

Universidade Federal de Minas Gerais
Conselho de Pós-Graduação
Escola de Veterinária

T636.089 69
M395 m
1988



MAMITE BOVINA EM SISTEMAS CRIATÓRIOS DE MINAS GERAIS
INTERFERÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE NO
DIAGNÓSTICO POR MÉTODOS INDIRETOS

José de Oliveira Mascarenhas Júnior

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITARIA



OK
02/03/09
CC

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

Belo Horizonte
Minas Gerais

1988

José de Oliveira Mascarenhas Júnior

TESE
11395 on
el.

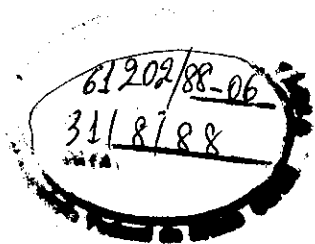


MAMITE BOVINA EM SISTEMAS CRIATÓRIOS DE MINAS GERAIS.
INTERFERÊNCIA DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO LEITE NO
DIAGNÓSTICO POR MÉTODOS INDIRETOS

Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva.

Belo Horizonte
Minas Gerais
1988



VD 2379

Mascarenhas Júnior, José de Oliveira - 1957

M395m Mamite bovina em sistemas criatórios de Minas Gerais. Interferência das características físico-químicas do leite no diagnóstico por métodos indiretos. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1988.

58p. ilust.


Tese, Mestre em Medicina Veterinária.

1. Mamite bovina - diagnóstico, métodos indiretos: 2. Leite, alterações físico-químicas - Mamite bovina. I. Título.


CDD - 636.089.692

Aprovada em 02/05/1988.


PROF. JOSÉ BRITTO FIGUEIREDO


PROF. NIVALDO DA SILVA


PROF. JOSÉ EURICO DE FARIA


PROF. IVERALDO DOS SANTOS DUTRA

À minha esposa Angela,
ao meu filho Luís Felipe,
aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. José Britto Figueiredo, pela valiosa orientação e incentivo, indispensáveis à realização deste trabalho.

Ao Prof. Nivaldo Silva, pela colaboração prestada.

Ao Prof. Rômulo Cerqueira Leite, pela indicação de propriedades onde parte das amostras foram obtidas.

Aos professores do curso, pelos ensinamentos recebidos.

À Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia (FEPE-MVZ), pela ajuda financeira.

À Delegacia Federal de Agricultura em Mato Grosso do Sul e ao Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA), pela oportunidade da realização deste curso.

Ao Conselho Nacional do Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Aos colegas de curso, pela agradável convivência.

Ao colega Nero Dorella Filho, pela valiosa colaboração na correção.

Enfim, a todos que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA DO AUTOR

JOSE DE OLIVEIRA MASCARENHAS JÚNIOR, filho de José de Oliveira Mascarenhas e Maria Imaculada Madeira Mascarenhas, nasceu em Belo Horizonte, Minas Gerais, aos 07 dias do mês de outubro de 1957.

Obteve o diploma de médico veterinário em julho de 1982, pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.

Ingressou na Delegacia Federal de Agricultura em Mato Grosso do Sul, através de concurso público realizado pelo DASP, em janeiro de 1983.

Em fevereiro de 1984, iniciou o curso de Mestrado na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, na área de Medicina Veterinária Preventiva.

Atualmente pertence ao quadro de técnicos do Laboratório Nacional de Referência Animal (LANARA).

RESUMO

O presente trabalho envolveu contagem global de células somáticas, teor de catalase, percentual de cloretos, pesquisa de potencial de hidrogênio e California Mastitis Test em amostras de leite de vacas puras e mestiças de seis criatórios em Minas Gerais onde se praticava ordenha mecânica e/ou manual, em sistema de retiro modificado. Foram colhidas 1413 amostras de leite em 196 vacas de um total de 532 pertencentes aos rebanhos testados, das quais 390 (73,3%) se encontravam em lactação. Os animais foram categorizados em dois grupos: sem infecção mamária, de acordo com teste de Hotis e bacterioscopia negativos, e com infecção através de isolamento e identificação presuntiva de patógenos. Foram isolados a partir do teste de Hotis, 256 microrganismos identificados presuntivamente, como sendo: 208 *Staphylococcus* sp, 06 do gênero *Streptococcus*, e os 42 restantes como bacilares.

A contagem global de células somáticas e o teor de catalase sofreram variações significativas com relação ao estágio da lactação e pelo manejo usualmente adotado no sistema de retiro modificado.

As vacas que eram ordenhadas com bezerro "ao pé", e que após ordenha eram mantidas com os mesmos, apresentaram menores índices de infecção, teor de catalase e contagem de células somáticas. Nos animais do grupo sem infecção foram obtidas as seguintes médias ponderadas na fase intermediária da lacta-

ção: CGCS - 483.257/ml equivalente ao escore linear 5; teor de catalase de 7,51; com relação ao percentual de cloretos, 58,96% das amostras se encontravam dentro de índices normais e potencial de hidrogênio de 6,54. Já nos animais com infecção mamária, os resultados foram os seguintes: CGCS - 547.109/ml equivalente ao escore linear 5; teor de catalase de 9,91; em 57,46% das amostras, os teores de cloreto estavam acima de 0,14% e o pH apresentou o mesmo índice obtido em animais sem infecção, ou seja 6,54.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1. Contagem global de células somáticas e bacterioscopia.....	4
2.2. Catalase.....	8
2.3. Cloretos.....	8
2.4. Potencial de hidrogênio (pH).....	9
2.5. Estudos comparativos dos testes utilizados.....	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
3.1. Rebanhos utilizados.....	12
3.2. Manejo.....	13
3.3. Determinação do número de amostras a serem colhidas.....	15
3.4. Colheita de amostras.....	15
3.5. Métodos.....	16
3.5.1. Contagem global de células somáticas (CGCS) e bacterioscopia.....	16
3.5.2. Determinação do teor de catalase.....	16
3.5.3. Determinação da percentagem de cloretos..	16
3.5.4. Determinação do potencial de hidrogênio (pH)..	17

	Página
3.5.5. Teste de Hotis.....	17
3.5.6. Isolamento e identificação.....	17
3.5.7. California Mastitis Test (C.M.T.).....	18
3.6. Análise estatística.....	18
4. RESULTADOS.....	20
5. DISCUSSÃO.....	23
5.1. Características das propriedades, amostragem e contagem global de células somáticas.....	23
5.2. Catalase.....	29
5.3. Cloretos.....	30
5.4. Potencial de hidrogênio (pH).....	31
5.5. Provas bacteriológicas específicas.....	32
5.6. California mastitis test (CMT).....	34
6. CONCLUSÕES.....	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52



LISTA DE TABELAS

	Página
TABELA I - Propriedades, tipo leiteiro e de ordenha, categorização e amostragem por municípios - Minas Gerais, 1985.....	38
TABELA II - Categorias, propriedades, número de visitas e de vacas trabalhadas e amostragem por fase de lactação - Minas Gerais, 1985.....	39
TABELA III - Contagem global de células somáticas (CGCS) em leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985	40
TABELA IV - Contagem global de células somáticas (CGCS) em leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985.....	41
TABELA V - Percentual de catalase em amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985.....	42
TABELA VI - Percentual de catalase em amostras de leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985.....	43

TABELA VII	- Teor de cloretos em amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985.....	44
TABELA VIII	- Teor de cloretos em amostras de leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985.....	45
TABELA IX	- Potencial de hidrogênio (pH) em amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985	46
TABELA X	- Potencial de hidrogênio (pH) em amostras de leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985.....	47
TABELA XI	- Categoria, fases da lactação, California Mastitis Test (CMT), variações de pH e de contagem global de células somáticas (CGCS) em leite de úberes não infectados. Minas Gerais, 1985.....	48
TABELA XII	- Categoria, fases da lactação, California Mastitis Test (CMT), variações de pH e de contagem global de células somáticas (CGCS) em leite de úberes infectados. Minas Gerais, 1985.....	49
TABELA XIII	- Médias de contagem global de células somáticas (CGCS) e escore linear (EL), obtidos em amostras de leite de vacas sem infecção mamária.....	50

1. INTRODUÇÃO

Quando medidas de controle não são utilizadas ou o são inadequadamente, a mamite é a mais dispendiosa doença dos rebanhos leiteiros (NATZKE, 1981). BLOSSER (1979) declara que os prejuízos decorrentes da mamite, nos USA, no ano de 1976, foram de aproximadamente 1,3 bilhões de dólares, enquanto que JASPER et alii (1982), calculam que as perdas causadas diretamente pela mamite são de US\$ 182 por vaca ou 2,0 bilhões, dados também obtidos nos Estados Unidos da América (USA).

Existem milhares de trabalhos sobre mamite em seus variados tópicos e que vêm sendo utilizados no Brasil, quase sempre, sem qualquer modificação ou adaptação para o meio ambiente a que se destinam. E, em sua quase totalidade, foram realizados em ambientes totalmente diversos e em rebanhos sujeitos a outros tipos de manejo. Desta maneira, pareceu impróprio assimilar, sem adaptação ou verificação da valia, conhecimentos obtidos em condições não similares daquelas onde o presente trabalho seria desenvolvido. Em Minas Gerais predomina o sistema criatório caracterizado por RHOAD (1936), "onde o gado é mantido no pasto o ano inteiro, engordando e dando leite em abundância durante a estação das chuvas, perdendo peso e diminuindo a produção durante o inverno ou estação seca. Não é prática comum a preparação de feno ou de qualquer outro alimento para a seca. Para conveniência do manejo grandes rebanhos são divididos em retiros e distribuídos pela fazenda. Cada retiro

tem uma cobertura simples e um curral. Este gado é trazido duas vezes ao dia, de manhã para a ordenha e à tarde para a separação dos bezerros até a manhã seguinte, quando, um a um, são amarrados às mães, para a ordenha. Então o bezerro é solto com a vaca até a tarde. Desse método de manejo resulta uma relação psicológica tão estreita entre mãe e filho, que as vacas não "descem" o leite na ausência de suas crias".

Sendo o leite produto de secreção fisiológica apresenta variações físico-químicas durante a lactação. Como produto secretório, destinado a nutrição do recém-nascido, a sua composição varia naturalmente de acordo com as necessidades do indivíduo amamentado (ROGIK, 1943). Entretanto, ocorrem várias mudanças na composição do leite como decorrência de processo inflamatório do úbere.

As principais alterações nas características físico-químicas do leite podem ser utilizadas como indicadores do estado de saúde do úbere, isto é, como métodos de diagnóstico. Entre estes, podem ser usados os seguintes: contagem global de células somáticas (CGCS); determinação da percentagem de cloretos; teor da catalase e concentração de ions de hidrogênio (pH).

O número de células somáticas, a percentagem de cloretos e a catalase podem estar aumentados no período colostrai, no final da lactação e nos casos de mamite. O pH do leite é mais ácido na fase de colostro, sendo mais alcalino no final da lactação e nas mamites, exceto quando estas são causadas por bacilares. Nestes casos o pH pode situar-se abaixo de 6,8.

São considerados leites normais aqueles que apresentam CGCS de até 500.000 por ml, pH entre 6,5 e 6,8, percentagem de cloretos entre 0,08 e 0,14 e liberação de oxigênio, ao teste de catalase, de até 10% (SCHALM et alii, 1971).

A verificação das alterações destes valores são, entretanto, métodos indiretos de diagnóstico, obviamente menos eficiente que os diretos os quais são capazes de visualizar o agente causal. Isolamento e identificação de patógeno é, sem dúvida, o método de certeza diagnóstica.

Para os objetivos desta pesquisa, a identificação presuntiva dos agentes microbianos da mamite foi satisfatória. Tem-se organizado esquemas práticos de trabalho, muitos com base na sugestão de MURPHY (1956) que estabeleceu quatro categorias de patógenos, ou seja, *Streptococcus agalactiae*; outros *Streptococcus*; *Staphylococcus* e bacilares, incluindo os coliformes e as *Pseudomonas*.

O presente trabalho objetivou determinar a contagem global de células somáticas (CGCS), o pH, o teor de catalase e a percentagem de cloretos distribuídos de maneira mais aproximada possível dentro das variações fisiológicas da lactação. Os índices obtidos serão correlacionados com a presença de infecção.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Contagem global de células somáticas e bacterioscopia

O encontro de células somáticas no leite é achado considerado normal, dependendo de seu número. Entretanto certos cuidados devem ser observados quando interpretar cada resultado, pois o número de células somáticas pode ser influenciado por fatores como: infecções, estágio da lactação, número de lactações, estresse e problemas nutricionais (CONE, 1944; NATZKE et alii, 1965; CULLEN, 1968; GIESECK & VAN HEEVER, 1974).

PRESCOTT & BREED (1910) idealizaram técnica rápida para avaliar o número de células somáticas existentes no leite.

Ao examinar amostras de leite de 122 vacas consideradas sadias, BREED (1914) encontrou média de 868.000 células/ml. Relatou, ainda, ter obtido leite aparentemente normal de uma teta que apresentava contagens de 54.000.000 leucócitos/ml.

COPELAND & OLSEN (1926) encontraram uma média de 657.000 células por ml em amostras de leite de 40 vacas consideradas sadias.

Trabalhando com amostras de leite de vacas jovens que se encontravam no estágio médio de lactação e com históri-

co negativo de infecção de qualquer grau, CHERRINGTON et alii (1933) utilizando a técnica rápida de contagem de células de PRESCOTT & BREED (1910) e o método colorimétrico de BAKER & VAN SLYKE (1919) para determinar a concentração de ions de hidrogênio, encontraram, em média, 43.000 leucócitos por ml, com o pH variando entre 6,6 a 6,8. Relatam, ainda, que de 758 contagens de leucócitos, aproximadamente, 90% das realizadas em úberes sadios apresentavam menos de 50.000 leucócitos/ml. Já nas amostras provenientes de úberes doentes, apenas 1% continha menos de 1.000.000 leucócitos por ml.

HUCKER & UDALL (1933) afirmaram que contagem celular no leite, superior a 500.000 por ml, sempre indica condição anormal da lactação ou patológica do úbere.

WAYNE & MACY (1933) relataram contagens celulares médias de 1.252.000 por ml, obtidas em 284 amostras de leite consideradas normais. Não descreveram os métodos utilizados para determinação da normalidade das amostras.

BRYAN (1941) considerou patogênicos estreptococos que, à bacterioscopia, apresentem cadeias com mais de seis elementos.

WAITE & BLACKBURN (1957) observaram, em estudos envolvendo 2.186 amostras de leite de animais sadios, provenientes de 14 rebanhos comerciais de gado Ayrshire, pequeno aumento na CGCS a partir do 100º ao 170º dia (160.000 para 210.000) e aumento mais acentuado entre 170º a 210º da lactação (210.000 para 400.000). No mesmo trabalho observaram aumento progressivo na CGCS em relação ao número de lactações.

FIGUEIREDO (1959) trabalhando com amostras de leite de 129 vacas, considerou positivas aquelas que apresentavam contagens de leucócitos acima de 500.000 por ml. No mesmo trabalho obteve uma concordância de 85,18% entre bacterioscopia e o exame bacteriológico nos casos positivos e 83,33% nos casos negativos.

BRAUND & SCHULTZ (1963) estudando os fatores fisiológicos e ambientais que poderiam afetar o CMT em condições de campo, observaram o aumento de reações positivas em animais que

produziam menos de 20 libras (7.465g) de leite/dia, concluindo haver aumento progressivo na CGCS com o avanço da lactação.

SILVA (1977) e FARIA (1981) utilizaram CGCS e bacterioscopia, como forma de diagnóstico da mamite. O primeiro observou concordância entre bacterioscopia e o exame bacteriológico de 85,40% e 85,18%, respectivamente quando positivo e negativo, enquanto o segundo, por não constituir objetivo específico, não correlacionou.

MC DONALD & ANDERSON (1981) observaram média de 6×10^5 células/ml nos primeiros jatos de colostro pós-parto, com diminuição brusca até o 10º dia de lactação onde o número de células encontrado foi menor que 1×10^5 por ml.

HORVATH et alii (1981) trabalhando com amostras de leite obtidas de 52 vacas sadias em meia lactação, obtiveram média de $253,6 \times 10^6$ células por ml, e, em animais que apresentavam infecções por *Streptococcus agalactiae* (43) e *Staphylococcus aureus* (45), o número de células foi superior a 500×10^6 /ml.

JENSEN & EBERHANT (1981) trabalhando com quartos não infectados, encontraram média geométrica de $3,6 \times 10^5$ células por ml no último dia da lactação, considerado por eles como sendo o 45º dia antes do parto, e $2,8 \times 10^5$ células por ml no 6º dia pós-parto.

KENNEDY et alii (1982) realizaram 133.493 contagens de células somáticas em amostras de leite de 27.000 vacas holandesas, com os objetivos de avaliar as influências do meio ambiente atuando sobre os tipos de manejo, bem como do estágio de lactação sobre o número de células, concluíram que as contagens celulares foram menores no mês de maio, e que em dezembro foram obtidos valores máximos. Este achado foi atribuído à mudança de manejo que os animais eram submetidos devido as variações climáticas. Pique máximo na contagem das células foi observado após o parto, declinando-se rapidamente até o 45º dia de lactação e elevando-se gradualmente até o fim da lactação. O período de menor número de células no leite coincidia com o pico da lactação.

DOHOO & MEEK (1982) advertem quanto aos cuidados que devem ser tomados ao se interpretar contagens elevadas de células durante as duas primeiras semanas de lactação, em virtude dos fatores fisiológicos atuantes nesta fase. Relatam ainda, que ao se considerar uma CGCS de 400.000 a 5.000.000 células por ml em amostras obtidas após a fase de colostro como provenientes de úberes saudáveis, corre-se o risco de ter como base resultados falsos negativos. Recomendam a utilização de limiar de 300.000 células para este fim, apesar de se observar contagens de até 600.000 células/ml em leite de vacas livres de infecção mamária, mas com antecedentes de mamite.

ANDREWS et alii (1983) trabalhando com quatro rebanhos comerciais formados por gado mestiço, durante um período de dois anos, observaram na CGCS médias geométricas de 147.000 e 556.000 células/ml em úberes não infectados e infectados, respectivamente.

OLNEY et alii (1983), OLNEY & MITCHELL (1983) e OLNEY & SCOTT (1983) afirmam que flutuações de vácuo, "overmilking" e o ritmo do pulsador das ordenhadeiras mecânicas não irão causar aumento das células somáticas em vacas livres de infecção mamária.

SHELDRAKE et alii (1983) determinando a concentração de células somáticas no leite de 60 vacas, durante 12 meses, observaram, a partir dos dados obtidos, a existência de relação positiva significativa entre a concentração de células somáticas e o número de lactações, como também entre a concentração de células somáticas e o estágio da lactação. Confirmam ainda, que a concentração de células somáticas é alta durante a primeira semana da lactação, diminuindo no período médio e elevando-se novamente no final.

A "National Dairy Herd Improvement Program Policy Board" sugere adoção de métodos logarítmicos capazes de padronizar resultados de CGCS, denominados escores lineares (KIRK, 1984).

KIRK (1984) comenta conceitos sobre CGCS no leite, destacando as vantagens do escore linear, quando da estimação

de perdas na produção de leite.

2.2. Catalase

O teste de catalase foi primeiramente descrito por TROMMSDORFF (1906).

Ao avaliarem o valor do teste de catalase na detecção da mamite, GRATS & NARRAY (1912) afirmam que o mesmo apresenta boa acuidade se combinado com a contagem de leucócitos, estando porém os resultados sujeitos a variações observadas no período de lactação.

ORLA-JENSEN (1921) afirma que o leite proveniente de úberes, de vacas que estão se aproximando do final da lactação ou estão no período de colostro, irão liberar grande quantidade de oxigênio que será facilmente detectado pelo teste de catalase.

HUCKER et alii (1932) afirmam ser o teste de catalase método excessivamente preciso na detecção de vacas que abrigam infecções ativas no úbere.

HUCKER (1933) relata ser o teste de catalase altamente eficiente na detecção de mamas clínicas e sub-clínicas.

Comparando algumas técnicas para determinar o conteúdo de catalase em leite, SPENCER & SIMON (1960) observaram ser a mais prática aquela executada em tubos invertidos com tampa de rosca.

SCHALM et alii (1971) consideram como normais leites que apresentem liberação de oxigênio de até 10%.

Revisando alguns métodos para detecção de leites anormais, GORDON et alii (1980) afirmam que o conteúdo de catalase em leites normais é baixo, isto é, liberação de oxigênio de até 10%, exceto no começo e fim da lactação ou quando o conteúdo de células somáticas é superior a 500.000 por ml.

2.3. Cloretos

Durante os anos de 1932 e 1933, SHARP & STRUBLE (1934)

realizaram titulações de cloretos em 326 amostras de leite de vacas Jersey, Guernsey e Holandesas, observando que os cloretos no leite de vacas sadias declinavam muito rapidamente durante os primeiros dias da lactação, atingindo níveis mínimos, aumentavam levemente até o terço médio da lactação, para então aumentarem rapidamente durante o último mês; marcado aumento nos cloretos do leite era observado quando a produção leiteira diária de vacas Jersey e Guernsey era menor que 6.804 g. Leite de vacas holandesas tendem a ter mais cloretos do que leite de vacas Jersey e Guernsey. A gestação exerce tendência negativa sobre o aumento de cloretos na lactação seguinte.

HUCKER (1933) afirma que todo leite que apresente percentagem de cloretos acima de 0,14 é derivado de úberes infectados.

MERCHANT & PACKER (1945) consideram como normais leites que apresentem conteúdo de cloretos entre 0,08 e 0,14%.

SCHALM et alii (1971) afirmam não existir diferenças significativas entre o conteúdo de cloretos no leite de diferentes raças, fornecendo a média encontrada nas raças holandesas, 0,139%; Ayshires, 0,126%; Jersey, 0,125% e Guernsey, 0,124%.

2.4. Potencial de hidrogênio (pH)

BAKER & VAN SLYKE (1919) utilizaram, pela primeira vez, o teste de bromocresol púrpura como método de diagnóstico de mamite.

Em estudos envolvendo 1019 amostras de leite fresco de 40 vacas, PROUTY (1934) observou média de pH entre 6,3 a 6,8.

JENNESS & PATON (1959) afirmam que leites com pH inferior a 6,5 indicam a presença de colostro ou contaminação bacteriana excessiva.

Amostras de leite que apresentaram valores de pH entre 6,5 a 6,8 foram consideradas normais por SCHALM et alii (1971).

RODRIGUES et alii (1972) obtiveram em vacas primíparas até o quarto dia de colostro, média de pH abaixo de 6,5 (variando de 6,29 no primeiro à 6,49 no quarto dia), do quinto ao 15º dia os valores permaneceram dentro da faixa considerada normal, ou seja, 6,5 a 6,7, valores estabelecidos por JENNES & PATON (1959).

HORVATH et alii (1981) trabalhando com animais Holstein Friesian e Hundarian Red-Pied, sem inflamação da glândula mamária, e com animais infectados por *Streptococcus agalactiae* e *Staphylococcus aureus*, obtiveram as seguintes médias de pH: 6,66, 6,98 e 6,80, respectivamente.

2.5. Estudos comparativos dos testes utilizados

Em estudo comparativo entre a reação de azul de bromotimol, teste de catalase e contagens de leucócitos, realizados em 1019 amostras de leite provenientes de 40 vacas em estágio médio de lactação, considerando como valores normais pH entre 6,3 a 6,8 e liberação de oxigênio no teste de catalase até 1,5cc, PROUTY (1934) obteve as seguintes médias de contagem de leucócitos: 255.000 por ml em 870 amostras de leite provenientes de 31 vacas livres de mamite; 208.000 por ml em 850 leites que reagiram negativamente ao teste de azul de bromotimol, e 151.000/ml em 654 amostras que apresentavam índice de catalase menor que 1,5cc.

Em pesquisa envolvendo 19 vacas em estágio médio de lactação, HALVERSEN et alii (1934) concluíram: contagens de leucócitos acima de 100.000 por ml é bom indicador de infecção de úberes; devido a facilidade de execução e a relativa confiabilidade do teste de catalase, fazem com que este seja recomendado como de rotina na detecção da mamite; que o teste para detecção de cloretos no leite é simples e de fácil interpretação, sendo geralmente positivo nos casos de mamite aguda, mas apresentando resultados contestáveis nos casos de mamite subclínica; que a utilização do teste de concentração de ion de hidrogênio (pH) tem méritos limitados na detecção de infecções



de úbere de vacas, porque a variação existente nas reações, entre leite proveniente de úbere normais e de úberes que apresentam mamite sub-clínica, não têm consistência e nem são bastante amplas para permitir interpretação acurada.

MILLER & KEARNS (1967) comparando o teste de CMT com a CGCS obtiveram os seguintes resultados: CMT negativo em contagens de até 500.000 células por ml houve concordância de 89,9%; CMT positivos a partir de uma cruz, em contagens celulares acima de 500.000, concordância de 83,8%; CMT com resultados de uma, duas e três cruzes concordaram com a pré-graduação estabelecida para as classes em 56,6%; 48,9% e 66,3%, respectivamente.

Utilizando o teste de CMT como método de diagnóstico de mamite bovina, SCHALM et alii (1971) e PEARSON et alii (1974) observaram reações negativas em amostras de leite provenientes de úberes infectados.

Em estudos comparativos entre CMT, contagem de leucócitos, pesquisa de cloretos e exame bacteriológico, com o objetivo de verificar o percentual de concordância entre estes métodos utilizados no diagnóstico da mamite sub-clínica em bovinos, NADER FILHO et alii (1983) afirmam que tendo como referência o exame bacteriológico, a contagem de leucócitos foi a prova que apresentou maior concordância (87,5%), seguido pelo CMT (85,7%) e pesquisa de cloretos (50,0%). No mesmo trabalho observou que a contagem de leucócitos concordou com a pesquisa de teor de cloretos em 55,36%.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Rebanhos utilizados

Os rebanhos utilizados nesta pesquisa foram conceituados como agrupamento de animais submetidos às mesmas condições ambientais e manejo assemelhado. Foram divididos em três categorias, de acordo com o grau de sangue e o tipo de ordenha adotado.

Primeira categoria - animais puros de origem ou puros por cruzamento, de raças européias, submetidos a ordenha mecânica.

Segunda categoria - animais mestiçados com raças leiteiras européias (1/2 sangue ou mais), em ordenha mecânica.

Terceira categoria - animais mestiços, sem grau de mestiçagem determinado, ordenhados manualmente, com bezerro presente ao lado da vaca durante a ordenha ("ao pé").

Os animais da primeira categoria pertencem a Fazenda Jatobá, situada no município de Pedro Leopoldo. Nesta propriedade foram trabalhados 57 animais dos 96 que se encontravam em lactação. O total do rebanho era de 130 fêmeas.

Na segunda categoria foram incluídos animais pertencentes à Fazenda Campestre, localizada no município de Vespasiano. Nesta propriedade, com rebanho de 85 vacas, foram trabalhados 48 animais dos 63 em lactação.

As vacas agrupadas na terceira categoria foram ob-

tidas em quatro propriedades distintas, a seguir mencionadas: Fazenda Natividade, município de Florestal; Fazenda Retiro das Estrelas, município de Prudente de Moraes; Fazenda Soledade, município de Sabará e Fazenda Modelo situada em Pedro Leopoldo, onde foram trabalhados animais que se encontravam em lactação nas proporções respectivas de: 16:75; 11:39; 18:57 e 46:60. O total de vacas destas propriedades era de: 108, 59, 70 e 80 respectivamente, das quais 91:317 foram trabalhadas.

As vacas também foram agrupadas de acordo com o estágio da lactação em que se encontravam, a saber:

a) estágio inicial da lactação, compreendendo a fase de colostro (um a sete dias pós-parto);

b) estágio crescente de produção, o qual, nesta pesquisa, inicia-se após o período de colostro, findando quando é atingida a maior produção diária (pique da lactação);

c) estágio decrescente de produção, iniciando-se após o pique de lactação e estendendo-se até o início do período de secagem (lactação decrescente), e

d) estágio final da lactação equivalente aos presumíveis últimos dias da lactação (período de "secagem", em torno de quatro semanas).

3.2. Manejo

Os 57 animais da primeira categoria eram mantidos estabulados recebendo silagem de capim e milho e, no momento da ordenha, suplementados com ração comercial, de acordo com a produção leiteira. Estes animais produziam, em média, 19,37 litros de leite/dia, em três ordenhas. No momento da ordenha tinham os úberes lavados com água corrente e em seguida enxugados com toalha de pano de uso coletivo, não sendo precedido desinfecção prévia da glândula mamária. Através da coadura do leite, em caneca telada, rotineiramente executada, possíveis alterações físico-químicas do mesmo poderiam ser detectadas. Após a ordenha, as tetas eram imersas em solução desinfetante, à base de Iodoform ou de produtos contendo cloro. Os bezerros e-

ram separados das mães desde o nascimento, após mamarem o colostro, não mantendo contatos físicos ou visuais com as mesmas durante as ordenhas.

As vacas em número de 48 da segunda categoria, mantidas a campo, recebiam no momento da ordenha, suplementação alimentar através de ração comercial, de acordo com a produção. Produziam em média, 11,32 litros leite/dia, em duas ordenhas. A detecção de alterações ligadas ao estado físico do leite e possivelmente indicadores de mamite, a desinfecção das tetas pós-ordenha e o manejo com os bezerros eram realizados da mesma forma que na primeira categoria.

Os animais da terceira categoria, mantidos em regime de campo, não recebiam suplementação alimentar no momento da ordenha. Os bezerros durante a ordenha eram contidos junto às mães, após terem sugado as tetas, para a "descida do leite". Após a ordenha, eram soltos com as vacas, sendo apartados no fim do dia. Nas propriedades em que se realizavam duas ordenhas diárias, os bezerros após a primeira ordenha eram recolhidos em pastos separados até a ordenha realizada na parte da tarde, e então seguiam a rotina das outras propriedades desta categoria. Nenhum teste era adotado para detecção de alterações físico-químicas do leite. A produção média global de leite/dia das 91 vacas desta categoria era de 603.10 l e a média ponderada individual de 6,63 litros/dia, obtidas em épocas diferentes. Por propriedade, a produção média individual foi: Fazenda Natividade, 8,0; Retiro das Estrelas, 10,81; Soledade, 3,30 e Modelo, 6,45 litros; sendo que nas duas primeiras propriedades eram realizadas duas ordenhas e, nas duas últimas, apenas uma.

Em síntese, a pesquisa envolveu seis rebanhos com produção média ponderada individualmente de 11,48 litros/dia e global de 2.250,46 litros leite/dia. Estes dados se referem a 196 vacas e correspondiam a 52,25% das 390 vacas encontradas em lactação. O total de fêmeas existentes nos rebanhos onde a pesquisa se desenvolveu foi de 532, das quais 36,84% foram trabalhadas.

3.3. Determinação do número de amostras a serem colhidas

Para determinar o tamanho da amostra foi utilizado como base de cálculos a variabilidade existente em contagens globais de células somáticas. Os dados utilizados foram obtidos de trabalhos de pesquisa realizados em condições ambientais assemelhadas (FARIA, 1981).

A expressão utilizada para o cálculo é a que se segue, sugerida por LOYOLA (1985)

$$n = \frac{S^2 \cdot Z^2}{L^2}$$

onde:

n = número de amostras

S² = variabilidade

Z² = grau de confiança (5%)

L² = precisão (15%)

As unidades de estudos adotadas foram tetas de vacas, tendo sido trabalhadas 1.413 tetas de 196 animais, dos quais 164 foram testados uma ou mais vezes, com espaço entre colheitas de, no mínimo, oito dias. A distribuição de amostras por categoria e fase de lactação é apresentada na TAB. I.

3.4. Colheita de amostras

Todas as colheitas foram realizadas imediatamente antes da 1ª ordenha, ou, no mínimo, seis horas após. As amostras foram colhidas após lavagem dos úberes com água e detergente, secagem com toalhas de papel, seguida de desinfecção das tetas com solução álcool-iodada a 10%. As amostras da primeira e segunda categorias eram colhidas após a realização do teste de CMT que utilizava os três primeiros jatos de leite. As da terceira categoria após os bezeros sugarem as tetas ("pôjo"). Estas sucções eram controladas de maneira que fossem rápidas e realizadas nas quatro tetas, uniformemente. Tubos de vidro, es-

têreis, de boca larga e com tampa de rosca, foram utilizados nas colheitas. As amostras, em torno de 40 ml, eram enviadas ao laboratório num prazo máximo de duas horas, sem refrigeração.

3.5. Métodos

3.5.1. Contagem global de células somáticas (CGCS) e bacterioscopia

Os esfregaços de leite foram feitos de acordo com a técnica de PRESCOTT & BREED (1910), modificada em sua área de esfregaço por FIGUEIREDO (1957), sendo em seguida coradas pelo método de NEWMAN, modificado por CHARLETT (1954). Os resultados são registrados em número de células somáticas por ml e transformados em escores lineares (KIRK, 1984).

Simultaneamente à CGCS foi realizada bacterioscopia onde se procurava verificar a presença de possíveis agentes patogênicos, registrando-se sua morfologia. Cocos com mais de seis elementos em cada cadeia eram considerados patogênicos (BRYAN, 1941).

3.5.2. Determinação do teor de catalase

A técnica utilizada foi a recomendada por SPENCER & SIMON (1960) onde, em tubos de vidro com tampa de rosca, com capacidade de 15 ml, é adicionado 1 ml de água oxigenada a 3% (10-12 volumes) e 9 ml de leite. Em seguida, adiciona-se água destilada até que esta comece a transbordar. A tampa é colocada algo frouxa e o tubo invertido durante o tempo de incubação, que é de três horas à temperatura ambiente. A leitura é dada em milímetros de O_2 retido no tubo, admitindo-se como positivo o percentual de retenção acima de 10.

3.5.3. Determinação de percentagem de cloretos

A determinação de cloretos presentes nas amostras de

leite foi realizada de acordo com a técnica adotada por MERCHANT & PACKER (1934) onde 1 ml de leite e 5 ml de solução de nitrato de prata (1,3415 g/l), são depositados em tubos com tampa de rosca com capacidade de 10,0 ml. Em seguida adiciona-se duas gotas de solução de cromato de potássio (10g/100ml). Agita-se vigorosamente e procede-se a leitura imediatamente. A troca de coloração de marrom tijolo para amarelo indica positividade.

3.5.4. Determinação do potencial de hidrogênio (pH)

Para este fim, utilizou-se medidor portátil⁽¹⁾ sendo o pH determinado imediatamente após a colheita das amostras, isto é, ainda no campo.

3.5.5. Teste de Hotis

Em tubos de vidro, com tampa de rosca com capacidade de 15 ml, foram distribuídos 0,5 ml de solução de bromocresol púrpura a 0,5%, estéril, a qual se adicionou 9,5 ml de leite, segundo HOTIS & MILLER (1936), MILLER (1943) e padronização adotada por SCHALM (1948). A leitura foi realizada após a incubação a 37°C por 18-24 horas. A viragem da coluna, aliada a presença de colônias bacterianas agrupadas na parede e/ou no fundo do tubo, é interpretada como prova positiva.

3.5.6. Isolamento e identificação

As amostras com resultados estreptococos positivos a prova de Hotis e/ou a de bacterioscopia, eram semeadas em Bacto Azide Blood Agar Base⁽²⁾ enriquecido com 5% de sangue de carneiro desfribinado, onde se fez o isolamento de colônias presuntivas. Em seguida foram submetidas ao teste de CAMP (CHRISTIE et alii, 1944).

(1) - ANALION, mini pH, metro, PM 603

(2) - DIFCO Laboratories-Detroit. Michigan 4822 - USA.

As amostras de leite com resultados positivos à prova de Hotis ou a de bacterioscopia quanto a presença de estafilococos foram semeadas em Bacto Baird Parker Agar Base⁽¹⁾, a crescido de Bacto Ey Tellurite Enrichment⁽¹⁾, para verificação presuntiva de estafilococos coagulase positivos. As colônias características (colônias pretas brilhantes, circulares, convexas, rodeadas por uma zona opaca e outra clara), foram transferidas para Bacto Brain Heart Infusion Broth⁽¹⁾ e incubadas à 37°C, por 24-48 horas. Após o crescimento, procedia-se a prova de coagulase, conforme descrita por CHAPMAN et alii (1941) e adotada por SCHALM (1948).

3.5.7. California Mastitis Test (C.M.T.)

O teste foi realizado antes de todas as colheitas, obedecendo a técnica descrita por SCHALM & NOORLANDER (1957), com registros na ficha geral de controle de dados.

O conjunto de testes aqui descritos possibilita a identificação presuntiva dos patógenos específicos da mamite bovina e se prestam às finalidades deste trabalho.

3.6. Análise estatística

Os dados foram analisados pelo método de quadrados mínimos, com números desiguais nas sub-classes, descritos por HARVEY (1975), com auxílio de computador.

O método matemático utilizado foi o que se segue:

$$Y_{ijkl} = u + A_i + B_j + C_k + AB(ij) + AC(ik) + BC(jk) + b_1 \cdot (x - \bar{x}) + b_2 \cdot (x^2 - \bar{x}^2) + E_{ijkl}$$

Onde:

Y = valor observado para os elementos de estudo (CGCS, catalase, pH, cloretos)

u = média geral

(1) - DIFCO Laboratories-Detroit. Michigan 4822-USA

A_i = efeito da categoria i

B_j = efeito da categoria j

CK = efeito da identificação K

AB = efeito da interação da categoria i x fase j

AC = efeito da interação da categoria i x fase k

b_1 = efeito da regressão linear da produção de leite nas características estudadas

b_2 = efeito da regressão quadrática da produção de leite nas características estudadas

E_{ijkl} = erro aleatório (0,05%).

4. RESULTADOS

As características referentes aos rebanhos trabalhados, número de visitas e número de amostras colhidas são apresentadas nas TAB. I e II.

Os dados obtidos referentes a CGCS em amostras de leite de vacas, sem ou com infecção mamária, são apresentados nas TAB. III e IV, respectivamente.

Os percentuais de catalase obtidos de amostras de leite de vacas, sem ou com infecção mamária, são agrupados respectivamente, nas TAB. V e VI.

Os teores de cloretos apresentados na TAB. VII, referem-se a amostras de leite de vacas, sem infecção mamária, e os apresentados na TAB. VIII referem-se as amostras de vacas com infecção.

As médias de pH em amostras de leite, de vacas sem infecção, estão resumidas na TAB. IX, e as de vacas com infecção na TAB. X.

Os resultados apresentados na TAB. XI mostram a correlação dos graus de reação do CMT com o pH e com CGCS, em amostras de leite onde a bacterioscopia e o teste de Hotis foram negativos.

Na TAB. XII são agrupados os resultados da correlação dos graus de reação do CMT com pH e com CGCS, em amostras de leite, onde o isolamento de patógenos e o teste de Hotis foram positivos.

Com relação às análises de variância realizadas através do método de quadrados mínimos, propostos por HARVEY (1985) observa-se que: a categoria dos animais, a fase de lactação e as interações categoria dos animais x fase da lactação e categoria dos animais x presença de patógenos, influenciaram, significativamente nos resultados da contagem global de células somáticas. A categoria dos animais, a fase da lactação e as interações, categoria dos animais x fase de lactação, fase da lactação x presença de patógenos, apresentaram influência significativa nos resultados da prova de catalase, o que não ocorreu com as variáveis presença de patógenos e a interação categoria dos animais x presença de patógeno. Na prova de cloretos, as variáveis analisadas não demonstraram influenciar, significativamente, os resultados obtidos. Tiveram influência significativa nos resultados do teste de pH, a categoria dos animais e a fase de lactação, o mesmo ocorrendo quanto as interações, categoria dos animais x fase da lactação e categoria dos animais x presença de patógenos. Os resultados foram inversos com relação as variáveis presença de patógenos e a interação x presença de patógeno.

Representação gráfica da correlação das características e métodos de diagnósticos empregados, é apresentada na FIG. 1.

Quanto as provas de isolamento e identificação de patógenos, foram observados os seguintes presumíveis resultados:

- . Teste de Hotis: em 208 amostras as características indicavam microrganismos do gênero *Staphylococcus*; 06 outras se enquadravam no genero *Streptococcus*, enquanto que características próprias de microrganismos do grupo designado como bacilares foram observadas em 42 amostras de leite.

Nos meios seletivos os resultados foram:

- . Agar Baird-Parker - foram isolados *Staphylococcus* sp em 170 amostras de leite, dos 208 positivas ao teste de Hotis.

- . Agar Azide Blood - em todas as amostras Hotis po-

sitivo para *Streptococcus* sp, foi possível isolar o patógeno.

Aos testes confirmatórios realizados, os resultados foram:

. Prova de coagulase - de 170 isolamentos dos 208 testes de Hotis positivos, 129 amostras secretaram estafilocagulase. As demais 41 eram negativas ao teste.

. CAMP teste - leitura negativa na totalidade das amostras de *Streptococcus* sp testadas.

5. DISCUSSÃO

5.1. Características das propriedades, amostragem e contagem global de células somáticas

As propriedades trabalhadas nesta pesquisa foram selecionadas por atenderem a alguns pontos básicos. Assim, os rebanhos se caracterizam por destinarem-se, unicamente, à produção leiteira e o manejo adotado representava, o encontrado em Minas Gerais, onde o sistema de ordenha manual é o mais utilizado.

Nas fases iniciais do trabalho, isto é, nas primeiras visitas às propriedades, os animais envolvidos na pesquisa foram escolhidos ao acaso. Posteriormente, embora a escolha permanecesse aleatória, os animais foram categorizados segundo a fase de lactação. Isto se tornou necessário para construir categorias ou classes de animais aproximadamente equivalentes.

O número de animais trabalhados foi determinado pelo tamanho do rebanho, pelo número de animais em lactação e a disponibilidade de rebanhos para cada categoria, conforme anteriormente descrito em Material e Métodos e TAB. I e II. Dos seis rebanhos pesquisados, quatro se encontravam na terceira categoria que corresponde ao tipo de manejo mais encontrado em Minas Gerais, isto é, as vacas são ordenhadas com bezerras "ao pé", partindo estes com as mães, após a ordenha, para os pas-

tos.

Na bacia leiteira de Belo Horizonte, área onde se desenvolveu o trabalho, existem variações de raça, desde o chamado "pê duro" ao puro de origem, importado. Predominam os mestiços zebu-holandês, denominado comumente gir-holando. O manejo adotado, popularmente chamado "sistema de retiro", mostra amplas variações, desde modernas instalações de ordenha mecânica até a retirada do leite, manualmente, com o bezerro ao pé da vaca, característica clássica do sistema de retiro. A rotina pós-ordenha variava desde a manutenção dos bezerros em abrigos ou pastos separados, sem contato algum com as vacas após a ingestão do colostro, até a liberação de bezerros junto com as mães durante o restante do dia. Onde havia duas ordenhas diárias, realizadas manualmente, os bezerros eram mantidos separados das vacas entre a primeira e segunda ordenhas, sendo então liberados com as mães para pastejo por algumas horas antes da separação, ao anoitecer.

A inexistência de registros adequados, principalmente nas propriedades de ordenha manual onde predominava o sistema de retiro clássico, dificultou a perfeita limitação das fases da lactação. Parte destas informações estão incluídas na TAB. II onde se procurou tornar intelegível esta categorização.

Nas seis propriedades trabalhadas os rebanhos variam de tamanho e pureza de sangue leiteiro (TAB. I). A maior diversificação de manejo ocorreu na primeira categoria, onde os animais eram mantidos estabulados. As variações de manejo, obviamente, influenciam na gênese e desenvolvimento da mamite. Isto ocorreu na presente pesquisa onde as contrastantes formas de manejo influenciavam no estímulo neuro-hormonal da "descida do leite" e na higiene da própria ordenha.

Não foi possível a colheita do número ideal de amostras de leite na fase inicial da lactação em virtude do período de duração desta fase, em torno de sete dias, e às vezes bastante reduzido. Aliado a isto, há que computar as naturais dificuldades de comunicação entre as fazendas e a Escola. De 105 amostras colhidas na fase inicial, somente 11,43% pude-

ram ser obtidas de rebanhos onde se praticava ordenha manual. O sistema de manejo destas propriedades prejudicava a amostragem, principalmente pela falta ou deficiência no registro de cobrições, o que impossibilitava o conhecimento prévio da época mais aproximada do parto.

A presença de microrganismos morfológicamente similares a patógenos habitualmente encontrados infectando a glândula mamária, era registrada em lâminas coradas pela técnica de CHARLETT, a qual possibilita fácil verificação por possuir coloração diferenciada.

Vários pesquisadores têm utilizado a CGCS e bacterioscopia como elementos úteis ao diagnóstico da mamite por possibilitar direta associação do grau de irritação da glândula mamária e a presença de possíveis patógenos. Neste trabalho foi seguido o mesmo critério, anteriormente utilizado entre outros por FIGUEIREDO (1957), SILVA (1977) e FARIA (1981).

As pesquisas desenvolvidas por SILVA (1977) demonstraram que a bacterioscopia é prova que merece bastante confiança, pois encontrou concordância de 85,40% com o exame bacteriológico positivo e 85,18% com resultados bacteriológicos negativos. Também NADER FILHO et alii (1983) registraram concordância de 87,5% entre contagem de leucócitos e exame bacteriológico, confirmando a eficiência desta prova.

As variações das médias obtidas nas CGCS de amostras de leite de vacas que não apresentavam sinais de infecção da glândula mamária (TAB. III) categorizadas frente aos resultados obtidos de CMT, bacterioscopia, teste de Hotis, isolamento e identificação presuntiva, mostram a influência que o tipo leiteiro, o manejo adotado e a fase da lactação exercem sobre as mesmas, concordando com as afirmações de CONE (1944), NATZKE et alii (1965), CULLEN (1968), GIESECK & VAN HEEVER (1974), DOHOO & MEEK (1982) e SHELDRAKE et alii (1983). As menores médias de contagem, em vacas sem infecção mamária foram verificadas com gado mestiço em ordenha manual e submetidos ao sistema de retiro modificado, (terceira categoria), exceto na fase intermediária crescente da lactação onde a menor média foi assi-



nalada na primeira categoria, animais puros de origem ou puros por cruza, em ordenha mecânica (TAB. III). Não foi possível observar com segurança, tais achados. Talvez o aumento crescente da ginástica funcional exercida manualmente, ligada ao aumento da produção, isto é, aumento do esforço na ordenha manual realizado pelo retireiro, possa ser a causa responsável. Tal variação de esforços não ocorre por parte da máquina de ordenha, que, com padrão pré-determinado e não influenciado pelo volume da produção, não transfere qualquer aumento de esforço de ordenha às vacas em fase crescente de produção.

Os trabalhos de OLNEY et alii (1983), OLNEY & MITCHELL (1983) e OLNEY & SCOTT (1983) assinalaram possível superioridade da ordenha mecânica sobre a manual, pois não registraram aumento de células somáticas em vacas livres de infecção mamária quando submetidas a alterações de vácuo ou do ritmo do pulsador da ordenha mecânica e de "overmilking".

Poder-se-ia justificar as menores médias encontradas pela maior permanência do bezerro com a vaca, possibilitando "mamadas" em maior número e intensidade, concorrendo para a eliminação do indesejável leite residual. Este detalhe é importante na gênese e desenvolvimento de infecção da glândula mamária. Os achados revelaram menor índice de infecção na terceira categoria, ou seja, 8,75% de infecção nas tetas testadas, contra 15,32% na primeira e 19,92% na segunda categoria.

Talvez o número relativamente pequeno de amostras testadas possa não expressar a realidade. Sem dúvida, o não acompanhamento das fases clínicas de eventuais infecções mamárias, venha dificultar discussão mais profunda do que realmente ocorre no sistema de retiro.

A contagem elevada de células somáticas encontradas na fase inicial da lactação, da primeira e segunda categorias de animais, confirma as afirmações de DOHOO & MEEK (1982) e KENNEDY et alii (1982). A menor contagem observada na mesma fase da terceira categoria, onde se praticava ordenha manual, era esperada. A presença constante do bezerro com a mãe justifica tais achados, devido a maior drenagem do leite produzido.

Há uma grande variação quanto às médias de células somáticas encontradas em úberes sadios. As médias registradas por vários autores relacionados na TAB. XIII, variam de 50.000 a 1.252.000 para animais sem infecção da glândula mamária, o que mostra a dificuldade de interpretação. Estas dificuldades se acentuam quando pesquisadores como WAYNE & MACY (1933) que registraram a maior contagem celular para animais supostamente com úberes sadios não indicam as técnicas obedecidas.

Os autores arrolados na TAB. XIII, exceto WAYNE & MACY (1933), obtiveram médias inferiores as encontradas na fase intermediária crescente da terceira categoria, formada por animais mestiços em ordenha manual. Todos estes dados se referem a CGCS, obtidos em animais sem infecção da glândula mamária, embora possa ter havido antecedentes de mamite, o que os valorizam bastante.

Com relação a fase intermediária decrescente, a média obtida na primeira categoria ultrapassa o estabelecido pelo único dado categorizado, que foi o de WAIT & BLACKBURN (1957), enquanto que as médias das demais categorias se situam abaixo.

Para padronizar resultados de CGCS obtidos por centros regionais de processamento de dados em amostras de leite, a "National Dairy Improvement Program Policy Board" tem adotado método uniforme de registro, chamado *escore linear*, baseado na transformação dos resultados de CGCS em logarítmicos de base dois. Escores lineares têm relação direta ou interrelação com a produção de leite. Aumento de um dígito na escala do *escore linear* é associado com a duplicação de células somáticas na contagem global e elevação das perdas na ordem de 100 a 16,6%, equivalente às variações dos escores 3 a 8. Cada aumento corresponde a perdas de 680,4 g, leite/dia (KIRK, 1984). Estes dados se referem a vacas de 2 ou mais lactações. Quanto às primeiras as perdas são reduzidas a 50%.

Comparada a outros, a conversão logarítmica sofre menor influência com relação ao grau de irritação do úbere ou quando as contagens se apresentam, anormalmente, muito altas

ou baixas (KIRK, 1984).

A contagem de até 500.000 células somáticas por ml, considerada como limite da normalidade no período de meia lactação, corresponde ao escore linear cinco, cuja faixa se estende de 283.000 a 565.000 células por ml.

Tomando-se a somatória das médias das fases intermediárias crescente e decrescente, ou seja, média global para o período, e comparando-as com achados de outros autores indicados na TAB. XIII, observa-se que as médias e os escores lineares (EL-5) das três categorias podem ser consideradas próximas, exceto quanto a CHERRINGTON et alii (1933) EL-2, PROUTY (1934) EL-4, McDONALD & ANDERSON (1981) EL-3, HORVATH et alii (1981) EL-4 e ANDREWS et alii (1983) EL-4, que assinalaram valores bem inferiores e WAYNE & MACY (1933) EL-7, que obtiveram média maior que o dobro das encontradas neste trabalho. Deve-se salientar que os quatro últimos autores citados na TAB. XIII, utilizaram contagem eletrônica para determinar o número de células presentes no leite, enquanto os demais utilizaram a técnica de PRESCOTT & BREED (1914). Para efeitos práticos, ambas técnicas são aceitáveis.

As afirmações de BRAUND & SCHULTZ (1963) e KENNEDY et alii (1982) são compatíveis com os resultados obtidos na fase final da lactação das três categorias estudadas nesta pesquisa. O aumento acentuado na contagem de células somáticas, quando comparadas com as médias obtidas na fase intermediária, divergem, em muito, dos achados de JENSEN & EBERHANT (1981) que obtiveram média de 360.000 células por ml.

Torna-se necessário maiores estudos para que seja possível estabelecer, em definitivo achados que possam ser considerados normais para as condições brasileiras de ambiente e sistema de manejo. Embora a expressão numérica da amostragem desta pesquisa possa oferecer dúvidas, é inegável o valor como contribuição às futuras definições. É preciso que haja, com urgência, padronização de técnicas para que possa somar, com segurança, resultados de vários pesquisadores.

Os dados contidos na TAB. XIII tornam mais evidente

a importância da CGCS para o diagnóstico rápido e seguro da doença. Embora indireta, sua simplicidade e confiabilidade a torna muito útil à rotina do controle das mastites bovinas. Quando empregada sem critérios, entretanto, pode sofrer interferência significativa quanto a categoria dos animais e fase da lactação conforme resultados da análise de variância realizada.

Com relação aos achados em animais que apresentavam infecção da glândula mamária, sem manifestações (TAB.V), as reações de irritação aferidas pela CGCS são pouco expressivas e atribuídas a convivência entre o organismo hospedeiro, isto é, a glândula mamária e o organismo invasor, o patógeno, uma resultante do longo curso da doença. Deste modo o reduzido número de amostras, 206 em todas as fases da lactação, não permite uma confiável discussão e conclusão deste tópico. Por outro lado, o objetivo principal deste trabalho se liga a animais considerados sem infecção da glândula mamária.

5.2. Catalase

O teste de catalase introduzido por TROMMSDORF (1906) como útil ao diagnóstico da mastite, foi executado segundo técnica de SPENCER & SIMON (1960) considerada a mais prática e eficaz pelos autores e por pesquisas prévias realizadas neste trabalho. A principal vantagem se prende ao uso de tubos de fácil aquisição e não sujeitos a frequentes quebras quando do uso do clássico tubo de fermentação de SMITH.

As médias obtidas, em vacas sem infecção mamária com relação à prova de catalase nas fases inicial e final da lactação das três categorias estudadas (TAB. V), concordam com as afirmações de GRATS & NARRAY (1912), ORLA-JENSEN (1921) e SCHALM et alii (1971), que assinalaram aumentos significativos da enzima nestes períodos. Os resultados encontrados nas fases intermediárias crescente e decrescente das três categorias se enquadram dentro do padrão de normalidade proposto por SCHALM et alii (1971) e GORDON et alii (1980) que é o de 10,00%, com exceção da média encontrada na fase intermediária crescente da

segunda categoria que foi de 12,88% ou seja 2,88% acima do padrão normal. As explicações ou possível arrazoado deste fato têm como base as diferenças de manejo e de raças já anteriormente discutidas.

As menores médias obtidas foram encontradas na terceira categoria, composta por animais mestiços, ordenhados manualmente, em sistema de retiro modificado, exceto na fase intermediária crescente, onde a menor média foi obtida com animais da primeira categoria. Tal fato também foi observado nas médias das CGCS, discutido anteriormente. As baixas médias encontradas nas amostras de leite provenientes de vacas com infecção mamária, colhidas nas fases intermediária crescente da primeira categoria e intermediária decrescente da segunda e terceira categorias (TAB. VI), são contrárias as encontradas por HUCKER et alii (1932), HUCKER (1933), SPENCER & SIMON (1960), SCHALM et alii (1971) e GORDON et alii (1980), o que não ocorreria se fosse comparada à média das duas fases intermediárias.

5.3. Cloretos

SCHALM et alii (1971) afirmam não haver diferenças significativas entre o conteúdo de cloretos no leite entre raças. Os resultados obtidos nesta pesquisa confirmam o afirmado, inclusive com relação a cruzamentos. Tal fato não foi observado por SHARP & STRUBLE (1934) que afirmam que leite de vacas holandesas tendem a ter mais cloretos do que de vacas Jersey e Guernsey. Também não foram encontradas diferenças significativas entre conteúdo de cloretos em leites provenientes de vacas sadias (TAB. VII) e das que presumivelmente apresentavam infecção na glândula mamária (TAB. VIII), fato discordante com os achados de HUCKER, 1933 e MERCHANT & PACKER, 1944.

Ao analisar os resultados das amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite (TAB. VII), pode ser observado que 69,64% dos achados estão dentro da normalidade, considerando as fases inicial e final onde é esperado percentual acima de 0,14 e na fase crescente entre 0,08 e 0,14. Já na fase

intermediária decrescente, com o percentual de cloretos tendendo a aumentar rapidamente e ultrapassando a 0,14%, a média de resultados concordantes com o padrão foi de 47,89%.

Se aplicada somente no período médio da lactação, isto é, após a fase colostrar e até o início da "secagem" do leite, para o qual é indicado, o percentual de eficiência giraria em torno de 57,22.

Com relação ao teor de cloretos em vacas com infecção mamária (TAB. VIII) os dados globais mostram menor concordância com o esperado, isto é, aumento sensível de cloretos ligado a processos inflamatórios da glândula mamária. De 181 reações realizadas em amostras de leite de animais enquadrados nas fases intermediárias crescente e decrescente, somente 77 apresentaram elevações dos teores de cloretos, ou seja, 52,54%.

Assim, dado ao grande número de resultados não concordantes com os padrões de normalidade estabelecidos para o leite bovino, talvez ligado ao método empregado, não dispendioso, prático, porém menos preciso, levam a considerar a prova de cloretos pouco eficiente para detectar a mamite bovina.

5.4. Potencial de hidrogênio (pH)

Nesta pesquisa foi utilizado potenciômetro portátil, digital, para determinação de pH o que, sem dúvida, é bem mais preciso do que a utilização do indicador de bromocresol púrpura introduzido por BAKER & VAN SLYKE (1919) como método de diagnóstico de mamite.

As médias de pH de leite de vacas presumivelmente sem mamite, obtidas na fase inicial da lactação das três categorias estudadas (TAB. IX), concordam com as afirmações de SCHALM et alii (1971) e RODRIGUES et alii (1972) que observaram, no colostro, médias de pH abaixo de 6,5. O restante das médias obtidas nas fases intermediárias (crescente e decrescente) e final das três categorias, em média, também se enquadram dentro da faixa considerada normal para úberes sadios proposto

por JENNES & PATTON (1959), SCHALM et alii (1971) e HORVATH et alii (1981), com exceção das encontradas nas fases intermediárias crescente e decrescente da primeira categoria de animais, formada por vacas P0, em ordenha mecânica, que foi de 6,48, ou seja, 0,02 abaixo do padrão proposto pelos dois autores citados, mas dentro da média proposta por PROUTY (1934) que é de 6,3 a 6,8. As explicações deste achado têm como base as diferenças de manejo e de raças já discutidas. As análises de variância realizadas demonstraram que a categoria de animais e a fase da lactação influenciaram, significativamente, os resultados mas, para efeito prático, trabalhando com apenas uma casa decimal, esta influência é minimizada.

As médias de pH obtidas nas amostras de leite provenientes de vacas com infecção mamária (TAB. X) situam-se dentro dos padrões de normalidades já citados, fato confirmado pelas análises de variância realizadas. Assim, a presença de patógenos não influenciaram, significativamente, os resultados, o que concorda com as observações de HALVERSEN et alii (1934) e contraria as afirmações dos autores mencionados anteriormente. A amostragem era composta de animais sadios clinicamente, isto é, sem infecção ou com infecção inaparente representada por mamites sub-clínicas. Este fato aliado ao não acompanhamento da evolução clínica da doença, talvez justifique a discrepância encontrada nos achados.

5.5. Provas bacteriológicas específicas

Como prova de triagem foi utilizado o teste de Hottis, pela sua fácil execução e interpretação, aliado a grande eficácia, 85 a 90%, na detecção de *Streptococcus agalactiae* e alta frequência para outros estreptococos e *Staphylococcus aureus*, considerados, os principais causadores de mamite (MILLER, 1943).

Segundo interpretação dos achados, o material era plaqueado em agar "Baird-Parker" e agar "Azide Blood" onde colônias indicativas de *Staphylococcus* e *Streptococcus* eram iso-

ladas e, posteriormente, submetidas a testes presuntivos de patogenicidade.

A identificação completa de patógenos, além de onerosa, exige maior período de tempo, o que para mamite não é aconselhável. O conjunto de técnicas empregadas nesta pesquisa, sem dúvida, oferecia efetivas possibilidades de identificação presuntiva. Neste conjunto, as provas de CAMP e coagulase se destacam pela confirmada alta eficiência.

Deste modo, os objetivos principais desta pesquisa poderiam ser alcançados sem a necessidade de identificação completa dos germes patogênicos encontrados nas amostras de leite trabalhadas. A verificação da presença de possíveis patógenos, foi utilizada com objetivo de classificar a glândula mamária como infectada, sem contudo, indicar mamite clínica.

De 256 amostras positivas ao teste de Hotis, interpretado segundo SCHALM (1948), 208 apresentaram características culturais de microrganismos do gênero *Staphylococcus*. Em 170 oportunidades a semeadura em meios seletivos confirmou a indicação correspondendo ao significativo percentual de concórdância de 81,73, bem próximo dos 80% obtidos por SCHALM (1948).

A prova de coagulase, foi utilizada para demonstrar a patogenicidade dos *Staphylococcus* sp isolados, SCHALM (1948) em 590 amostras consideradas *Staphylococcus* patogênicos, obteve a coagulação de plasma de coelho em 588 (99,66%). Nesta pesquisa foi constatada leitura positiva em 129 dos 170 isolamentos, ou seja, 75,88% de amostras secretando estafilocoagulase. A diferença percentual de 23,78 se prende ao material utilizado. O autor acima citado testou *Staphylococcus* já classificados como patogênicos, enquanto nesta pesquisa foram trabalhados *Staphylococcus* sp, sem conhecimento prévio do grau de patogenicidade. Sem dúvida, SCHALM (1948) comprovou a eficiência da prova de coagulase em identificar estafilococos patogênicos, o que torna os 75,88% aqui encontrados altamente confiáveis.

Ainda das 256 amostras positivas ao teste de Hotis, em seis oportunidades foram isolados microrganismos que se enquadravam no gênero *Streptococcus*. Ao teste de CAMP, todas a-

presentaram resultados negativos e, portanto, não se tratavam de *Streptococcus agalactiae*.

Microrganismos com características próprias do grupo designado como bacilares, indicados pelo teste de Hotis, e, posteriormente, com morfologia confirmada através de bacterioscopia, foram isolados em 42 amostras de leite. Não foi realizado identificação complementar por não se enquadrar nos objetivos desta pesquisa.

5.6. California Mastitis Test (CMT)

Como as reações de CMT são baseadas na presença de ácidos nucleicos liberados por células eventualmente presentes no leite, é bastante útil e importante comparar seus resultados com a CGCS nos dois grupos de animais classificados como infectados ou não, dentro dos padrões obedecidos nesta pesquisa. Assim aos testes de CMT realizados nas três categorias de animais considerados negativos frente a prova de Hotis e bacterioscopia (TAB. XI), foi assinalado 108 concordâncias entre as CGCS e as 116 provas classificadas como CMT positivo, ou seja, funcionando em 93,10% dos casos. As provas de CMT com resultados negativos, isto é, leitura sem nenhuma modificação ou com ligeira turvação denominada traços, concordam em 88,35% dos casos com a CGCS com interpretação negativa, isto é, contagem celular entre 46.528 a 210.321 elementos por ml.

Este estudo se refere a fase intermediária da lactação para o qual o CMT, como método indireto, é indicado. Nesta fase as médias ponderadas, 185.298; 745.724; 1.357.133 e 9.979.999, referentes as leituras de CMT negativo, uma cruz, duas cruces e três cruces respectivamente, estão dentro do esperado.

Com relação a TAB. XI onde se reuniu animais considerados com infecção mamária de acordo com resultados do teste de Hotis positivo, confirmado pelo isolamento de patógenos, o CMT com leitura negativa ou traços concordou com a CGCS em 100,00% dos casos. Esta concordância ocorreu com CGCS entre

50.000 a 317.424 células por ml. Desde que os animais foram considerados infectados, não era esperado leituras de CMT negativas e contagens tão baixas, o que pode ser atribuído ao estágio sub-clínico da doença quando ocorre tolerância quase perfeita por parte do hospedeiro. SCHALM et alii (1971) observaram reações de CMT negativas em amostras onde foram isolados organismos patogênicos. Esclarecem que tal fato foi constatado em úbere em início de infecção onde havia somente contaminação no leite dos primeiros jatos. PEARSON et alii (1974) também observaram reações de CMT negativas em amostras provenientes de úberes infectados.

Já com as leituras de CMT consideradas positivas, uma a três cruzes, a concordância com o padrão proposto foi de 89,13%, ou seja, boa percentagem de concordância entre as provas quando a CGCS variou de 433.333 a 13.000.000 por ml.

MILLER & KEARNS (1967) obtiveram concordância de 89,9% entre CMT negativo e CGCS de até 500.000 e concordância de 83,8% entre CMT positivo e contagem acima de 500.000 células por ml. Estes resultados estão muito próximos aos encontrados nesta pesquisa embora os autores não façam referências quanto a presença ou não de infecção na glândula mamária.

Em síntese, nesta pesquisa, foi observada maior concordância de resultados de CMT positivos com relação a CGCS no grupo de vacas consideradas sem infecção, havendo diferença de 3,97% entre os dois testes em relação ao grupo de animais com infecção. Os resultados de CMT negativos concordam com a CGCS em 88,35% no grupo de animais sem infecção e 100,00% nos considerados infectados, classificados dentro do padrão estabelecido. Desta maneira, o "status" com ou sem infecção pouco influenciou nos resultados ou o fez de modo inesperado.

Ao final, como provas indiretas, CMT e CGCS são confiáveis e devem ser consideradas úteis ao controle da mamite, com vantagem para a última por permitir a visualização do grau de irritabilidade do úbere.

6. CONCLUSÕES

Com base nos achados desta pesquisa, as seguintes conclusões foram obtidas:

. A contagem global de células somáticas e o teor de catalase, como métodos de diagnósticos da mamite, sofrem variações com relação ao estágio da lactação e ao manejo.

Os achados referentes ao pH foram influenciados pela categoria dos animais, agrupados segundo o grau de sangue e manejo e, ainda, pela fase da lactação. Esta influência foi comprovada estatisticamente, mas não é relevante na prática.

. Em relação aos resultados de percentagem de cloretos, não houve influência quanto a fase da lactação, categoria de animais e presença de patógenos. O percentual de concordância com o grau de infecção do úbere, muito baixo (57,22%), desaconselha o uso desta prova como indicadora de mamite bovina.

. Animais que apresentavam infecção mamária, sem manifestações clínicas, não demonstraram alterações significativas com relação à CGCS, teor de catalase, percentual de cloretos, pH e CMT. Assim, estes métodos indiretos devem ser interpretados com cautela.

. As vacas que após ordenha eram reunidas com os bezeros, uma das características do manejo em sistema de retiro clássico, apresentaram menores CGCS, teor de catalase e índices de infecção.

. Como contribuição a futuras pesquisas em sistemas de retiro, são relacionados como índices normais médios os seguintes valores ponderados, obtidos em animais sem infecção e na fase intermediária da lactação: CGCS-483.257 por ml; pH-6,54; teor de catalase - 7,51%, enquanto a prova de cloretos - 57,22% das amostras se enquadravam dentro dos padrões.

TABELA I - Propriedades, tipo leiteiro e de ordenha, categorização e amostragem por municípios - Minas Gerais, 1985

Municípios	Propriedades visitadas				Rebanhos			Trabalhados			
	Nome	Tipo leiteiro	Tipo ordenha	Categoria	Produção leiteira média	Número de vacas					
						Total	Em lactação	Testadas	Retestadas		
Floresta	Natividade	Mestiço	Mn.	Terceira	8,001	108	75	16	-	-	
P.Leopoldo	Jatobá	PO e PC	Mc.	Primeira	19,371	130	96	57	55	55	
P.Leopoldo	Modelo	Mestiço	Mn.	Terceira	6,451	80	60	46	19	19	
Prudente de Moraes	Retiro das Estrelas	Mestiço	Mn.	Terceira	10,811	59	39	11	-	-	
Sabarã	Soledade	Mestiço	Mn.	Terceira	3,301	70	57	18	-	-	
Vespasiano	Campestre	Mestiço e PC	Mc.	Segunda	11,321	85	63	48	90	90	
Total e médias ponderadas						9,871	532	390	196	164	164

Mn.: ordenha manual em retiro modificado

Mc.: Ordenha mecânica em sala de ordenha

TABELA II - Categorias, propriedades, número de visitas e de vacas trabalhadas e amostragem por fase de lactação - Minas Gerais, 1985

Categoria	Nome da Fazenda	Número de amostras por fase de lactação			Soma
		Visitas Vacas Inicial	Intermediária crescente decrescente	Final	
Primeira	Jatobá	07	132	132	448
Segunda	Campestre	10	162	142	526
Terceira	Natividade	01	03	08	63
Terceira	Modelo	04	128	84	260
Terceira	R. Estrelas	01	28	08	44
Terceira	Soledade	01	-	32	72
Total		23	453	446	1.413

TABELA III - Contagem global de células somáticas (CGCS) em leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Número de vacas			Número de colheitas e médias de contagem							
	Número de vacas	Número de vacas	Número de vacas	Fase da lactação							
				Inicial		Intermediária		Final			
				Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média		
Primeira	01	57	387	12	100.000.000	102	378.431	148	475.947	125	4.330.147
Segunda	01	48	398	81	12.423.636	86	574.425	109	399.245	122	4.297.727
Terceira	04	91	386	12	958.333	133	875.438	119	154.949	122	671.646
Total e Médias Ponderadas	06	196	1.171	105	21.122.041	321	636.865	376	352.119	369	3.109.842

TABELA IV - Contagem global de células somáticas (CGCS) em leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Número de vacas			Número de colheitas e médias de contagem							
	Número	Número de vacas	Número tetas trabalhadas	Fase da lactação							
				Inicial		Intermediária		Final			
				Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média		
Primeira	01	57	70	-	-	34	400.000	26	313.725	10	25.118.750
Segunda	01	48	99	08	1.400.000	59	402.976	22	1.044.792	10	13.525.000
Terceira	04	91	37	-	-	18	417.500	10	1.642.857	09	5.875.000
Total e Médias Ponderadas	06	196	206	08	1.400.000	111	404.419	58	820.187	29	15.148.706

TABELA V - Percentual de catalase em amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Rebanhos trabalhados				Número de colheitas e percentual médio						
	Número	Número de vacas	Número tetas	Número trabalhadas	Fase da Lactação			Intermediária			
					crescente		decrecente		Final		
	Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	
Primeira	01	57	395	12	66,82	109	4,04	149	7,98	125	15,24
Segunda	01	48	398	81	32,65	86	12,88	109	8,66	122	17,50
Terceira	04	91	394	12	110,91	138	5,26	122	7,78	122	12,78
Total e Médias Ponderadas	06	196	1.187	105	45,50	333	6,83	380	8,11	369	15,17

TABELA VI - Percentual de catalase em amostras de leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Rebanhos trabalhados			Número de colheitas e percentual médio							
	Número	Número de vacas	Número tetas trabalhadas	Fase da lactação			Final				
				Intermediária			Final				
				Inicial	crescente	decrecente					
			Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	
Primeira	01	57	70	-	4,12	26	10,75	10	26,62		
Segunda	01	48	111	08	2,94	71	12,18	22	8,19	10	22,69
Terceira	04	91	37	-	18	12,99	10	9,61	09	35,77	
Total e Médias Ponderadas	06	196	218	08	2,94	123	10,07	58	9,58	29	28,10

TABELA VII - Teor de cloretos em amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Rebanhos trabalhados			Número de amostras segundo teor de cloretos											
	Número	Número de vacas	Número tetas	Fase da lactação						Final					
				Intermediária			Final			Intermediária			Final		
				crescente		decrecente	crescente		decrecente	crescente		decrecente	crescente		decrecente
A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B				
Primeira	01	57	395	12	-	40	69	80	69	82	43				
Segunda	01	48	398	60	21	34	52	65	44	100	22				
Terceira	04	91	394	08	04	33	105	53	69	74	48				
Total	06	196	1.187	80	25	107	226	198	182	256	113				

A: acima de 0,14%; B: entre 0,08 e 0,14%

TABELA VIII - Teor de cloretos em amostras de leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Rebanhos trabalhos				Número de amostras segundo teor de cloretos									
	Número	Número de vacas	Número tetas trabalhadas	Número de	Fase da lactação									
					Inicial				Intermediária				Final	
					A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Primeira	01	57	70	-	17	17	10	16	10	16	07	03		
Segunda	01	48	111	03	05	26	45	09	13	10	-	-		
Terceira	04	91	37	-	10	08	05	05	05	07	02	02		
Total	06	196	218	03	05	53	70	24	34	24	24	05		

A: acima de 0,14% B: entre 0,08 e 0,14%

TABELA IX - Potencial de hidrogênio (pH) em amostras de leite de vacas presumivelmente sem mamite, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Rebanhos trabalhados			Número de colheitas e percentual médio							
	Número	Número de vacas	Número tetas trabalhadas	Fase da lactação			Final				
				Inicial	Intermediária		Final				
				crescente	decrescente	crescente	decrescente	crescente	decrescente		
Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média		
Primeira	01	57	395	12	6,27	109	6,48	149	6,48	125	6,60
Segunda	01	48	398	81	6,43	86	6,59	109	6,58	122	6,60
Terceira	04	91	394	12	6,27	138	6,58	122	6,59	122	6,59
Total e Médias ponderadas	06	196	1.187	105	6,39	333	6,55	380	6,54	369	6,60

TABELA X - Potencial de hidrogênio (pH) em amostras de leite de vacas com infecção mamária, por fase de lactação. Minas Gerais, 1985

Categoria	Rebanhos trabalhados				Número de colheitas e percentual médio						
	Número	Número de vacas	Número tetas	Número trabalhadas	Fase da lactação						
					Inicial		Intermediária		Final		
					Nº	Média	Nº	Média	Nº	Média	
Primeira	01	57	70	-	-	34	6,46	26	6,48	10	6,70
Segunda	01	48	111	08	6,43	71	6,56	22	6,58	10	6,60
Terceira	04	91	37	-	-	18	6,64	10	6,62	09	6,58
Total e Médias Ponderadas	06	196	218	08	6,43	123	6,54	58	6,54	29	6,63

TABELA XI - Categoria, fases da lactação, fases da lactação, califórnia mastitis test (CMT), variações de pH e de contagem global de células somáticas (CGCS), em leite de úberes não infectados. Minas Gerais, 1985

Categoria	Fases da lactação	Teste de Hotis negativo e Bacterioscopia negativa																	
		C.M.T. (-)						C.M.T.(++)						C.M.T.(+++)					
		Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS			
Primeira	IC	102	6,48	189.706	05	6,49	887.500	02	6,40	1.850.000	01	6,44	4.100.000						
	ID	120	6,49	184.188	22	6,45	948.333	07	6,44	2.108.333	02	6,45	6.150.000						
	F	72	6,58	337.500	19	6,61	5.922.727	15	6,63	11.175.000	19	6,70	17.062.962						
Segunda	IC	70	6,58	544.666	04	6,56	1.450.000	06	6,56	970.000	06	6,61	316.666						
	ID	72	6,57	210.321	31	6,58	568.137	05	6,57	1.050.000	01	6,71	800.000						
	F	51	6,55	140.740	45	6,63	1.624.999	18	6,65	22.006.666	06	6,62	1.016.666						
Terceira	IC	132	6,57	46.528	02	6,62	250.000	02	6,38	700.000	04	6,51	30.250.000						
	ID	105	6,60	99.999	07	6,64	533.333	03	6,54	1.000.000	06	6,60	9.916.666						
	F	87	6,57	83.036	12	6,65	694.444	06	6,61	2.216.666	16	6,75	28.422.916						
Total e médias ponderadas		811	6,55	185.654	147	6,58	1.679.839	64	6,58	9.546.457	61	6,66	16.142.014						

IC: intermediária crescente; ID: intermediária decrescente; F: final

TABELA XII - Categoria, fases da lactação, califórnia mastitis test (CMT), variações de pH e de contagem global de células somáticas (CGCS), em leite de úberes infectados. Minas Gerais, 1985





Categoria	Fase da lactação	Teste de Hotis positivo e Isolamento de patógenos positivo															
		C.M.T. (-)				C.M.T. (+)				C.M.T. (++)				C.M.T. (+++)			
		Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	Nº	pH	CGCS	
Primeira	IC	29	6,46	110.784	04	6,47	716.666	-	-	-	01	6,44	13.000.000				
	ID	22	6,49	152.222	04	6,38	975.000	-	-	-	-	-	-				
	F	07	6,61	190.000	01	6,55	-	-	-	02	7,01	100.000.000					
Segunda	IC	50	6,54	317.424	04	6,57	700.000	02	6,59	350.000	07	6,63	2.800.000				
	ID	15	6,56	204.545	04	6,67	1.750.000	01	6,53	1.200.000	02	6,54	4.850.000				
	F	04	6,60	150.000	02	6,52	850.000	03	6,62	2.266.666	-	-	-				
Terceira	IC	05	6,65	50.000	03	6,68	433.333	04	6,62	800.000	04	6,73	2.783.333				
	ID	04	6,63	150.000	03	6,55	600.000	-	-	-	03	6,68	4.566.666				
	F	07	6,53	66.666	-	-	-	-	-	-	02	6,71	23.300.000				
Total em dias ponderadas		143	6,53	201.033	25	6,55	854.666	10	6,60	1.190.000	21	6,68	14.939.681				

IC: intermediária crescente; ID: intermediária decrescente; F: final

TABELA XIII - Médias de contagem global de células somáticas (CGCS) e escore linear (EL), obtidos em amostras de leite de vacas sem infecção mamária

Fase da lactação	Inicial		Intermediária				Final			
	Pesquisador		não determinada		crescente		decrecente			
	CGCS	EL	CGCS	EL	CGCS	EL	CGCS	EL		
BREED (1914)			868.000	6						
COPELAND & OLSEN (1926)			657.000	6						
CHERRINGTON et alii (1933)			50.000	2						
HUCKER & UDALL (1933)			500.000	5						
WAYNE & MACY (1933)			1.252.000*	7						
PROUTY (1934)			225.000	4						
WAITE & BLACKBURN (1957)					400.000	5				
FIGUEIREDO (1959)			500.000	5						
HORVATH et alii (1981)			253.600	4						
MCDONALD & ANDERSON(1981)**	600.000	6	100.000	3						
JENSEN & EBERHANT (1981)**	280.000	4					360.000	5		
DOHOO & MEEK (1982)**			300.000	5						
ANDREWS et alii (1983)**			600.000***	6						
			147.000	4						
NESTA PESQUISA										
Primeira categoria	100.000.000	9	427.189	5	378.431	5	475.497	5	4.330.147	8
Segunda categoria	12.423.636	9	486.835	5	574.835	6	399.245	5	4.297.727	8
Terceira categoria	958.333	6	515.193	5	875.438	6	154.949	4	671.646	6

* leite considerado normal; ** contagem eletrônica; *** animais com antecedentes de mamite

	C.G.C.S.	Catalase	Cloretos	pH
Categoria de animais				
Fase de lactação				
Presença de patógenos				
Categoria de animais X Fase de lactação				
Presença de patógenos				
Categoria de animais X Presença de patógenos				
Presença de patógenos				
Fase de lactação X Presença de patógenos				



- Variáveis que influenciaram significativamente.



- Variáveis que não influenciaram significativamente.

FIGURA 1 - Correlação entre as características e métodos de diagnósticos empregados.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREWS, R.J.; KITCHEN, B.J.; KWEE, W.S.; DUNCALFE, F. Relationship between individual cow somatic cell counts and the mastitis infection status of the udder. *Aust. Journal of Dairy Tech.*, Victoria, 38(2):71-74, 1983.
- BAKER, J.C. & VAN SLYKE, L.L. A method for the preliminary detection of abnormal milk based on the hidrogen ion concentration. *Journal Biol. Chem.*, 40:357, 1919 apud SCHALM, O. W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. Bovine mastitis. Philadelphia, *Lea & Febiger*, 1971. 360p.
- BLOSSER, T.H. Economic losses from and the national research program on mastitis in the United States. *Journal of Dairy Sci.* Champaign, 62(1):119-27, 1979.
- BRAUND, D.G. & SCHULTZ, H. Physiological an environmental factors affecting the California Mastitis Test under field conditions. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 46(3): 197-203 , 1963.
- BREED, R.S. Cells in milk derived from the udder s.1., N.Y., *Agric. Exp. Station*, 1914. p. 139-200 (Bull 380) apud CHERRINGTON et alii. The leucocyte content of milk as correlated with bacterial count and hidrogenion concentration for the detections of mastitis. *Journal of Dairy Sci.*, Cham^upaign, 16(1):59-67, 1933.

- BRYAN, C.S. The microscopic detection on bacterial defects of milk. *Vet. Med.*, Prague, 36(8):415-19, 1941.
- CHAPMAN, G.H.; BERENS, C.; STILES, M.H. The coagulation of plasma by Staphylococci. *Journal of Bacteriol.* Baltimore, 41(4):431-39, 1941.
- CHARLETT, S.M. An improved staining methods for the direct microscopical counting of bacterial in milk. *Dairy Industry*, London, 19(8):652-53, 1954.
- CHERRINGTON, V.R.; HANSEN, H.C.; HALVERSON, W.V. The leucocyte content of milk as correlated with bacterial count and hydrogen ion concentration for the detection of mastitis. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 16(1):59-67, 1933.
- CONE, J.F. The effect of machine milking upon the leucocyte count and the chloride content of milk. *Journal of Dairy Sci.*, 27(3):215-24, 1944.
- CHRISTIE, R.; ATKINS, N.E.; MUNCH - PETERSEN, E. A note on a lytic phenomenon shown by group B. Streptococci. *Aust. Journal Exp. Biol. Med. Sci.*, Adelaide, 22:197, 1944 apud SCHALM, O.W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. *Bovine Mastitis*. Philadelphia, Lea & Febiger, 1971. 360p.
- COPELAND, L.H. & OLSEN, T.M. The bacterial flora of normal cows udder. s.1., *Agric. Exp. Station*, 1928 (Bull 218) apud CHERRINGTON, V.A. et alii. The leucocyte content of milk as correlated with bacterial count and hidrogen ion concentration of mastitis. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 16(1) : 59-67, 1933.
- CULLEN, G.A. Cell counts throughout lactation. Physiological variation in the cell count of cows milk during lactation. *Vet. Rec.*, London, 83(5):125-28, 1968.
- DOHOO, J.R. & MEEK, A.H. Somatic cell count in bovine milk. *Can. Vet. Journal*, Ottawa, 23(4):119-25, 1982.
- FARIA, J.E. *Isolamento de microrganismos potencialmente patogēnos de leite, pele e meatos galactóforos externos de te-*



- tas de bovinos e de mãos de ordenhadores.* Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1981. 55p (Tese, Mestrado).
- FIGUEIREDO, J.B. *A comparasion on the California Mastitis Test with the other commonly employed diagnostic test.* E. LANSING, Michigan State Univeristy, 1957. 47p. (Tese, M.S.).
- FIGUEIREDO, J.B. *Estudo sobre a mamite bovina no município de Betim - Minas Gerais* (Comparação dos métodos de diagnóstico, frequência e sensibilidade dos germes isolados). Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1959. 70p. (Tese Cátedra).
- GIESECKE, W.H.; VAN DEN HEEVER, L.H. The diagnosis of bovine mastitis with particular reference to subclinical mastitis: a criterial review of relevant literature. *Onderstepoort Journal of Vet. Res.*, Pretoria, 41(4):169-211, 1974.
- GORDON, W.A.; MORRIS, H.A.; PACKARD, V. Methods to detect abnormal milk. A review *Journal of Food Prot.* Ames Iowa, 43: 58-64, 1980.
- GRATZ, O. & NARRAY, A. Comparative investigations in regart to the utility of the catalase, reductase and leucocyte test for detecting mastitis milk. *Milchw. Zentbl.*, Germany, 41: 225-232, 257-263, 289-303. 1912 apud PROUTY, C.C. A comparasion of the leucocyte count, the bromthymol and the catalase content of freshly drawn milk. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 17(2):75-81, 1934.
- HALVERSEN, W.V.; CHERRINGTON, V.A.; HANSEN, H.C. Laboratory methods for the detection of milk from cows infected with mastitis. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 17(4): 281-96, 1934.
- HARVEY, W.R. *Least-square analysis of data unequal ubelasse.* Washington, U.S., Departament of Agriculture, 1975.
- HORVATH, G.; MOHAMED, A.I.; VARGA, J.; SZEMEREDI, G.; QUARINI, L. Effect of subclinical mastitis on milk composition. *Acta Vet. Acad. Sci. um Hung.*, 29(3):271-76, 1981.

- HOTIS, R.P. & MILLER, W.T. A simple method fo detecting masti-
tis streptococci in milk. U.S. *Dept. Agr. Circ.* 400,7, 1936.
- HUCKER, G.J. The laboratory detection of bovine mastitis. s.l.,
N.Y. *Agric. Exp. Estation*, 1933. 24p. (Tech Bull. 626).
- HUCKER, G.J. & UDALL, D.H. Relation between the presence of
fibrotic tissue in udder and Streptococci on cells freshly
draw milk. *Cornell Vet.*, Ithaca, 23:32-39, 1933.
- HUCKER, G.J. TRUDELL, F.; JENNINES, W.S. *Mastitis: the inci-
dence and detection of sub-clinical streptococcus mastitis.*
s.l., N.Y. *Agric. Exp. Station*, 1932 (Tech Bull, 199).
- JASPER, O.E.; McDONALD, J.S.; MOCHRIE, R.D.; PHIL POT, W. N.,
FARNSWORT, R.J.; SPENCER, S.B. Bovine mastitis research ne-
eds, finding and sources of support. Page 184 in *Proc. Annu.
Mtg. Natl. Mastites council*, 1982.
- JENNESS, R. & PATTON, S. *Principles of Dairy Chemistry.* Lon-
don, Chapman & Hall, 1959, 446p.
- JENSEN, D.L. & EBERHANT, R.J. Total and diferential cell counts se-
cretions of the nonlactating bovine mammary gland. *Am. Jour-
nal Vet. Res.*, Schaumberg, 42(5):743-47, 1981.
- KENNEDY, B.W.; SETHAT, M.S.; TONG, A.K.W.; MOLEY, J.E.; DOWNEY, B.R. Envi-
ronmental factors influencig test, day somatic cell counts in holsteins.
Journal of Dairy Sci., Champaign, 65(2):275-80, 1982.
- KIRK, J.H. Programmable Calculator Program for Linear Somatic Cell Scores
to Estimate Mastitis Yied Losses. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 67:
441-43, 1984.
- KIRK, J.H. Somatic Cells in Milk: Current concepts. *Compedium
on continuing education*, Michigan, 6(4):237-243, 1984.
- LOYOLA, C.R. Comunicação pessoal, 1985 (Escola de Veterinária
da UFMG, Av. Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, MG).
- McDONALD, J.S. & ANDERSON, A.S. Total and differential somatic
cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glan-
ds. The periparum period. *Am. Journal Vet. Res.*, Schaumburg,
42(8):1360-68, 1981.

- MERCHANT, I.A. & PARKER, R.A. *Handbook for the entiology diagnostics and control of infections bovine mastitis*. Minneapolis. Burgess Pu. Co. 1945. 66p.
- MILLER, W.T. *The hotis test for the detection of mastitis bacteria*. Washington, U.S. Depart. Agric., 1943 (Circ.672).
- MILLER, D.D. & KEARMS. J.V. Effectiveness of californian mastitis test as a measurement of the leucocyte content of quarter samples of milk. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 50: 683-86, 1967.
- MUCH, H. Biochem, Z. XIV 143 apud CRUICKSHANK, R. Staphylocoagulase. *Journal of Pathol. and Bacteriol.* Edinburgh, 65: 295-303, 1937.
- MURPHY, J.M. Mastitis - The struggle for understanding. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 39(12):1768-73, 1956.
- NADER DILHO, A.; SCHOCKEN - ITURRINO, R.P.; FUKUDA, S.P. Estudo comparativo entre californian mastitis test (CMT), contagem leucocitária, pesquisa do teor de cloretos e exame bacteriológico no diagnóstico de mamite sub-clínica em bovinos. In: *ENCONTRO DE PESQUISA VETERINÁRIA*. 8., Jaboticabal, 1983. Jaboticabal, FCAV/UNESP, 1983. p.101 (Resumo).
- NATZKE, R.P. Elements of mastitis control. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 64(6):1431-32, 1981.
- NATZKE, R.P.; SCHULTZ, L.H.; BARR, G.R.; HOLTMANN, W.B. Variation in mastitis screening tests and milk composition of udder quarters under normal conditions and following omission of a milk. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 48(10):1295-99, 1965.
- OLNEY, G.R. & MITCHELL, R.K. Effect of milking machine factors the somatic cell count of milk from cows free of intramammary infection. II Vacuum level and overmilking. *Journal of Dairy Res.*, London, 50(2):141-48, 1983.
- OLNEY, G.R. & SCOTT, G.W. Effect of milking machine factors on the somatic cell count of milk from cows free of intramammary

- infection. III. Pulsator rate. *Journal of Dairy Res.*, London, 50(2):149-51, 1983.
- OLNEY, R.G.; SCOTT, G.W.; MITCHELL, R.K. Effect of milking machine factors on the somatic cell count of milk from cows free of intramammary infection. I. Vaccum fluctuations. *Journal of Dairy Res.*, London, 50(2):135-40, 1983.
- ORLA - JENSEN. Dairy Bacteriology. Philadelphia, Blakiston's 1921 apud HALVERSEN, W.V.; CHERRINGTON, V.A.; HANSEN, H. C. Laboratory methods for the detection of milk from cows infected with mastitis. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 17(4):281-96, 1934.
- PERSON, J.K.L. & GREER, D.O. Relationship between somatic cell counts and bacterial infections of the udder. *Vet. Rec.*, London, 95(12):252-56, 1974.
- PRESCOTT, S.C. & BREED, R.S. The determination of the number of body cells in milk by a direct method. *Journal Infect. Dis.*, Chicago, 7(5):632-40, 1910.
- PROUTY, C.C. A comparison of the leucocyte count the brom ty mol blue reaction and the catalase content of freshly drawn milk. *Journal Dairy Sci.*, Champaign, 17(2)75-81, 1934.
- RHOAD, A.O. A produção do gado leiteiro sob o sistema de re-tiros. *Revista do Departamento Nacional da Produção Animal M.A.* Rio de Janeiro, 6(1ª a 6ª):231-53, 1936.
- RODRIGUES, R.; RUBINICH, J.; CAVALCANTI, S.S. Observações sobre a composição do colostro em vacas primíparas. *Arq. Esc. Vet. UFMG*, Belo Horizonte, 24(2):119-24, 1972.
- ROGIK, F.A. Análises físico-químicas do leite proveniente de rebanhos bovinos, localizados em diversas regiões do Estado de São Paulo. *Bol. Ind. Anim.*, Nova Odessa, 6(3):59-65, 1943.
- SCHALM, O.W. Hotis test reactions produced by toxicogenic, coagulase-positive staphylococci. *Am. Journal Vet. Res.*, Schaumburg, 9:11-19, 1948.

- SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of california mastitis test. *Journal Am. Vet. Med. Ass.*, Chicago, 130(5):199-204, 1957.
- SCHALM, O.W.; CARROL, E.J.; JAIN, N.C. *Bovine mastitis*. Philadelphia. Lea & Febiger, 1971. 360p.
- SHARP, P.F. & STRUBLE, E.B. Period of lactation and direct titratable chloride value of milk. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 18(7):527-38, 1935.
- SHELDRAKE, R.F.; HOARE, R.J.; MCGREGOR, G.D. Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 66(3)542-47, 1983.
- SILVA, N. *Mamite no rebanho bovino da Escola Média de Agricultura de Florestal - UFV-MG. Controle através de desinfecção pós-ordenha, e do uso do Trimethoprim sulfametoxazole. II. Frequência e etiologia*. Belo Horizonte, Escola de Veterinária - UFMG, 1977. 81p. (Tese, Mestrado).
- SPENCER, G.R. & SIMON, S. The catalase, california, and cell count test for detecting abnormalites in milk. *Am. Journal Vet. Res.*, Schaumburg, 21(83):578-84, 1960.
- TROMMSDORFF, R. apud LITTLE, R.B. & PLASTRIDGE, W.N. *Bovine Mastitis*. A Symposium. New York, Mc Graw-Hil Book Company, Inc., 1946. 546p.
- WAITE, R. & BLACKBURN, D.S. The chemical composition and the cell count of milk. *Journal of Dairy Res.*, London, 24(3): 328-39, 1957.
- WAYNE, R. & MACY, H. The effect of various methods for drying up cows on the bacterial and cell content of milk. *Journal of Dairy Sci.*, Champaign, 16(1):79-91, 1933.