6
Albumina sérica	0,02	0,07
Sódio	0,06	0,1
Cloreto	0,09	0,15
Potássio	0,17	0,16
Cálcio	0,12	0,04

Adaptado de Silva (2005)

A inflamação da glândula mamária reduz a síntese de gordura, caseína e lactose, reduz os teores médios de cálcio e potássio e aumenta a passagem do sangue para o leite das proteínas do soro, das albuminas, do sódio e do cloro (Dürr *et. al.*, 2001) devido a uma deterioração das células secretoras e a uma acumulação do leite na mama, o que se deve à oclusão de certos canais secretores. Estas deteriorações têm por consequência a diminuição da capacidade de síntese e o aumento da permeabilidade dos tecidos doentes, o que origina uma reabsorção da lactose e a infiltração de soro sanguíneo (contribuição de proteínas do sangue) (Mathieu, 1985).

Quanto mais grave é a infecção, mais a composição do leite se aproxima da composição do plasma sanguíneo. A mama lesada comporta-se como um órgão de eliminação; diminuem as moléculas elaboradas e aumentam as moléculas filtradas (Mathieu, 1985). Assim, as mudanças na composição do leite e a extensão do aumento da CCS estão directamente relacionadas com a superfície do tecido mamário atingido pela reacção inflamatória, existindo uma relação directa entre a CCS e a concentração dos componentes do leite (Schäellibaum, 2000 citado por Müller, 2002), podendo ser observadas estas alterações na Quadro 2.

**Quadro 2.** Mudanças na composição do leite associadas a elevada contagem de células somáticas

Componente do leite	CCS x10 <sup>3</sup> cel/ml				Alteração e motivo
	< 100	< 250	500-1.000	> 1.000	
<b>Lactose</b>	4,90	4,74	4,60	4,21	Redução (g/100 ml)
<b>Caseína (total)</b>	2,81	2,79	2,65	2,25	
<b>Gordura</b>	3,74	3,69	3,51	3,13	Redução da síntese
<b>Proteínas séricas (total)</b>	0,81	0,82	1,10	1,31	
<b>Soro-albuminas</b>	0,02	0,15	0,23	0,35	
<b>Imunoglobulinas</b>	0,12	0,14	0,26	0,51	Aumento
<b>Cloro</b>	0,091	0,096	0,121	0,147	Passagem a partir do sangue
<b>Sódio</b>	0,057	0,062	0,091	0,105	
<b>Potássio</b>	0,173	0,180	0,135	0,157	
<b>pH</b>	6,6	6,6	6,8	6,9	

Adaptado de Müller (2002)

Normalmente, existe tendência de redução na concentração de gordura à medida que aumentava a CCS. Nos casos em que a produção de leite diminuiu numa proporção maior do que a síntese da gordura, a percentagem de gordura aumenta em animais com altas CCS em função do efeito da concentração (Kitchen, 1981; Harmon, 1994; Pereira *et al.*, 1999; Schäellibaum, 2000 citados por Müller, 2002).

Lima *et al.* (2006) referem que num estudo realizado por Picinin (2003) em 31 propriedades leiteiras na Região Metropolitana de Belo Horizonte, foi demonstrado que

quanto maior a CCS, menores os teores da gordura e sólidos totais do leite. No entanto, no estudo realizado por Lima *et al.* (2006) sobre a qualidade do leite em 13 propriedades rurais do estado de Pernambuco, houve aumentos no teor de gordura à medida que a CCS aumentava, diferindo assim dos resultados encontrados por Picinin (2003). Lima *et al.* (2006), constataram que os sólidos totais aumentaram à medida que a concentração de células somáticas aumentava até valores médios de 750.000 cel/ml, diminuindo depois no intervalo entre 751.000 a 1.000.000 cel/ml.

A mamite, acompanhada de altas CCS, está associada à diminuição da concentração de lactose no leite (Kitchen, 1981; Harmon, 1994; Pereira *et al.*, 1999; Schäellibaum, 2000 citados por Müller, 2002). A lactose é sintetizada pelo aparelho de Golgi das células epiteliais secretoras dos alvéolos mamários. A mamite causa danos neste tecido e altera os sistemas enzimáticos nas células secretoras, tendo como consequência a diminuição da biossíntese deste constituinte (Lima *et al.*, 2006).

Segundo Kitchen (1981) citado por Lima *et al.* (2006), níveis de lactose inferiores a 4,69 e 4,75% podem ser indicativos de mamite no efectivo.

Em relação às proteínas ocorre uma redução das que são sintetizadas na glândula mamária ( $\alpha$  e  $\beta$  caseína,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina) e um aumento nas de origem sanguínea (soro-albumina e imunoglobulinas), em virtude do aumento de permeabilidade vascular secundário ao processo inflamatório (Kitchen, 1981 citado por Müller, 2002). A proteína total do leite tem pouca variação, mas a concentração de cada tipo de proteína varia acentuadamente (Müller, 2002). Segundo Lima *et al.* (2006) a concentração da proteína total (PT) no leite com alta CCS permanece inalterada ou sofre pequenas alterações. No entanto, Schmidt (1974) refere que modificações do conteúdo proteico aparecem quando surgem os sinais clínicos graves de mamite.

Vale a pena salientar que as reduções de caseína, lactose e gordura comprometem directamente o rendimento industrial, principalmente em relação à fabricação de queijos, chegando a uma diminuição de 5% na produção (Lima *et al.*, 2006). Santos e Fonseca (2001) referem que uma diminuição em 0,5% de sólidos totais ou 0,1 % em proteínas

pode significar perdas de até 5 toneladas de leite em pó ou 2,2 toneladas de queijo, respectivamente, por cada milhão de litros de leite processado. Além de interferir no valor pago por litro de leite, uma vez que vários destes parâmetros são utilizados para beneficiar o produtor no sistema de pagamento por qualidade, todos estes factores interferem, directamente, na qualidade do produto final, diminuindo assim o seu valor nutritivo (Lima *et al.*, 2006).

Entre as características físico-químicas do leite, as alterações mais pronunciadas ocorrem em termos de condutividade eléctrica e pH. A condutividade eléctrica apresenta-se aumentada no leite com mamite, em função da elevada concentração dos iões Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (Silva, 2005). O potássio, mineral predominante no leite, decresce devido ao dano celular, enquanto há uma elevação nos níveis de sódio e cloro que passa do sangue para o leite (Kitchen, 1981; Harmon, 1994; Pereira *et al.*, 1999; Schäellibaum, 2000 citados por Müller, 2002). Outros iões como o cálcio, o fósforo e o magnésio não interferem com a CE do leite, encontrando-se ligados às caseínas (Rodrigues, 1998b).

Além das mamites, outros factores podem provocar alterações no conteúdo do leite em iões, influenciando de forma determinante a sua CE (Rodrigues, 1998b). Os vários factores referidos na bibliografia, que poderão ou não estar associados à mamites, vão desde a variação entre animais (Rossing *et al.*, 1987; Okigbo *et al.*, 1984; citados por Rodrigues, 1998), passando por variações ao longo da lactação ou entre lactações (Rossing *et al.*, 1987; Sheldrake *et al.*, 1983 citados por Rodrigues, 1998b).

Considerando que a gordura é má condutora o aumento da fracção lipídica do leite tem um efeito inibidor na CE devido não só à redução do volume total do meio condutor mas também devido ao obstáculo físico que os glóbulos de gordura são, à migração dos iões (Rodrigues, 1998b citando Nielen *et al.*, 1992).

A concentração de iões hidrogénio, ou pH, tem grande importância na tecnologia do leite, pois todos os fenómenos fermentativos, processos de formação de manteiga, precipitação de proteínas e o resultado da pasteurização, dependem do pH do leite (Ferreira, 2007).

No leite normal, o pH apresenta uma faixa de variação entre 6,6 e 6,8 (Ferreira, 2007; Santos e Fonseca, 2001; Silva, 1997), com média de 6,7 a 20°C ou 6,6 a 25°C (Ferreira, 2007 citando Pereira, 2001; Silva, 1997). O leite mamítico pode atingir o valor 7,0 (Fonseca e Santos, 2000 citados por Silva, 2005). Esse aumento deve-se ao aumento da permeabilidade vascular que leva a uma maior passagem de bicarbonato do sangue para o leite (Silva, 2005). O leite contendo compostos com características básicas, terá um pH > 7,0 (Goursaud, 1985), podendo atingir pH 7,5 (Silva, 1997).

Se o pH < 6,5, o leite é ácido (Goursaud, 1985) apresentará considerável efeito tampão especialmente com pH entre 5,0 e 6,0 devido à presença de dióxido de carbono, proteínas, citratos, lactatos e fosfatos (Silva, 1997).

As enzimas contidas no leite como a peroxidase e a catalase aumentam nos processos inflamatórios e a sua elevação é usada nos métodos diagnósticos de mamites (González, 2001).

Considerando a monitorização da composição do leite como um elemento importante na prevenção e diagnóstico das alterações que afectam a produção leiteira e rentabilidade desse sector primário na economia (Barros, 2001), os meios de diagnóstico laboratorial são um instrumento indispensável para conhecer e caracterizar quer o estado individual da vaca quer a situação da exploração de forma adequada e precisa (Ribeiro, 1996). No entanto, devido à grande variabilidade existente na composição do leite, as análises para a sua determinação devem ser precisas o suficiente para não confundir a interpretação dos resultados, rápidas o suficiente para permitir que se relacione os resultados com as condições ainda vigentes no rebanho e baratas o suficiente para se tornarem parte da rotina dos rebanhos leiteiros (Dürr *et al.*, 2001).

### **3. Material e métodos**

#### **3.1 Objectivo do trabalho**

Com o objectivo de proceder à avaliação da sanidade do úbere de vacas em lactação foram realizados testes de estábulo, como métodos auxiliares para a detecção precoce da mamite subclínica bovina, a condutividade eléctrica (CE), utilizando um medidor manual, e o Teste Californiano de Mamites (TCM).

Efectuaram-se, posteriormente, provas complementares em laboratório, para determinação da contagem de células somáticas (CCS) e avaliação das características físico-químicas e bioquímicas de amostras de leite colhidas por quarto mamário, das vacas controladas. Para o efeito, procedeu-se à determinação dos valores do pH e electrocondutividade do leite e realizaram-se análises referentes aos teores de lactose (TL), proteína (TP), gordura (TG), sólidos totais (ST) e sólidos totais isentos de gordura (SNF).

#### **3.2. Explorações**

Durante a realização do estudo foram visitadas três explorações de bovinos de leite, localizadas no distrito de Castelo Branco (Orjais - concelho da Covilhã, 55 vacas em lactação; Ladoeiro - concelho de Idanha-a-Nova, 490 vacas em lactação; ESACB – concelho de Castelo Branco, 18 vacas em lactação). Todas utilizam a ordenha mecânica com a realização do pré e pós “dipping”.

#### **3.3. Amostragem / Animais**

Foram utilizadas 44 vacas Holstein Frísia, perfazendo um total de 176 quartos mamários. As vacas em lactação e submetidas a duas ordenhas diárias apresentavam diferentes idades, estágios de lactação e com excepção das vacas da ESACB mantidas em regime semi-estabulação, todas as outras estavam estabuladas as 24 horas.

Nas duas explorações, de média e grande dimensão, os animais foram seleccionados por apresentarem episódios recorrentes de mamite. Na ESACB todas as vacas lactantes do efectivo bovino foram controladas.

As vacas foram submetidas a testes de campo, condutividade eléctrica (CE) e Teste Californiano de Mamites (TCM) por quarto mamário, imediatamente antes da ordenha.

As amostras de leite colhidas nos mesmos quartos mamários foram utilizadas para realização de provas complementares, em laboratório.

As vacas foram ordenhadas, posteriormente, seguindo a rotina de cada exploração.

No final, procedemos ao registo da produção de leite da ordenha. Recorremos ainda a dados já existentes nas explorações, acerca dos animais testados, como é o caso dos dias de lactação e CCS do úbere do último contraste.

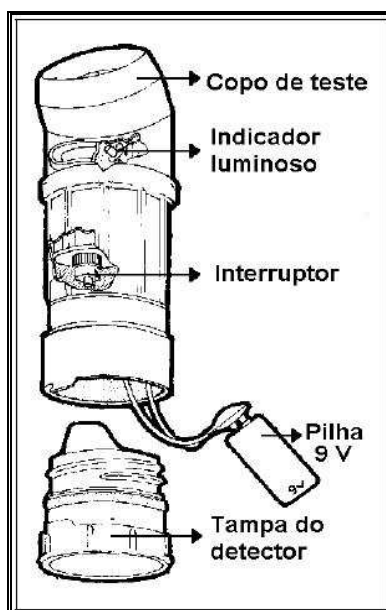
### **3.4 Testes realizados na sala de ordenha - testes de campo**

#### **3.4.1 Condutividade eléctrica com detector portátil**

A CE por quarto foi determinada através de um medidor portátil (InterAg – Effective Agricultural Systems, Nova Zelândia) (Figura 1), orientando-se os primeiros jactos de leite directamente para o copo de teste do medidor até este ficar cheio. Seguidamente, foi realizada a leitura por observação do mostrador luminoso colocado por baixo do copo do teste, cujas luzes acesas só verde, só vermelho ou verde e vermelho, foram de imediato registadas numa folha de papel. Segundo Rodrigues (1998b), considera-se como sadio o quarto mamário que evidencia no mostrador luminoso a luz verde, sugerindo uma CE do leite baixa (baixo conteúdo de electrólitos do leite). A luz verde e a luz vermelha acesas em simultâneo no mostrador luminoso, indicam que a CE do leite apresenta um valor médio, sugerindo um quarto mamário sem mamite quando em nenhum dos outros quartos do úbere da mesma vaca, aparece a luz verde.

A mamite é identificada quando surge no mostrador luminoso a luz vermelha o que significa que o leite do quarto mamário testado tem uma CE muito elevada, ou quando

aparecem as luzes verde e vermelha acesas em simultâneo e em nenhum dos quartos vizinhos aparece a luz verde acesa (Rodrigues, 1998b).



**Figura 1.** Esquema do detector portátil de mamites - condutímetro (Rodrigues, 1998b)

### 3.4.2 Teste Californiano de Mamites (TCM)

Em seguida foi realizado o TCM ao leite dos quartos das mesmas vacas. Procedeu-se à observação da reacção do leite com o reagente líquido para Test de Mamitis, Violet, distribuído por INSVET, S.A. Os resultados da mistura foram registados conforme a grelha de classificação de Ribeiro e Madeira (1996): 0 (negativo - um precipitado ligeiro que desaparece com os movimentos circulares), 1 (suspeito de infecção - um precipitado distinto mas não há formação de gel com os movimentos circulares), 2 (infecção - a mistura torna-se espessa e com vestígios de gel) e 3 (infecção - gelatinização distinta, com formação de gel espesso aderente ao receptáculo da raquete).

### 3.5 Colheita de amostras

Dos quartos mamários positivos e negativos ao TCM, foram colhidas amostras de leite para dois frascos identificados com o número do animal e respectivo quarto, sendo um para medição da CE do leite e pH no laboratório e posterior análise da composição do leite, e o outro para a CCS.

As amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica refrigeradas, com termoacumuladores e imediatamente transportadas para o laboratório de Nutrição e Alimentação Animal da ESACB onde permaneceram no frigorífico até serem analisadas.

### **3.6. Testes realizados em laboratório - provas complementares (Exames físico-químicos, bioquímicos e celulares do leite)**

As medições do pH em potenciómetro (Modelo Crison Microph 2002), da electrocondutividade do leite no condutímetro (Modelo Cond 315e/SET) e a determinação dos parâmetros bioquímicos da composição do leite (ST, TB, TP, TL e SNF) no Milko-Scan®, foram efectuadas nos laboratórios da ESACB.

As contagens de células somáticas (CCS), determinadas pelo Método Fluoro-opto-electrónico no aparelho Fossomatic®, foram realizadas no Laboratório de Qualidade Alimentar da DRAP Centro, localizado em Alcains.

### **3.7. Análise estatística**

Todos os resultados obtidos por quarto e por úbere foram analisados com o programa informático SPSS Statistics 17.0. Foi calculada a média, o desvio padrão e foram feitas análises de variância entre tratamentos ( $p < 0,05$ ). Sempre que foram detectadas diferenças estatisticamente significativas, foi utilizado o teste Tukey como teste de comparações múltiplas. Entre alguns dos parâmetros analisados, foram determinados os coeficientes de correlação de Pearson considerando valores de  $p < 0,001$  a  $< 0,05$  significativos (Steel e Torrie, 1980).

## **4. Resultados e discussão**

O leite tem a sua composição e qualidade alteradas quando proveniente de vacas com mamite subclínica, com intensidade que depende da resposta inflamatória do animal, dos factores de virulência do agente etiológico da doença e da extensão do tecido afectado (Zafalon *et al.*, 2005).

A detecção precoce da mamite pode reduzir as consequências negativas para a vaca e as perdas de produção, assumindo elevada importância na procura da melhor qualidade do leite (Mol e Ouweltjes, 2002).

Os testes de diagnóstico de mamites podem ser realizados na exploração (testes de campo) ou em laboratório. Os testes de campo são mais simples e podem ser realizados diariamente no momento da ordenha (Ribeiro Júnior, *et al.*, 2008; Teixeira *et al.*, 2008). No entanto, os métodos de diagnóstico mais precisos nem sempre podem ser executados, considerando as dificuldades inerentes à rotina de campo e seu alto custo (Ribeiro Júnior, *et al.*, 2008). Segundo Teixeira *et al.*, (2008) as provas laboratoriais aumentam a certeza de que estamos perante um problema de mamites complementando a habitual e tradicional inspecção e palpação do úbere.

### **4.1 Avaliação das características físico-químicas e celulares do leite por quarto**

No trabalho por nós realizado a CE do leite, determinada pela concentração iónica, quando medida na sala de ordenha com o aparelho portátil revelou que, 55 dos quartos estudados (31,3%) estavam sadios, correspondendo a quartos com uma CE do leite baixa (baixo conteúdo de electrólitos do leite) (Rodrigues, 1998b) (Quadro 3). Obtivemos uma percentagem mais elevada, 47,7% do total de quartos estudados, quando a luz verde e a luz vermelha apareceram acesas em simultâneo no mostrador luminoso, indicando para a CE do leite um valor médio (Rodrigues, 1998b). No entanto, a percentagem mais baixa (21,0%) foi registada quando surgiu no mostrador luminoso a luz

vermelha, o que significa que o leite do quarto mamário testado tinha uma CE muito elevada, identificando o quarto com mamite (Rodrigues, 1998b).

**Quadro 3.** Resultados das determinações da condutividade eléctrica (CE), pH e contagens de células somáticas (CCS) do leite obtidos por quartos, em função da classificação por classes com indicação de cores da CE medida com o aparelho portátil na sala de ordenha (V - verde; VE - verde/encarnado; E - encarnado). Valores expressos em termos médios e  $\pm$  desvio padrão.

	CE (portátil)		CE (mS/cm)	pH	CCS (cel/ml)
	Nº de amostras	%			
V	55	31,3	5,11 <sup>a</sup> $\pm$ 0,366	6,64 <sup>a</sup> $\pm$ 0,101	37.218,18 <sup>a</sup>
VE	84	47,7	5,31 <sup>a</sup> $\pm$ 0,362	6,62 <sup>a</sup> $\pm$ 0,111	200.869,05 <sup>a</sup>
E	37	21,0	5,61 <sup>b</sup> $\pm$ 0,800	6,75 <sup>b</sup> $\pm$ 0,128	1.098.676,68 <sup>b</sup>
	176	100	5,31 $\pm$ 0,516	6,66 $\pm$ 0,121	338.472,59

(a), (b), (c) - notações diferentes na mesma coluna significam  $p < 0,05$ .

A CE do leite de cada quarto, determinada em laboratório no condutímetro, apresentou valores médios 5,11 mS/cm ( $\pm 0,366$ ), 5,31 mS/cm ( $\pm 0,362$ ) e 5,61 mS/cm ( $\pm 0,800$ ), em função dos resultados obtidos na sala de ordenha com o aparelho portátil: luz verde (V), luzes verde/encarnada (VE) e luz encarnada (E), respectivamente. Da análise comparativa destes resultados, constatamos que o valor médio correspondente ao E (5,61 mS/cm  $\pm 0,800$ ) foi significativamente maior do que para os quartos que apresentaram uma baixa e média CE do leite ( $p < 0,05$ ).

As concentrações dos iões (catiões e aniões) como Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> do leite são os principais determinantes da CE do leite (Norberg, 2005; Rodrigues, 1998b). Em condições normais, estes iões transportados pelas células da glândula mamária a partir do sangue (Santos, 2005), ocorrem em diferentes concentrações no leite, originando valores de CE no leite normal a 25°C que oscilam entre 4,61 e 4,92 mS/cm (Ferreira, 2007; González, 2001) e 4,0 a 5,0 mS/cm (Wong, 1988 citado por Norberg, 2005). Quando medida directamente, a CE apresenta valores mais elevados devido à temperatura do leite (38°C) (Norberg, 2005).

Segundo Rodrigues, (1998b) citando Nielsen *et al.*, (1992), existe uma relação linear positiva entre o aumento da temperatura das amostras do leite e o aumento da CE (0,113 mS/ °C) entre os 15 e os 40°C. O condutímetro de laboratório utilizado neste trabalho faz automaticamente a correcção para a temperatura da solução.

Quando a vaca apresenta mamite, ocorre aumento das concentrações de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> no leite, o que tem como consequência o aumento da CE (Norberg, 2005).

Norberg (2005) refere que Norberg *et al.*, (2004) encontraram valores médios de CE em mS para casos subclínicos e clínicos de mamite 5,75 (±0,04) e 6,73 (±0,06) (p<0,001), respectivamente, enquanto que para vacas sadias a CE do leite encontrada foi 5,3 (±0,03).

No entanto, Santos (2005) refere que a CE apresenta algumas limitações, pois existe variação normal individual entre vacas. Norberg (2005) relata ainda que as infecções causadas por diferentes bactérias podem provocar diferentes alterações ao nível do aumento da CE. Hillerton e Walton (1991) encontraram para o leite de vacas com infecção subclínica por *Staphylococcus aureus*, uma condutividade do leite elevada (7,1 a 7,5 mS/cm), mas para o leite de vacas com infecções subclínicas por *Streptococcus uberis* a condutividade do leite (5,3 a 5,6 mS/cm), não evidenciou aumento.

Relativamente aos valores de CE (mS/cm) e CCS, estes foram menores nas amostras de leite de quartos sadios (V), aumentando gradualmente à medida que surge no aparelho portátil a indicação das cores verde/encarnado (VE) e encarnado (E) (Quadro 3). Foi observado que a CE e a CCS do leite aumentaram de forma directamente proporcional à correspondente variação de cores do aparelho de CE portátil, o que está de acordo com a bibliografia consultada. Teixeira *et al.* (2008) referem que, o aumento da CE do leite é directamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e das CCS. Quando a vaca apresenta mamite ocorre aumento das concentrações de Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> no leite, o que tem como consequência o aumento da CE (Santos, 2005).

Sheldrake *et al.* (1983) encontraram valores que variaram entre 4,5, 5,8 e 6,5 mS/cm, respectivamente, para leite com CCS de 158000, 200000 e 251000 cel/ml. Com

excepção do valor intermédio, os valores extremos são bastante diferentes dos valores por nós determinados.

Quanto ao pH as médias encontradas foram 6,64 ( $\pm 0,101$ ), 6,62 ( $\pm 0,111$ ) e 6,75 ( $\pm 0,128$ ) em função dos resultados da CE obtidos na sala de ordenha: luz verde (V), luzes verde/encarnada (VE) e luz encarnada (E), respectivamente. Contudo, os valores médios correspondentes ao VE foram menores que os outros dois, sendo o valor de pH determinado para o E significativamente mais elevado ( $p < 0,05$ ).

Observou-se que os valores de pH determinados neste trabalho (para luz V e VE) foram idênticos aos valores encontrados por vários autores, que apresentaram valores de pH no leite de vacas sadias entre 6,6 a 6,8 e no leite mamítico 7,0 (Ferreira, 2007; Fonseca e Santos, 2000 citados por Silva, 2005; Santos e Fonseca, 2001; Silva, 1997) podendo o pH atingir 7,5 no leite com características básicas (Silva, 1997). No entanto, uma análise da literatura evidenciou que os valores do pH do leite podem, também, sofrer a influência da temperatura (Ferreira, 2007 citando Pereira, 2001; Silva, 1997).

A CCS, sendo uma expressão directa da severidade do processo inflamatório, é um parâmetro vantajoso para avaliar a relação entre as infecções intramamárias e as alterações na composição do leite (Zecconi, 1995 citado por Tavares, 2003). São aceites como a medida padrão internacional da qualidade do leite (Harmon, 1998 e 2001), quer de um quarto, de uma vaca (amostra composta) ou de um efectivo (Domingues, *et al.*, 2001).

A presença de células somáticas, inicialmente avaliada pelo Teste Californiano de Mamites (TCM), revelou-se positiva em apenas 23,9% dos quartos estudados. Do total de amostras submetidas a este teste 76,1% não apresentaram reacção positiva para mamite. As restantes foram positivas em graus variados (Quadros 4 e 5).

**Quadro 4.** Resultados observados pela aplicação do Teste Californiano de Mamites (TCM) e valores médios da CCS do leite por quarto

	TCM		CCS (cel/ml)
	Nº de amostras	%	(valores médios)
0	134	76,1%	47.239
1 (+)	9	5,1%	234.000
2 (++)	12	6,8%	783.083
3 (+++)	21	11,9%	1.987.524
Total	176	100	

**Quadro 5.** Percentagem de casos positivos e negativos detectados pelo Teste Californiano de Mamites (TCM) por quarto

TCM	Nº de amostras	%
Negativos	134	76,1
Positivos	42	23,9
Total	176	100

Considerando que o TCM tem por base a estimativa do conteúdo de células somáticas (células epiteliais e leucócitos) presentes no leite, onde são estabelecidas classificações referentes ao grau de inflamação da mama, é um teste interpretado subjectivamente devendo ser cautelosamente avaliado.

Os resultados obtidos neste trabalho relativos às amostras de leite por quarto, relacionando os graus do TCM com os valores médios de CCS, constam no Quadro 4. Para um TCM 0 obtido na sala de ordenha correspondeu uma CCS de 47.239 cel/ml e para os TCM 1(+), 2(++) e 3(+++) corresponderam, respectivamente, 234.000, 783.083 e 1.987.524 cel/ml de leite.

Ao determinarmos o coeficiente de correlação de Pearson, verificamos que a variação de CCS está positivamente correlacionada com os graus de TCM ( $r=0,654$ ;  $p<0,001$ ) (Quadro 8).

A CCS é um bom indicador da existência de uma infecção intramamária, quanto maior a CCS maior é a probabilidade de que a vaca esteja contaminada. De uma maneira objectiva, o leite com baixa CCS evidencia a boa saúde do úbere e, conseqüentemente, a

boa qualidade do leite produzido (Santos, 2005). O leite de um quarto infectado apresenta CCS geralmente superiores a 200.000 cel/ml, indicando a ocorrência de mamite subclínica (Santos e Fonseca, 2007 citados por Colla *et al.*, s/d). A maioria dos autores consideram como limite aceitável 200.000 cel/ml para separar vacas não infectadas das infectadas (Tavares, 2003 citando Leslie, 1996). Acima dos 200.000 cel/ml os valores são considerados anormais podendo indicar uma inflamação no úbere (Harmon, 1998 e 2001; Evangelista, 1999; Cerqueira e Ribeiro, 1997; Ribeiro, 1996). Para o controle de leite cru ao nível da recolha a Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária estabelece para a CCS (por ml), no leite de vaca, o valor 400.000 (Ofício-Circular nº 51 /DIS de 04/07/2007 - Anexo 6).

Com base nesta informação, foi elaborado o Quadro 6 no qual obtivemos os seguintes resultados.

**Quadro 6.** Médias e percentagem de células somáticas do leite por quarto e seus correspondentes intervalos de CCS (cel/ml)

CCS x10 <sup>3</sup> cel/ml	Nº de amostras	CCS (cel/ml) (valores médios)	%
< 200	140	35.936	79,6
201 a 400	11	311,636	6,3
> 400	25	2.044.480	14,1
Total	176	338.472	100

Da contagem electrónica das células somáticas do leite por quarto, observamos, neste estudo, mínimos de 1.000 cel/ml de leite a valores máximos de 7.540.000 cel/ml. A média geral para a CCS obtida foi de 338.472 cel/ml, levando-se em consideração que dos 176 quartos mamários, 36 apresentaram valores superiores a 200.000 cel/ml dos quais 25 quartos correspondem a valores superiores a 400.000 cel/ml (Quadro 6).

## 4.2 Avaliação da repercussão da condutividade eléctrica nos constituintes bioquímicos do leite por quarto

Os resultados obtidos para os constituintes bioquímicos do leite (teores de lactose, gordura, proteína e sólidos totais) em função da classificação da CE medida com o aparelho portátil na sala de ordenha (V - verde; VE - verde/encarnado; E - encarnado) são apresentados no Quadro 7.

**Quadro 7.** Resultados dos teores de lactose, gordura, proteína e sólidos totais do leite dos quartos distribuídos segundo a classificação da CE medida com o aparelho portátil na sala de ordenha (V - verde; VE - verde/encarnado; E - encarnado). Valores expressos em termos médios e  $\pm$  desvio padrão.

CE (portátil)	Nº de amostras	Lactose	Gordura	Proteína	Sólidos Totais
V	55	4,89 <sup>a</sup> $\pm$ 0,192	3,25 <sup>a</sup> $\pm$ 1,023	3,58 <sup>a</sup> $\pm$ 0,438	12,44 <sup>a</sup> $\pm$ 1,315
VE	83	4,75 <sup>a</sup> $\pm$ 0,241	3,10 <sup>a</sup> $\pm$ 0,755	3,67 <sup>a</sup> $\pm$ 0,489	12,25 <sup>a</sup> $\pm$ 0,944
E	37	4,54 <sup>b</sup> $\pm$ 0,579	3,06 <sup>a</sup> $\pm$ 1,169	3,67 <sup>a</sup> $\pm$ 0,590	12,00 <sup>a</sup> $\pm$ 1,637
Total	175	4,75 $\pm$ 0,352	3,14 $\pm$ 0,939	3,64 $\pm$ 0,496	12,26 $\pm$ 1,239

(a) e (b) - notações diferentes na mesma coluna significam  $p < 0,05$ .

Em relação aos parâmetros bioquímicos do leite por quarto, a avaliação dos resultados demonstrou que os teores de gordura, proteína e sólidos totais não apresentaram diferenças estatisticamente significativas por influência dos resultados da CE obtida na sala de ordenha ( $p > 0,05$ ). Para o teor de lactose observou-se que o maior valor corresponde ao V (4,89%  $\pm$  0,192) da CE, sendo acentuado e gradual o decréscimo dos valores médios ao passarmos de uma CE com indicação verde para verde/encarnado (4,75%  $\pm$  0,241) e para encarnado (4,54%  $\pm$  0,579) ( $p < 0,05$ ). Esta situação é confirmada quando relacionamos a lactose com as CE determinada na sala de ordenha e no laboratório  $r = -0,349$  ( $p < 0,001$ ) e  $r = -0,598$  ( $p < 0,001$ ), respectivamente (Quadro 8 e Figura 1).

Durante o quadro clínico de mamite, a lactose diminui devido à menor síntese ocasionada pela destruição do tecido epitelial secretor, à perda de lactose da glândula

para a corrente sanguínea, ao aumento da permeabilidade da membrana e à utilização da lactose pelos agentes patogénicos intramamários (Prada e Silva, 2000 citados por Colla *et al.*, s/d).

No trabalho por nós realizado, obtivemos para a lactose valores médios similares aos referidos por Silva (2005) citando Fonseca e Santos e Philpot e Nickerson (2002) que apresentaram para a lactose do leite normal 4,9% e para o leite com altas CCS 4,4%. Segundo Kitchen (1981) citado por Lima *et al.* (2006), níveis de lactose inferiores a 4,69 e 4,75% podem ser indicativos de mamite no efectivo leiteiro.

Relativamente ao decréscimo registado na percentagem de gordura do leite ( $3,25 \pm 1,023$ ), ( $3,10 \pm 0,755$ ) e ( $3,06 \pm 1,169$ ) ao passarmos de uma CE com indicação verde para verde/encarnado e para encarnado, as médias encontradas não ficaram entre os valores considerados para o leite normal, 3,5% e para o leite com altas CCS 3,2% (Silva, 2005 citando Fonseca e Santos e Philpot e Nickerson, 2002). Porém, Colla *et al.* (s/d) encontraram níveis de gordura que oscilam entre os valores  $3,62 (\pm 0,89)$  e  $4,00 (\pm 0,98)$ . Noro e Gonzalez, (2001) citados por Colla *et al.*, (s/d) descrevem que a gordura sofre maior influência que as outras fracções do leite pela nutrição e condições ambientais. Santos (2005) refere que o aumento do teor de gordura do leite reduz a CE, devido à sua característica de baixa condutividade dos glóbulos de gordura.

Para a proteína bruta do leite observamos apenas o aumento da CE quando passou do verde para verde/encarnado, sem alteração dos restantes valores. Porém, Müller (2002) refere que, embora a concentração de cada tipo de proteína varie acentuadamente, a proteína total do leite tem pouca variação. Segundo Lima *et al.* (2006) a proteína total no leite com altas CCS permanece inalterada ou sofre pequenas alterações. No entanto, modificações do conteúdo proteico aparecem quando surgem os sinais clínicos graves de mamite com diminuição da fracção caseínica da proteína do leite (Schmidt, 1974).

As reduções observadas nos teores de sólidos totais e de gordura bruta do leite ao passarmos de uma CE com indicação verde para verde/encarnado e para encarnado

evidenciam que se trata de um leite com menor rendimento na transformação em queijo ou iogurte ao passar de verde para encarnado. Esta situação coincide com o aumento da CE do leite determinada no laboratório e com a quantidade de células somáticas por ml de leite (Quadro 3), o que está de acordo com a bibliografia consultada. Vários autores referem que, normalmente, existe tendência na redução da concentração de gordura à medida que aumenta a CCS em função do efeito da concentração (Kitchen, 1981; Harmon, 1994; Pereira *et al.*, 1999; Schäellibaum, 2000 citados por Müller, 2002).

Lima *et al.* (2006) refere que um estudo realizado por Picinin (2003), em 31 propriedades leiteiras na Região Metropolitana de Belo Horizonte, demonstrou que quanto maior for a CCS, menores os teores da gordura e sólidos totais do leite. No entanto, no estudo realizado por Lima *et al.* (2006) sobre a qualidade do leite em 13 propriedades rurais do estado de Pernambuco foi observado que houve aumentos no teor de gordura à medida que a CCS aumentava, diferindo assim dos resultados encontrados por Picinin (2003). Lima *et al.* (2006), constataram que os sólidos totais aumentaram à medida que a concentração de células somáticas aumentava, ao considerar médias até 750.000 cel/ml, e diminuíram no intervalo entre 751.000 a 1.000.000 cel/ml.

#### **4.4 Avaliação da correlação entre os constituintes do leite por quarto**

No Quadro 8 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre as variáveis estudadas para o leite de cada quarto mamário.

Os elementos constituintes do leite, com representativo auxílio complementar ao diagnóstico de mamites, apresentaram correlações significativas, tanto positivas como negativas.

**Quadro 8.** Leite do quarto - coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros: condutividade eléctrica (CE), Teste Californiano de Mamites (TCM), contagens de células somáticas (CCS), sólidos totais (ST), lactose e pH.

	<b>TCM</b>	<b>CE (mS/cm)</b>	<b>CCS (cel/ml)</b>	<b>ST (%)</b>	<b>Lactose (%)</b>	<b>pH</b>
<b>CE (portátil)</b>	<b>r = 0,612**</b> <b>p = 0,000</b>	<b>r = 0,339**</b> <b>p = 0,000</b>	<b>r = 0,377**</b> <b>p = 0,000</b>	r = - 0,124 p = 0,101	<b>r = - 0,349**</b> <b>p = 0,000</b>	<b>r = 0,261**</b> <b>p = 0,000</b>
<b>TCM</b>	1	<b>r = 0,247**</b> <b>p = 0,001</b>	<b>r = 0,654**</b> <b>p = 0,000</b>	r = - 0,165* p = 0,029	<b>r = - 0,365**</b> <b>p = 0,000</b>	<b>r = 0,430**</b> <b>p = 0,000</b>
<b>CE (mS/cm)</b>		1	r = 0,176* p = 0,019	<b>r = - 0,466**</b> <b>p = 0,000</b>	<b>r = - 0,598**</b> <b>p = 0,000</b>	r = 0,190* p = 0,011
<b>CCS (cel/ml)</b>			1	r = - 0,105 p = 0,167	r = - 0,187* p = 0,013	<b>r = 0,319**</b> <b>p = 0,004</b>
<b>ST (%)</b>				1	r = 0,144 p = 0,057	<b>r = - 0,261**</b> <b>p = 0,000</b>
<b>Lactose (%)</b>					1	<b>r = - 0,214**</b> <b>p = 0,004</b>

\*\* Significativo p<0,001 e \* Significativo p<0,05

As correlações positivas encontradas entre a condutividade eléctrica do leite de cada quarto, determinada com o aparelho portátil, e os valores obtidos para o TCM (r= 0,612; p<0,001) e para a CCS (r=0,377; p<0,001) indica-nos que o equipamento portátil é fiável para avaliar a sanidade do úbere, o que está em concordância com o referido por Rodrigues (1998b). Segundo este autor, os detectores manuais da CE são mais baratos e, como são portáteis, podem ser utilizados em diferentes estábulos sendo considerados, equipamentos suficientemente eficazes para detectar leite anormal e serem utilizados como alternativa ao TCM.

Porém, os resultados encontrados no trabalho realizado por Nascif Júnior *et al.* (2006) sobre a sensibilidade e especificidade do TCM e da CE do leite de vacas durante a lactação, sugerem que alterações fisiológicas que ocorrem no início e fim da lactação podem interferir significativamente na interpretação dos resultados da TCM e CE. Este problema pode ser minimizado pelo uso de ambos os testes, uma vez que se baseiam em tipos diferentes de resposta inflamatória e, deste modo, os resultados obtidos podem ser mais fiáveis e melhor utilizados na tomada de decisão sobre as medidas sanitárias aplicadas ao efectivo (Nascif Júnior *et al.*, 2006). Ambos são rápidos e fornecem, ao produtor, informação imediata sobre a qualidade do leite (Rodrigues, 1998b).

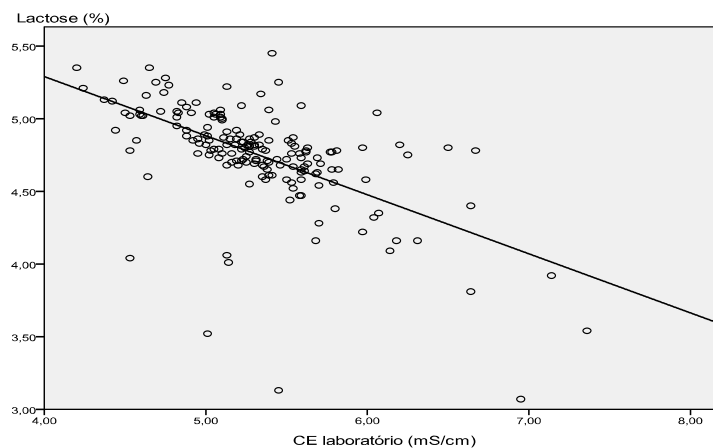
Lucas (2004) ao utilizar o mesmo aparelho portátil da CE na sala de ordenha, obteve correlações positivas muito mais baixas entre a CE o TCM e a CCS ( $r=0,274$ ;  $p<0,01$  e  $r=0,118$ ;  $p<0,05$ ).

Ao relacionarmos a CE determinada com o aparelho portátil e a CE determinada com o condutímetro no laboratório, encontramos uma correlação positiva ( $r=0,339$ ;  $p<0,001$ ), embora mais baixa do que a encontrada entre a CE do aparelho portátil e TCM. Também, foi positiva a correlação observada entre a CE determinada em laboratório e o TCM ( $r=0,247$ ;  $p<0,001$ ).

Como seria de esperar, foram encontradas correlações positivas elevadas entre o TCM e CCS ( $r=0,654$ ;  $p<0,001$ ) e o pH ( $r=0,430$ ;  $p<0,001$ ) do leite de cada quarto. Sendo o TCM um método indirecto que avalia a quantidade de células somáticas do leite (Mota, 2008; Ribeiro Júnior *et. al.*, 2008; Ribeiro, 1996), aumenta de forma directamente proporcional ao aumento da CCS do leite. Para além de detectar a concentração de células somáticas, o TCM também detecta o pH do leite mamítico (Silva, 2005).

Observaram-se correlações negativas significativas entre a CE determinada em laboratório e os teores em ST ( $r=-0,466$ ;  $p<0,001$ ) e lactose ( $r=-0,598$ ;  $p<0,001$ ). Coeficiente de correlação semelhante foi obtido por Lucas (2004) ao relacionar a lactose e a CE ( $r=-0,419$ ;  $p<0,01$ ), confirmando o que consta da bibliografia consultada.

Como referido anteriormente, nos casos de mamite, o teor de lactose diminui devido à menor capacidade de síntese da glândula mamária ocasionada pela destruição do tecido epitelial secretor. A este factor associam-se a perda de lactose da glândula para a corrente sanguínea, devido ao aumento da permeabilidade da membrana, e a utilização da lactose pelos agentes patogénicos intramamários (Prada e Silva, 2000 citados por Colla *et al.*, s/d).



**Figura 2.** Representação gráfica da relação linear entre a condutividade eléctrica (mS/cm) e o teor de lactose (%) do leite [Lactose (%)=-0,406xCE laboratório+6,915 ( $r=-0,598$ ;  $p<0,001$ )].

A relação linear entre a condutividade eléctrica (mS/cm) e o teor de lactose (%) é representada pela equação  $Lactose\ (\%) = -0,406 \times CE_{laboratório} + 6,915$  ( $r=-0,598$ ;  $p<0,001$ ) (Figura 1).

#### 4.4 Avaliação da correlação entre os constituintes do leite por úbere

No Quadro 9 são apresentados os coeficientes de correlação de Pearson ( $r$ ) entre as variáveis estudadas para amostras de leite do úbere dos animais em estudo.

**Quadro 9.** Leite do úbere - coeficientes de correlação de Pearson entre os parâmetros: Teste Californiano de Mamites (TCM), electrocondutividade (CE), pH, lactose, gordura, proteína, sólidos totais (ST), contagens de células somáticas (CCS) e contagens de células somáticas do último contraste leiteiro (CCS\_CL).

	pH	ST (%)	Lactose (%)	CCS_CL	CCS (cel/ml)	CE (mS/cm)
<b>TCM</b>	$r = 0,625^{**}$ $p = 0,000$	$r = -0,145$ $p = 0,346$	$r = -0,119$ $p = 0,442$	$r = 0,564^{**}$ $p = 0,000$	$r = 0,851^{**}$ $p = 0,000$	$r = 0,111$ $p = 0,474$
<b>CE (mS/cm)</b>		$r = -0,576^{**}$ $p = 0,000$	$r = -0,771^{**}$ $p = 0,000$	$r = 0,412^{**}$ $p = 0,005$	$r = 0,257$ $p = 0,093$	1
<b>pH</b>		$r = -0,352^*$ $p = 0,019$	$r = -0,136$ $p = 0,380$	$r = 0,436^{**}$ $p = 0,003$	$r = 0,533^{**}$ $p = 0,000$	$r = 0,104$ $p = 0,503$
<b>ST (%)</b>				$r = -0,405^{**}$ $p = 0,006$	$r = -0,194$ $p = 0,206$	$r = -0,576^{**}$ $p = 0,000$
<b>Lactose (%)</b>					$r = -0,338^*$ $p = 0,025$	$r = -0,771^{**}$ $p = 0,000$
<b>Gordura (%)</b>						$r = -0,378^*$ $p = 0,011$
<b>Proteína (%)</b>						$r = -0,383^*$ $p = 0,010$

\*\* Significativo  $p<0,001$  e \* Significativo  $p<0,05$

De entre as provas utilizadas na avaliação da qualidade do leite, o conteúdo leucocitário representado pela CCS é um bom indicador do estado de saúde glândula mamária (Meirelles *et al.*, 1997 citados por Oliveira, 2003), sendo aquele que mais directamente está relacionado com a incidência de mamites numa exploração (Teixeira *et al.*, 2008). As células somáticas reflectem a resposta imunitária do animal à infecção (Teixeira *et al.*, 2008), constituindo a base das técnicas de diagnóstico indirecto das mamites (Mota, 2008).

Dos vários métodos auxiliares de diagnóstico utilizados para a detecção das formas subclínicas da mamite bovina, o TCM (Califórnia Mastitis Test) tem sido utilizado, com bons resultados, na triagem de animais com contagens altas de células somáticas. Neste estudo, a correlação fortemente positiva encontrada entre TCM e a CCS ( $r=0,851$ ;  $p<0,001$ ) para o leite do úbere fundamenta-se no objectivo de ambos: detectar mamites subclínicas através da avaliação indirecta do número de células somáticas e da contagem electrónica dessas células. Ao efectuar a análise do leite total do úbere Lucas (2004) observou uma correlação semelhante entre estes dois parâmetros ( $r=0,895$ ;  $p<0,01$ ). O TCM também foi positivamente correlacionado com a CCS (Pyörälä, 2003).

Obtivemos correlações positivas significativa entre os pares TCM e pH e CCS e pH, ( $r=0,625$ ;  $p<0,001$  e  $r=0,533$ ;  $p<0,001$ , respectivamente) o que sugere que a valores mais baixos de TCM e CCS, correspondem valores mais baixos de pH e que a valores mais altos de TCM e CCS correspondem valores mais altos de pH.

Como seria de esperar, encontraram-se correlações positivas significativas entre as contagens de células somáticas do último contraste leiteiro (CCL\_CL) e o TCM ( $r=0,564$ ;  $p<0,001$ ), o pH ( $r=0,436$ ;  $p<0,01$ ) e a CE ( $r=0,412$ ;  $p<0,01$ ) (Quadro 9). Estas correlações podem reflectir os efeitos biológicos da inflamação do úbere.

Além do aumento do número de células, a mamite provoca alterações nas concentrações tanto dos componentes principais do leite (proteína, gordura, lactose e sólidos totais) como nos minerais e enzimas (Silva, 2005 e Müller, 2002).

A CE do leite utilizada como auxiliar no diagnóstico da mamite subclínica (Zafalon *et al.*, 2005), baseia-se no princípio de que o aumento da CE do leite é directamente proporcional ao aumento da inflamação do úbere e da CCS, visto que, o aumento dos iões sódio e cloro e a diminuição do cálcio, potássio e outros constituintes do leite são características do leite mamítico (Teixeira *et al.*, 2008). A CE do leite tem uma forte correlação com a CCS (Pyörälä, 2003) e apresenta-se aumentada no leite com mamite, em função da elevada concentração dos iões Na<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (Silva, 2005).

No nosso trabalho detectamos correlações muito baixas entre a CE do leite do úbere e a CCS e o TCM o que está em discordância com o referido por Teixeira, *et al.* (2008) e Pyörälä, (2003). Também Lucas (2004) não encontrou qualquer correlação significativa entre a CE e a CCS quando determinou a CE com um medidor manual como método auxiliar de diagnóstico de mamite subclínica bovina na identificação de quartos mamários doentes. Porém, McDaniel *et al.* (1994) citado por Zafalon *et al.* (2005) relataram correlações positivas, em amostras de leite bovino, entre os resultados obtidos por um detector portátil de CE, a CCS e a infecção por agentes patogénicos. De facto, existe uma grande diversidade na etiologia infecciosa da mamite que faz com que os testes diagnósticos para a mamite subclínica possam ter comportamentos diferentes de acordo com o microrganismo responsável pela doença, devido à maneira como cada quarto mamário responde à infecção e é afectado por determinado agente etiológico (Zafalon *et al.*, 2005). É conhecido que, as bactérias do género *Corynebacterium*, por vezes, causam reduzidas alterações nas características do leite o que impossibilita o diagnóstico pela utilização de métodos auxiliares (Zafalon *et al.*, 2005).

A variação entre animais (Rossing *et al.*, 1987; Okigbo *et al.*, 1984; citados por Rodrigues, 1998b) e as variações ao longo da lactação ou entre lactações (Rossing *et al.*, 1987; Sheldrake *et al.*, 1983 citados por Rodrigues, 1998b) podem provocar alterações no conteúdo do leite em iões, influenciando de forma determinante a sua CE.

A inflamação da glândula mamária reduz a síntese de gordura, caseína e lactose, reduz os teores médios de cálcio e potássio e aumenta a passagem do sangue para o

leite das proteínas do soro sanguíneo, das albuminas, do sódio e do cloro (Dürr *et al.*, 2001) devido a uma deterioração das células secretoras e a uma acumulação do leite na mama, o que se deve à oclusão de certos canais secretores.

A mamite, acompanhada de alta CCS, está associada à diminuição da concentração de lactose no leite (Kitchen, 1981; Harmon, 1994; Pereira *et al.*, 1999; Schäellibaum, 2000 citados por Müller, 2002), também devido à sua passagem para o fluído extracelular e para o sangue, como resultado da destruição parcial do tecido secretor, que constitui uma barreira natural à lactose (Nielen *et al.*, 1992 citados por Rodrigues, 1998b), e/ou devido à redução da biossíntese da lactose causada pela destruição de grande número de células epiteliais (Allen, 1990; Kitchen, 1981 citados por Rodrigues, 1998b). Em concordância com estes autores observamos uma correlação negativa entre a CCS e lactose ( $r=-0,338$ ;  $p<0,05$ ) embora, neste caso, o grau de associação entre estas variáveis seja inferior ao encontrado por Gonzalez *et al.* (2006) ( $r=-0,63657$ ;  $p=0,0001$ ) ao avaliar 10 unidades produtoras de leite da bacia de Pelotas, durante 11 meses do ano. Esta última foi semelhante aos resultados encontrados por Prada e Silva *et al.* (2000) que, trabalhando com a avaliação de 1361 amostras de leite, encontraram cerca de 34% da variação da concentração de lactose, podendo ser um indício do aumento no número de CCS visto que nos casos clínicos, o edema da glândula mamária pode limitar o aporte de glicose à glândula, limitando ainda mais a síntese de lactose (Gonzalez *et al.*, 2006). No entanto, Lucas (2004) também encontrou uma correlação negativa baixa entre a CCS e o teor em lactose do leite ( $r=-0,266$ ;  $p<0,01$ ).

Entre os parâmetros CE do leite do úbere e ST e CE do leite do úbere e lactose obtivemos correlações negativas altamente significativas ( $r=-0,576$ ;  $p<0,001$  e  $r=-0,771$ ;  $p<0,001$ , respectivamente), o que significa que a valores mais altos de ST e lactose correspondem valores mais baixos de CE e vice-versa. No entanto, Lucas (2004) quando relacionou a CE do leite com o teor em lactose obteve uma correlação mais baixa ( $r=-0,465$ ;  $p<0,05$ ), estando estes dados em consonância com os resultados encontrados na relação entre as CCS e a lactose, pois a alteração na concentração dos iões  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  e

CF provoca um aumento da CE do leite mamítico (Rodrigues, 1998b citando Sheldrake *et al.*, 1983; Fernando *et al.*, 1982 e 1981; Kitchen, 1981).

Vale a pena salientar que os resultados por nós obtidos são de extrema importância para a empresa que recolhe o leite das três explorações avaliadas, uma vez que transforma o leite em iogurte e leite acidificado. Para que este processo aconteça com eficiência, o leite deverá ter níveis elevados de lactose, uma vez que a lactose é o substrato utilizado pelas bactérias lácteas para a síntese de ácido láctico e outros ácidos orgânicos, que vão provocar a mais eficiente coagulação da proteína do leite (informação verbal, Rodrigues, 2010b).

Em relação à gordura do leite, verifica-se que quando aumenta o teor de gordura diminui a CE desse leite (Rodrigues, 1998b). A gordura é má condutora pelo que o aumento da fracção lipídica do leite tem um efeito inibidor na CE devido não só à redução do volume total do meio condutor mas também devido ao obstáculo físico que os glóbulos de gordura são, à migração dos iões (Nielen *et al.*, 1992 citado por Rodrigues, 1998b). De acordo com o referido, constatamos que entre a CE do leite do úbere e a gordura a correlação encontrada é, também, significativa e negativa ( $r=-0,378$ ;  $p<0,001$ ). Mudanças no pH e diminuição da gordura afectam a CE (Hamann e Krömker, 1997; Jensen e Knudsen, 1991 citados por Pyörälä, 2003).

Entre a CE do leite do úbere e a proteína bruta obtivemos uma correlação significativa ( $r=-0,383$ ;  $p<0,05$ ), embora neste caso os valores destas variáveis sejam inferiores aos parâmetros, anteriormente, analisados. A proteína total do leite tem pouca variação, mas a concentração de cada tipo de proteína varia acentuadamente (Müller, 2002). Segundo Lima *et al.* (2006) a concentração da proteína no leite com alta CCS permanece inalterada ou sofre pequenas alterações. No entanto, Schmidt (1974) refere que modificações do conteúdo proteico aparecem quando surgem os sinais clínicos graves de mastite.

## 5. Considerações finais

Os resultados do trabalho realizado permitem-nos confirmar o interesse prático do condutímetro portátil, teste de campo utilizado na vacaria da ESACB. O equipamento portátil permite determinar de forma rápida e eficaz a CE do leite, permitindo ao produtor avaliar na sala de ordenha a sanidade da glândula mamária e tomar decisão sobre o que fazer ao leite obtido. Verificou-se que o equipamento acende a luz verde quando a CE é de 5,11 mS/cm ( $\pm 0,366$ ), as luzes verde/encarnada quando a CE do leite é de 5,31 mS/cm ( $\pm 0,362$ ) e a luz encarnada (leite mamítico) quando a CE do leite é de 5,61 mS/cm ( $\pm 0,800$ ) correspondendo, respectivamente, a uma CCS de 37.218, 200.869 e 1.098.676 cel/ml.

Ao analisarmos o leite para os diferentes parâmetros em estudo, verificámos que quando o condutímetro acende a luz encarnada (leite mamítico), os valores da CE, do pH, da CCS e do TL do leite são significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ), quando comparados com leite normal. No entanto, não se encontraram diferenças estatisticamente significativas relativamente à PB, GB e ST, embora para os dois últimos parâmetros tenha havido uma redução acentuada nos valores determinados no leite mamítico.

Determinaram-se correlações positivas significativas ( $p < 0,001$ ) entre os resultados de CE obtidos com o equipamento portátil e o TCM e a CCS e entre o TCM e a CCS. Determinaram-se correlações negativas significativas ( $p < 0,001$ ) entre o TL do leite e os valores de CE portátil e CE laboratório.

Concluiu-se que 85,9% das amostras de leite tinham CCS inferior a 400.000 cel/ml e que o TCM e a CE portátil para determinação da condutividade eléctrica do leite são métodos de campo válidos para avaliar a sanidade do úbere e estimar o efeito da mamite na composição do leite de vaca.

## Referências bibliográficas

- Angélico, J.C. 1998. Contagem de células somáticas no leite e mamites. *Holstein* 11:20-23.
- Angélico, J.C. 1999. Contagem de células somáticas no leite. *Holstein* 16:51-52.
- Barros, L., D.V.M. 2001. Transtornos metabólicos que afectam a qualidade do leite. Pages 46-60 in *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Barth, K., Fischer R. e Worstorff H. 2002. Evaluación de la variación de la conductividad de la leche durante el ordeño para detectar mamitis subclínicas en vacas ordeñadas por sistemas robotizados. Pages 95-102 in *Ordeño robotizado*. Editorial Agrícola Española, Madrid.
- Cerqueira, J. e Ribeiro, J.N. 1997. Estudo das mamites no entre Douro e Minho e Trás-os-Montes, através da análise dos dados do contraste leiteiro. *Holstein* 8:12-18.
- Colla, M.F., Gonzalez, F.H.D., Dürr, J.W., Secchi, P., Valle, S.F., Moro, D.V., Duda, N.C.B. e Scalon, M. (s/d). Influência do número de células somáticas sobre os constituintes do leite e a sua relação com análise clínica sanguínea. Parte da dissertação de mestrado em Ciências Veterinárias do primeiro autor – UFRGS. consultado em Dez. 29, 2009.
- Della Libera, A.M.M.P., Souza, F.N., Blagitz, M.G., Batista, C.F., Garcia, M. e Araújo, W.P. 2009. Avaliação de indicadores inflamatórios no diagnóstico de mamite bovina. *Ciência Animal Brasileira - Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria: Suplemento1:726-73* <http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/7891/5734>
- Dias, R.V.C. 2007. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. *Acta Veterinária Brasília* 1 (1): 23-27.
- Domingues, P.F., Langoni, H., Padovani, C.R., Gonzales, J.A. e Fregonesi, O.B. 2001. Determinação de gordura, proteína, cobre, ferro, manganês, zinco e contagem de

- células somáticas no leite de vacas com mamite subclínica. Semina: Ci. Agrárias, Londrina, 22 (2): 169-174.
- Dürr, J.W., Fontanell, R.S. e Moro D.V. 2001. Determinação laboratorial dos componentes do leite. In Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Evangelista, J. 1999. Meia dúzia de notas sobre o úbere e o leite. Holstein 16:46-48.
- Ferreira, M.A. 2007. Dossiê Técnico. Controle da qualidade físico-químico do leite fluído. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília.
- González, F.H.D. 2001. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. Pages 5-22 in Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- Gonzalez, H.L., Fischer, V., Ribeiro, M.E.R., Júnior, W.S., Gomes, J.F., Fagundes, C.M. e Silva, M.A. 2006. Comparação da qualidade do leite em diferentes sistemas de produção da Bacia Leiteira de Pelotas, R. Bras. Agrociência, Pelota, 12 (4): 475-482.
- Goursaud, J. 1985. O leite de vaca parte I. Pages 31-130 in O Leite: do úbere à fábrica de laticínios. Publicações Europa-América, Mem-Martins.
- Harmon, R.J. 1998. Somatic Cell Counts – Myths vs reality.  
<http://www.ces.uga.edu/Agriculture/asdsvm/Dairyscience/Scs.htm> consultado em Dez. 06, 2009.
- Harmon, R.J. 2001. Somatic cell counts: a primer in National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. <http://www.nmconline.org/articles/sccprimer.pdf>, consultado em Dez. 06, 2009.
- Hillerton, J.E. e Walton, A.W. 1991. Identification of subclinical mastitis with a hand-held electrical conductivity meter. The Veterinary Record. 128 (22): 513-515.

<http://veterinaryrecord.bvapublications.com/cgi/content/abstract/128/22/513>,

consultado em Ago. 24, 2009.

Lima, M.C.G., Sena, M.J., Mota, R.A., Mendes, E.S., Almeida, C.C. e Silva, R.P.P.E. 2006. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região Agreste do Estado de Pernambuco. Arq. Inst. Biol., São Paulo 73 (1): 89-95.

Lucas, M.K.L. 2004. A condutividade eléctrica do leite como forma de detecção de mamites subclínicas. Relatório de Trabalho de Fim de Curso de Engenharia das Ciências Agrárias - Ramo Animal, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco.

Mathieu, H. 1985. O leite de vaca parte I. Pages 167-222 in O Leite: do úbere à fábrica de lacticínios. Publicações Europa-América, Mem-Martins.

Mazzucchelli Jiménez, F. 1996. El ordeño y su rutina. Pages 123-133 in Zootecnia: bases de producción animal, Tomo VII Producción vacuna de leche y carne. Coord. C.Buxadé Carbó. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.

Mol, R.M. e Ouweltjes, W. 2002. Modelo de detección de mamitis en vacas ordeñadas en un sistema automático de ordeño. Pages 103-121 in Ordeño robotizado. Editorial Agrícola Española, Madrid.

Mota, R.A. 2008. Aspectos epidemiológicos, diagnóstico e controle de mamites em caprinos e ovinos. Tecnol. & Ciên. Agropec., João Pessoa, 2 (3): 57-61. [http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca\\_v2\\_n3\\_set/tea08](http://www.emepa.org.br/revista/volumes/tca_v2_n3_set/tea08), consultado em Dez. 29, 2009.

Müller, E.E. 2002. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mamites. Pages 206-217. Anais do II Sul: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil. Editores G.T. dos Santos *et al.* UEM/CCA/DZO - NUPEL, Maringá.

- Nascif Júnior I.A., Nader Filho, A. e Oliveira, J.V. 2006. Sensibilidade e especificidade do California Mastitis Test (CMT) e da Condutividade Eléctrica do leite de vacas durante a lactação. *Veterinaria*, Jaboticabal, 22 (2): 135-137.
- Norberg, E. 2005. Electrical conductivity of milk as a phenotypic and genetic indicator of bovine mastitis: a review. *Livestock Production Science* 96: 129-139.
- Ofício-Circular n.º 51 /DIS de 04/07/2007. Controlo de leite cru ao nível da recolha. Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária. Direcção Geral de Veterinária.
- Ohnstad, I., Hillerton D.E. e Biggadike H. 2002. Una evaluación práctica de las medidas de condutividade de la leche. Pages 124-125 in *Ordeño robotizado*. Editorial Agrícola Española, Madrid.
- Oliveira, A.A.F. 2003. Avaliação da citologia aspirativa e de expressão no diagnóstico da mastite bubalina e pesquisa de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherischia coli* toxigênicas e produtoras de beta-lactamase. Tese para obtenção do título de Doutor em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista-UNESP, Botucatu.
- Pereira, A.R. 1999. Principais doenças que afectam as explorações leiteiras e sua influência no refugo precoce. *Holstein* 16:35-41.
- Pinto, J. 1999. Um bom emblema da rentabilidade económica. *Holstein* 16:50.
- Pyörälä, S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research* 34: 565-578.
- Ribeiro Júnior, E., Silva, M.H., Viegas, S.A.A., Ramalho, E.J., Ribeiro, M.D. e Oliveira, F.C.S. 2008. Califórnia Mastitis Test (CMT) e whiteside como métodos de diagnóstico indirecto da mamite subclínica. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* 9 (4): 680-686.
- Ribeiro, J.N. 1996. Mastite bovina, conceitos, diagnóstico e princípios de controlo na exploração. *Holstein* 4:10-16.
- Ribeiro, J.N. 1997. Avaliação dos factores ligados ao aparecimento de mastites através de um inquérito de campo. *Holstein* 9:12-20.

- Ribeiro, J.N. e Madeira H. 1996. Programa de profilaxia e de controle de mamites em explorações de bovinos leiteiros. *Holstein* 6:36-40.
- Rodrigues, A. 1998a. A vaca leiteira de A a Z. *Holstein* 11:40-48.
- Rodrigues, A.M. 1998b. Condutibilidade eléctrica do leite: um método para detecção de mamites. Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco.
- Santos, M.V. 2005. Uso da condutividade eléctrica do leite para detecção de mamite. Radares técnicos. Milkpoint. 2005. <http://www.milkpoint.com.br/>, consultado em Dez. 09, 2008.
- Santos, M.V. e Fonseca, L.F.L. (s/d). Curso Online: Monitoramento da qualidade do leite. Módulo 1 - Composição e propriedades físico-químicas do leite. Agripoint.
- Schmidt, G.H. 1974. Factores que afectan el rendimiento y composición de la leche. Pages 175-194 in *Biología de la lactación*. Editorial Acribia, Zaragoza.
- Seguya, A.G. e Mansell P.D. 2000. An evaluation of a hand-held electrical resistance meter for the diagnosis of bovine subclinical mastitis in late lactation under Australian conditions. *Aust Vet.* 78 (9): 608-611, September.
- Silva, F.L.A. 2005. Trabalho de Conclusão do Curso de Medicina Veterinária. Área de Sanidade em Bovinicultura Leiteira. Faculdades Integradas, Departamento de Medicina Veterinária, Brasília.
- Silva, P.H.F. 1997. Leite - Aspectos de composição e propriedades. *Química Nova na Escola.* Leite 6, Novembro. <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc06/quimsoc.pdf>, consultado em Dez. 11, 2009.
- Smith, K.L., Hillerton, J.E. e Harmon, R.J. 2001. Guidelines on normal and abnormal raw milk based on somatic cells counts and signs of clinical mastitis. National Mastitis Council. <http://www.nmconline.org/docs/abnmilk.pdf>, consultado em Dez. 06, 2009.

- Such Martí, X. e Peris Miras, S. 1996. La curva de la lactacion. Pages 91-102 in Zootecnia: bases de produccion animal, Tomo VII Produccion vacuna de leche y carne. Coord. C. Buxadé Carbó. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Tavares, M.C.V. 2003. Influência da quantidade de células somáticas na produção e composição química do leite. Relatório de Trabalho de Fim de Curso de Engenharia das Ciências Agrárias - Ramo Animal, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco.
- Teixeira, P., Ribeiro C. e Simões J. 2008. Prevenção de mamites em explorações de bovinos leiteiros. Da teoria à prática. Um ebook para veterinários, produtores e estudantes. <http://www.veterinaria.com.pt/>.
- Zafalon, L.F., Nader Filho, A., Oliveira, J.V. e Resende, F.D. 2005. Comportamento da condutividade eléctrica e do conteúdo de cloretos do leite como métodos auxiliares de diagnóstico na mamite subclínica bovina. Pesquisa Veterinária Brasileira, 25 (3): 159-163.

# **ANEXO I**

Análises de variância e testes de comparações múltiplas para os parâmetros físico-químicos e celulares do leite por quarto

**Análise de variância para a condutividade eléctrica determinada em laboratório, pH e contagens de células somáticas do leite por quarto**

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CE_A	Between Groups	5,488	2	2,744	11,521	,000
	Within Groups	41,207	173	,238		
	Total	46,695	175			
CCS	Between Groups	2,796E13	2	1,398E13	18,910	,000
	Within Groups	1,279E14	173	7,394E11		
	Total	1,559E14	175			
pH	Between Groups	,383	2	,191	15,176	,000
	Within Groups	2,181	173	,013		
	Total	2,564	175			

CE\_A – condutividade eléctrica determinada em laboratório (mS/cm); CCS - contagens de células somáticas

**Teste de comparações múltiplas para a condutividade eléctrica obtida por classes de indicação de cores no condutímetro portátil (1 – V; 2 VE; 3 – E) do leite por quarto**

Teste Tukey

(I) CEn	(J) CEn	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
1	2	-,19931	,08465	,051	-,3994	,0008
	3	-,49812*	,10377	,000	-,7434	-,2528
2	1	,19931	,08465	,051	-,0008	,3994
	3	-,29881*	,09630	,006	-,5265	-,0712
3	1	,49812*	,10377	,000	,2528	,7434
	2	,29881*	,09630	,006	,0712	,5265

\* The mean difference is significant at the 0.05 level

**Teste de comparações múltiplas para a condutividade eléctrica obtida por classes de indicação de cores no condutivímetro portátil (1 – V; 2 VE; 3 – E) do leite por quarto**

Teste Tukey

Dependent Variable	(I) CEn	(J) CEn	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
CE_A	1	2	-,19931	,08465	,051	-,3994	,0008
		3	-,49812*	,10377	,000	-,7434	-,2528
	2	1	,19931	,08465	,051	-,0008	,3994
		3	-,29881*	,09630	,006	-,5265	-,0712
	3	1	,49812*	,10377	,000	,2528	,7434
		2	,29881*	,09630	,006	,0712	,5265
CCS	1	2	-163650,866	149153,063	,517	-516257,87	188956,13
		3	-1,061E6	182834,215	,000	-1493688,80	-629226,18
	2	1	163650,866	149153,063	,517	-188956,13	516257,87
		3	-897806,628*	169667,220	,000	-1298910,35	-496702,90
	3	1	1061457,494*	182834,215	,000	629226,18	1493688,80
		2	897806,628*	169667,220	,000	496702,90	1298910,35
pH	1	2	,0187	,0195	,603	-,027	,065
		3	-,1014*	,0239	,000	-,158	-,045
	2	1	-,0187	,0195	,603	-,065	,027
		3	-,1201*	,0222	,000	-,172	-,068
	3	1	,1014*	,0239	,000	,045	,158
		2	,1201*	,0222	,000	,068	,172

\* The mean difference is significant at the 0.05 level

## **ANEXO II**

Análises de variância e testes de comparações múltiplas para os parâmetros bioquímicos do leite por quarto

**Análise de variância para a lactose, gordura, proteína e sólidos totais do leite por quarto**

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Lac	Between Groups	2,688	2	1,344	12,229	,000
	Within Groups	18,902	172	,110		
	Total	21,590	174			
GB	Between Groups	1,065	2	,533	,601	,550
	Within Groups	152,537	172	,887		
	Total	153,602	174			
PB	Between Groups	,276	2	,138	,557	,574
	Within Groups	42,585	172	,248		
	Total	42,860	174			
ST	Between Groups	4,174	2	2,087	1,364	,258
	Within Groups	263,128	172	1,530		
	Total	267,302	174			

**Teste de comparações múltiplas para a lactose, gordura, proteína e sólidos totais do leite por quarto**

Teste Tukey

Dependent Variable	(I) CEn	(J) CEn	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Lac	1	2	,13863*	,05764	,045	,0024	,2749
		3	,34858*	,07049	,000	,1819	,5152
	2	1	-,13863*	,05764	,045	-,2749	-,0024
		3	,20995*	,06553	,005	,0550	,3649
	3	1	-,34858*	,07049	,000	-,5152	-,1819
		2	-,20995*	,06553	,005	-,3649	-,0550
GB	1	2	,15630	,16374	,607	-,2308	,5434
		3	,18790	,20023	,617	-,2855	,6613
	2	1	-,15630	,16374	,607	-,5434	,2308
		3	,03159	,18615	,984	-,4085	,4717
	3	1	-,18790	,20023	,617	-,6613	,2855
		2	-,03159	,18615	,984	-,4717	,4085
PB	1	2	-,08591	,08651	,582	-,2904	,1186
		3	-,08451	,10580	,704	-,3346	,1656
	2	1	,08591	,08651	,582	-,1186	,2904
		3	,00140	,09836	1,000	-,2311	,2339
	3	1	,08451	,10580	,704	-,1656	,3346
		2	-,00140	,09836	1,000	-,2339	,2311
ST	1	2	,18296	,21505	,672	-,3255	,6914
		3	,43425	,26299	,227	-,1875	1,0560
	2	1	-,18296	,21505	,672	-,6914	,3255
		3	,25129	,24450	,560	-,3267	,8293
	3	1	-,43425	,26299	,227	-1,0560	,1875
		2	-,25129	,24450	,560	-,8293	,3267

\* The mean difference is significant at the 0.05 level.

## **ANEXO III**

Anexo da equação de regressão da Figura 2

**Anexo da equação de regressão da Figura 2**

Equation	Model Summary					Parameter Estimates	
	R Square	F	df1	df2	Sig.	Constant	b1
Linear	,357	96,167	1	173	,000	6,915	-,406

Variável dependente: Lactose; Variável independente: CE laboratório

## **ANEXO IV**

Tabela de correlações de Pearson encontradas entre diferentes parâmetros analisados por quarto

**Tabela de correlações de Pearson encontradas entre diferentes parâmetros analisados por quarto**

		CEportátil	pH	CElaboratório	Lactose	ST	CCS	TCM
CEportátil	Pearson Correlation	1	,261**	,339**	-,349**	-,124	,377**	,612**
	Sig. (2-tailed)		,000	,000	,000	,101	,000	,000
	N	176	176	176	175	175	176	176
pH	Pearson Correlation	,261**	1	,190*	-,214**	-,261**	,319**	,430**
	Sig. (2-tailed)	,000		,011	,004	,000	,000	,000
	N	176	176	176	175	175	176	176
CElaboratório	Pearson Correlation	,339**	,190*	1	-,598**	-,466**	,176*	,247**
	Sig. (2-tailed)	,000	,011		,000	,000	,019	,001
	N	176	176	176	175	175	176	176
Lactose	Pearson Correlation	-,349**	-,214**	-,598**	1	,144	-,187*	-,365**
	Sig. (2-tailed)	,000	,004	,000		,057	,013	,000
	N	175	175	175	175	175	175	175
ST	Pearson Correlation	-,124	-,261**	-,466**	,144	1	-,105	-,165*
	Sig. (2-tailed)	,101	,000	,000	,057		,167	,029
	N	175	175	175	175	175	175	175
CCS	Pearson Correlation	,377**	,319**	,176*	-,187*	-,105	1	,654**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,019	,013	,167		,000
	N	176	176	176	175	175	176	176
TCM	Pearson Correlation	,612**	,430**	,247**	-,365**	-,165*	,654**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,001	,000	,029	,000	
	N	176	176	176	175	175	176	176

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

## **ANEXO V**

Tabela de correlações de Pearson encontradas entre diferentes parâmetros analisados por úbere

**Tabela de correlações de Pearson encontradas entre diferentes parâmetros analisados por úbere**

		TCM	pH	CE_A	GB	PB	Lac	ST	CCS	PLTarde	CCS_CL
TCM	Pearson Correlation	1	,625**	,111	-,169	-,023	-,119	-,145	,851**	,067	,564*
	Sig. (2-tailed)		,000	,474	,273	,883	,442	,346	,000	,663	,000
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
pH	Pearson Correlation	,625**	1	,104	-,354*	-,188	-,136	-,352*	,533**	,355*	,436**
	Sig. (2-tailed)	,000		,503	,019	,220	,380	,019	,000	,018	,003
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
CE_A	Pearson Correlation	,111	,104	1	-,378*	-,383*	-,771**	-,576**	,257	-,032	,412**
	Sig. (2-tailed)	,474	,503		,011	,010	,000	,000	,093	,838	,005
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
GB	Pearson Correlation	-,169	-,354*	-,378*	1	,465**	-,043	,898**	-,112	-,369*	-,294
	Sig. (2-tailed)	,273	,019	,011		,001	,781	,000	,470	,014	,052
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
PB	Pearson Correlation	-,023	-,188	-,383*	,465**	1	,092	,766**	-,122	-,631**	-,311*
	Sig. (2-tailed)	,883	,220	,010	,001		,554	,000	,429	,000	,040
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
Lac	Pearson Correlation	-,119	-,136	-,771**	-,043	,092	1	,203	-,338*	,138	-,340*
	Sig. (2-tailed)	,442	,380	,000	,781	,554		,186	,025	,371	,024
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
ST	Pearson Correlation	-,145	-,352*	-,576**	,898**	,766**	,203	1	-,194	-,501**	-,405**
	Sig. (2-tailed)	,346	,019	,000	,000	,000	,186		,206	,001	,006
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
CCS	Pearson Correlation	,851**	,533**	,257	-,112	-,122	-,338*	-,194	1	,090	,680**
	Sig. (2-tailed)	,000	,000	,093	,470	,429	,025	,206		,561	,000
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
PLTarde	Pearson Correlation	,067	,355*	-,032	-,369*	-,631**	,138	-,501**	,090	1	,163
	Sig. (2-tailed)	,663	,018	,838	,014	,000	,371	,001	,561		,292
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44
CCS_CL	Pearson Correlation	,564**	,436**	,412**	-,294	-,311*	-,340*	-,405**	,680**	,163	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,003	,005	,052	,040	,024	,006	,000	,292	
	N	44	44	44	44	44	44	44	44	44	44

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

# **ANEXO VI**

Ofício-Circular n.º 51 / DIS de 04/07/2007 da  
Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária  
Direcção Geral de Veterinária  
sobre  
“CONTROLO DO LEITE CRÚ AO NÍVEL DA RECOLHA”



**DGV**  
 Direcção Geral  
 de Veterinária  
 Ministério da Agricultura,  
 do Desenvolvimento Rural e das Pescas



Mensagem/Message nº	Data /Date	Nº de páginas (incl. A capa) / Number of pages (incl. cover sheet)
Ofício-Circular n.º 51 /DIS	04/07/07	3

Nome do destinatário / Name of addressee (tipo)	Nº
Ex. mo Senhor: Director de Serviços Veterinários da Região Director Regional de Veterinária da R. A. da Madeira Director de Serviços Veterinários da R. A. dos Açores ANIL – Associação Nacional dos Industriais de Lacticínios FENELAC – Feder. Nacional das Coop. de Leite e Lacticínios	

De / From
Direcção de Serviços de Higiene Pública Veterinária

Assunto: **CONTROLO DE LEITE CRÚ AO NÍVEL DA RECOLHA**

Da análise dos resultados decorrentes da monitorização dos controlos oficiais efectuados ao leite cru ao nível da exploração de produção e recolha nos termos da parte III do capítulo I, da secção IX, do anexo III, do Regulamento (CE) n.º 853/2004, do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril, constatou-se que, não obstante os critérios aplicáveis ao leite cru se encontrarem definidos e sem sofrerem qualquer alteração desde 1993, a taxa de incumprimento face aos valores padrão de Teor de células somáticas e Teor de mesófilos totais é elevada especialmente no tocante aos valores de TCS, verificando-se ainda o total incumprimento em matéria de comunicação, por parte dos operadores económicos, de resultados não conformes à Autoridade Competente.

Estas constatações, foram igualmente verificadas recentemente em visitas a estabelecimentos de recolha de leite em que se verificou que os valores estabelecidos e aplicáveis em matéria de limites para o TCS e TMT não correspondiam aos estabelecidos no Reg. (CE) n.º 853/04 e obviamente também não obedeciam às características do leite padrão definidas no Normativo da DGV, sobre a Classificação do leite ao produtor em conformidade com o disposto no Decreto-Lei n.º 39 / 2003, de 8 de Março.

Nesta conformidade e de forma a obviar a situações como esta ora verificada, bem como a melhorar o nível de cumprimento destes requisitos, vimos informar e esclarecer o seguinte:

- Os operadores económicos que produzam leite ou que procedam á recolha de leite devem assegurar que o leite cru obedeça aos seguintes critérios:

- A- leite cru de vaca:
- Contagem em placas a 30.º C (por ml) .....« 100 000 (1)
  - Contagem de células somáticas (por ml) .....« 400 000 (2)



DGV  
Direcção Geral  
de Veterinária  
Ministério da Agricultura,  
do Desenvolvimento Rural e das Pescas

B- leite cru de ovelha/cabra:

Contagem em placas a 30.º C (por ml) .....« 1 500 000  
.....« 500 000 (a)

(a) no caso de ser destinado ao fabrico de produtos feitos com leite cru.

2- No entanto convém realçar que os critérios para o leite cru recolhido na exploração não são um valor absoluto (como é o caso do critério para o leite utilizado no fabrico de produtos lácteos transformado ao nível do estabelecimento de transformação) mas sim **um valor médio:**

- (1) - média geométrica constatada ao longo de um período de dois meses obtida a partir de um total, de pelo menos, quatro resultados, no caso do teor de germes.
- (2) - média geométrica constatada ao longo de um período de três meses, obtida a partir de um total, de pelo menos três resultados, no caso das células somáticas.

3- Estes critérios correspondem assim a valores de desencadeamento, o que implica que, se estes valores forem excedidos, os operadores responsáveis pela recolha do leite deverão tomar medidas correctivas e notificar a Autoridade Competente.

4- Assim, **os operadores responsáveis pela recolha de leite cru devem**, relativamente ao teor de germes (TMT) e teor de células somáticas (TCS), cumprir com o estabelecido no ponto 5, III, secção IX do Reg. (CE) 853/04 alterado pelo Anexo II do Regulamento (CE) n.º 1 662/2006, de 6 de Novembro, no respeitante a estes aspectos, procedendo do seguinte modo:

4.1 Quando o leite cru não estiver conforme, isto é apresentar valores médios superiores a 100 000 ou 400 000, respectivamente ao teor de germes e células somáticas, devem:

4.1.1. Tomar medidas junto do produtor para corrigir a situação dando-lhe um prazo de 3 meses.

4.1.2. Comunicar estes casos às Direcções de Serviço de Veterinária da Região a que reportam, como Autoridades Competentes Regionais.

5- Se o produtor não corrigir a situação durante este prazo os operadores responsáveis pela recolha devem informar novamente a A.C. referida em 4.1.2., que notificará oficialmente o produtor por mais um período de 3 meses.



**DGV**  
Direção Geral  
de Veterinária

Ministério da Agricultura,  
do Desenvolvimento Rural e das Pescas

- 6- Se o produtor não cumprir, após a primeira notificação, com os critérios no que diz respeito à contagem em placas e/ou contagem de células somáticas a A.C., de acordo com o n.º 2 do Cap. II do anexo IV, do Reg. (CE) n.º 1663/2006 da Comissão, de 6 de Novembro, procederá à suspensão do fornecimento por parte da exploração ou determinará um destino específico para esse leite, até que o produtor prove que os critérios relativos ao leite cru estão novamente a ser cumpridos.
- 7- O incumprimento das disposições acima referidas constitui, sem prejuízo de outra legislação aplicável, nos termos da alínea j) e l) do n.º 1 do artigo 6.º do Decreto-Lei n.º 113/2006, de 12 de Junho, contra-ordenação punível com coima no montante mínimo de 500 € e máximo de 3740 € ou 44 890 €, consoante o agente seja pessoa singular ou colectiva.

Com os melhores cumprimentos.

 Director Geral

(Carlos Agrela Pinheiro)



**MIGUEL OLIVEIRA CARDO**  
DIRECTOR DE SERVIÇOS  
DE HIGIENE PÚBLICA  
VETERINÁRIA

Anexo: Morada dos Serviços Veterinários Regionais

**Direcção de Serviços Veterinários da Região Norte**

Quinta de S. José  
São Pedro de Merelim  
4700-859 BRAGA

Telefone: 253 300 960  
FAX: 253 300 975

**Direcção de Serviços Veterinários da Região Centro**

Avenida Fernão Magalhães, 465  
3000 - 177 COIMBRA

Telefone: 239 800 500  
FAX: 239 833 679

**Direcção de Serviços Veterinários da Região Lisboa e Vale do Tejo**

Rua Joaquim Pedro Monteiro, 8  
2600 - 164 VILA FRANCA DE XIRA

Telefone: 263 286 613  
FAX: 263 286 622

**Direcção de Serviços Veterinários da Região do Alentejo**

Rua D. Isabel n.º 8 - 1  
7 000-880 ÉVORA

Telefone: 266 730 591  
FAX: 266 730 590

**Direcção de Serviços Veterinários da Região do Algarve**

Apartado 282  
8001-404 FARO

Telefone: 289 800 700  
FAX: 289 816 003