

Universidade Federal de Minas Gerais

Conselho de Pós Graduação

Escola de Veterinária



AVALIAÇÃO DO LEITE TIPO B PELA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM REBANHOS COM MAMITE SUBCLÍNICA

Moisés Granzoti

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITARIA



NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

Belo Horizonte

Minas Gerais

1985

55/03/91/65

T637  
6705a.  
1985

Moisés Granzoti



AVALIAÇÃO DO LEITE TIPO B PELA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM REBANHOS COM MAMITE SUBCLÍNICA

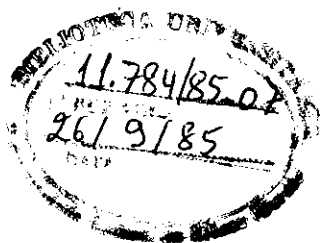
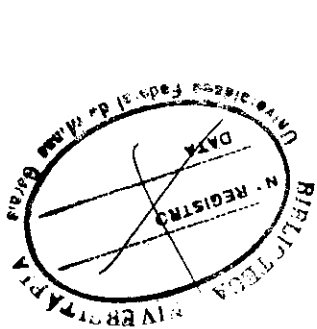
Tese apresentada à Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área : Epidemiologia

Belo Horizonte

Minas Gerais

1985



MG/174300

G765a Granzoti, Moisés, 1951- -  
Avaliação do leite tipo B pela contagem de células somáticas em rebanhos com mamite subclínica. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da UFMG, 1985.  
67p. ilustr.

Tese, Mestre em Medicina Veterinária.  
1. Leite tipo B - avaliação qualitativa.  
2. Mamite subclínica - identificação - contagem de células somáticas.  
I. Título.

CD - 614.32

Tese aprovada em : 25 / 06 / 85

Banca examinadora:



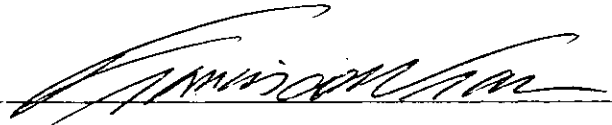
---

Prof. JEROME LANGENEGGER



---

Prof. EDSON CLEMENTE DOS SANTOS



---

Prof. FRANCISCO CECÍLIO VIANA

À minha família:

Papai (in memoriam)

Mamãe, Elza, José Luiz e

Carlos Antonio.

GRATIDÃO.

À HELEN, mulher que  
Deus me deu, "ossos  
dos meus ossos e  
carne da minha carne"  
(Gen. 2:23). E  
aos filhos FERNANDO  
e RENATO.

A Deus ...

... toda a Glória.



## AGRADECIMENTOS

Aos colegas Pedro Moacir, Bemvindo, Benedito, Ângela, Ciro, Ernesto, Pedro Lúcio, Thêa, Priscila e Lígia, pela amizade que nos une nascida do convívio durante o curso.

Aos colegas Iveraldo, Benoni, Marisa, Rosângela e Francisco, pela acolhida e grande ajuda na realização da etapa de colheita e análise de material.

À Dra. Charlotte H. Langenegger, pelo interesse e valiosas sugestões.

Ao meu sogro Edgar Lemos de Miranda e sua família, pelo estímulo e atenção concedida.

Aos Profs. Edson N. Cáceres e Fred Emil B. Rivera, pela valiosa colaboração no processamento dos dados.

Aos Profs. Felix Rosemberg, Francisco Cecílio Viana, Antonio Maria Claret Torres, Elvío Carlos Moreira, pelo estímulo, amizade e ensinamentos recebidos.

Ao Prof. Jerome Langenegger, pela orientação constante e eficiente.

À Unidade de Apoio ao Programa Nacional de Pesqui



sa em Saúde Animal - EMBRAPA, Rio de Janeiro, que possibilitou a realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo apoio e oportunidade concedida para a realização deste curso. À Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia - Coordenação Preventiva, pelo apoio financeiro.

## RESUMO

Alguns aspectos da mamite subclínica infecciosa bacteriana foram estudados visando complementar a padronização qualitativa do leite tipo B, em 13 rebanhos da bacia leiteira do Estado do Rio de Janeiro. Foi considerada a contagem de células somáticas (CCS) em função do tamanho do rebanho, da faixa etária, do estágio de lactação e da presença ou não de bactérias patogênicas, em 676 quartos de 175 vacas. A prevalência de vacas infectadas foi de 71,4%, e a dos quartos 46,0%. A média de CCS dos quartos com presença de bactérias foi de  $2,10 \times 10^6$  cél/ml. Dois rebanhos apresentaram CCS abaixo de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml ( $4,42 \times 10^5$  e  $4,43 \times 10^5$  cél/ml) no leite do latão ou tanque. A idade e o estágio de lactação não induziram a um aumento fisiológico significativo na CCS. A variável tamanho do rebanho não exerceu influência sobre as taxas de prevalência de vacas ou de quartos com infecção e nem nas CCS. Nos quartos normais (37,72%) a média de CCS foi de  $2,84 \times 10^5$  cél/ml; nos quartos com infecção latente (9,17%) a média de CCS foi de  $3,49 \times 10^5$  cél/ml; nos quartos com mamite

não específica (16,27%) e com mamite subclínica (36,84%) as médias foram de  $7,71 \times 10^5$  e  $2,525 \times 10^6$  cél/ml respectivamente. Dos 311 quartos com agentes bacterianos identificados, 32,8% correspondeu ao Staphylococcus epidermidis, com média de CCS de  $1,064 \times 10^6$  cél/ml; 28,0% ao Staphylococcus aureus com  $2,232 \times 10^6$  cél/ml; ao Streptococcus agalactiae com  $5,074 \times 10^6$  cél/ml; 9,3% ao Streptococcus dysgalactiae com  $1,811 \times 10^6$  cél/ml; 5,8% ao Micrococcus spp com  $7,79 \times 10^5$  cél/ml; 1,9% ao Streptococcus uberis com  $6,574 \times 10^6$  cél/ml e 7,1% por infecções mistas dos quartos. Estes resultados permitiram concluir que existe a necessidade de adoção de nível adequado de CCS no leite do latão ou tanque que poderá ser de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml, como padrão, além das demais características estabelecidas na legislação em vigor, para avaliação da qualidade do leite tipo B.

## SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO . . . . .	1
2. LITERATURA CONSULTADA . . . . .	4
3. MATERIAL E MÉTODOS . . . . .	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO . . . . .	30
5. CONCLUSÕES . . . . .	55
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS . . . . .	58

## LISTA DE TABELAS

		Página
TABELA	I - Interpretação da contagem de células somáticas no leite segundo a presença ou não de microrganismos patogênicos, IDF, 1971.....	17
TABELA	II - Classificação dos rebanhos produtores de leite B, segundo o número de animais por estrato, Rio de Janeiro, 1983-1984.....	31
TABELA	III - Classificação dos rebanhos produtores de leite B, segundo a idade por estrato, Rio de Janeiro, 1983-1984...	32
TABELA	IV - Classificação dos rebanhos produtores de leite B, segundo o estágio de lactação por estrato. Rio de Janeiro 1983-1984.....	34
TABELA	V - Classificação dos rebanhos quanto à produção de leite, CCS no leite do latão e de vacas e quartos quanto à presença de bactérias. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	35

TABELA	VI - Classificação das vacas quanto ao isolamento de bactérias, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	37
TABELA	VII - Classificação dos quartos segundo o isolamento de bactérias. por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	38
TABELA	VIII - Médias de CCS nos quartos, segundo o isolamento de bactérias, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	39
TABELA	IX - Classificação das vacas segundo o isolamento de bactérias, por faixa etária, nos rebanhos produtores de leite tipo B. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	41
TABELA	X - Classificação dos quartos segundo o isolamento de bactérias, por faixa etária nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984...	42
TABELA	XI - Médias de CCS segundo o isolamento de bactérias, por faixa etária, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	43
TABELA	XII - Classificação das vacas segundo o isolamento de bactérias, por mês de lactação, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984...	45
TABELA	XIII - Classificação dos quartos segundo o isolamento de bactérias, por mês de lactação, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984...	46

TABELA	XIV	- Médias de CCS nos quartos, segundo o isolamento de bactérias, por mês de lactação, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984....	47
TABELA	XV	- Distribuição de frequência de quartos quanto ao isolamento de bactérias e <u>m</u> édias de CCS por estrato e segundo a classificação da INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1971), em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	49
TABELA	XVI	- Distribuição de frequência de quartos quanto ao isolamento de bactérias e <u>m</u> édias de CCS por faixa etária e segundo a classificação da INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1971), em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro 1983-1984.....	50
TABELA	XVII	- Distribuição de frequência de quartos quanto ao isolamento de bactérias e <u>m</u> édias de CCS por mês de lactação e segundo a classificação da INTERNATIO <u>N</u> AL DAIRY FEDERATION (1971), em rebanhos leiteiros tipo B. Rio de Janeiro, 1983-1984.....	51
TABELA	XVIII	- Prevalência de quartos infectados, <u>se</u> gundo as espécies de microrganismos isolados e <u>m</u> édias de CCS, em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro 1983-1984.....	52

## 1. INTRODUÇÃO

A mamite infecciosa bovina, na sua forma suclínica conhecida ainda por mamite latente ou crônica, é uma das mais importantes doenças dessa espécie e têm causado perdas econômicas consideráveis no Brasil e em muitos outros países.

Admite-se que seja responsável por uma diminuição na produção de leite, em média de 43,0% nos quartos do úbere infectado em relação aos quartos normais (FERREIRO et alii, 1979).

Em quartos infectados por Streptococcus spp a média de redução foi de 43,0% e por Staphylococcus spp a redução foi de 27,0%, em relação aos quartos normais, segundo trabalho realizado por LANGENEGGER et alii (1981).

Além da redução na produção de leite, as perdas econômicas são acrescidas com o agravamento da situação pelo aparecimento de casos clínicos, levando a gastos com a assistência veterinária, medicamentos e a substituição de animais infectados devido à diminuição de sua vida útil, motivada pela



perda de quartos comprometidos e conseqüente desvalorização comercial dos animais.

A mamite na sua forma subclínica não é de fácil diagnóstico e requer o concurso de técnicas auxiliares. Ela se difunde sutilmente no rebanho, passando despercebida ao ordenhador ou proprietário, que só tomam conhecimento da ocorrência pela depreciação de seu produto a nível de indústria de laticínios.

A região sudoeste do Estado do Rio de Janeiro caracteriza-se pela exploração de pecuária leiteira, possuindo mais de 80% dos rebanhos produtores de leite tipo B do Estado<sup>1</sup>.

Face às características do mercado consumidor em potencial, às condições geo-econômica-sociais, à diferenciação de preço pago ao produtor de leite, à legislação vigente sobre o tipo de rebanho de leite tipo B, ocorreu uma transformação rápida deste setor sem que fosse acompanhada da devida preparação dos meios de fiscalização para diferenciar qualitativamente o leite proveniente de um rebanho tipo B, dos demais.

Embora a legislação trate das especificações dos rebanhos produtores de leite tipo B, poucos são aqueles que poderiam ser enquadrados nesta categoria, dentre os já classificados como produtores tipo B. Entretanto, este aspecto não parece ser o mais importante para a produção do referido tipo de leite, mas sim a sua qualidade sanitária.

---

1 - FONTE: Delegacia do Ministério da Agricultura - SDSA - Rio de Janeiro - 1983.

A legislação sanitária preconiza que estes rebanhos devem ser mantidos sob controle de médico veterinário responsável pelo estado sanitário do rebanho, que deverá ter controle sistemático de ectoparasitos, brucelose, tuberculose e mamite (BRASIL, 1953).

Na prática, observa-se que o controle dos ectoparasitos, brucelose e tuberculose é feito com certa regularidade, pois o Ministério da Agricultura exige a cada seis meses o envio ao órgão de Defesa Sanitária Animal, dos resultados dos exames procedidos. Com relação à mamite, o controle é feito de forma indireta através da determinação do grau de acidez do leite pelas indústrias lácteas.

Outros procedimentos indicadores como a contagem de células somáticas (CCS), e o isolamento de microrganismos não constituem-se em prática rotineira de controle. Atualmente, o único controle bacteriológico feito limita-se à contagem de colônias de bactérias de amostras aleatórias de leite.

Através da presente pesquisa pretende-se, valendo-se de meios mais acurados como o uso de contagem de células somáticas (CCS) eletronicamente, e do isolamento de bactérias potencialmente patogênicas do leite, fazer uma avaliação qualitativa do leite tipo B, relacionando-a à prevalência da mamite subclínica e às bactérias que a causam.

## 2. LITERATURA CONSULTADA

O aumento do conteúdo de células somáticas no leite é um indicativo seguro de processo inflamatório no úbere, pois nestes processos os leucócitos polimorfo-nucleares (PMN) estão presentes de 15-95% do total de células (GIESECKE, 1979).

### 2.1. Prevalência de microrganismos patogênicos em mamite subclínica.

Em regiões de pecuária leiteira desenvolvida é de suma importância uma constante avaliação dos métodos de prevenção, controle e erradicação direcionados a determinados agentes, e estudos de prevalência de microrganismos causadores de mamite tornam-se imprescindíveis, pois o conhecimento da casuística predominante e a extensão desta tendência permitem a adoção de medidas eficazes (FERREIRO et alii, 1981).

FIGUEIREDO (1959) em estudos de 129 vacas lactantes no Município de Betim, Minas Gerais, encontrou em exames bacteriológicos de 99 amostras de leite anormal ou suposta-

mente anormal, 72,7% com microrganismos patogênicos. Dentre os agentes infecciosos isolados o Staphylococcus aureus representou 57,4%; o Streptococcus agalactiae 1,11%; o Streptococcus spp 39,1%, além de outros microrganismos.

ROGICK et alii (1964) em levantamento da mamite subclínica no Estado de São Paulo, em 38 rebanhos tipo B, encontrou 92,1% afetados, sendo 22,9% por Streptococcus agalactiae, e 64,3% por Staphylococcus spp, dos 409 microrganismos isolados. De 303 vacas examinadas 31,0% apresentaram Streptococcus agalactiae e 86,9% Staphylococcus spp no leite amostrado.

LANGENEGGER et alii (1970) examinaram 2.187 vacas em lactação na bacia leiteira do Estado do Rio de Janeiro, e verificaram através de exame bacteriológico de 821 amostras de leite obtidas de 429 vacas, o isolamento e identificação em 368 animais (85,7%) dos seguintes microrganismos: Foi isolado de 24,7% das vacas o Streptococcus agalactiae; de 17,0% o Streptococcus dysgalactiae; de 4,6% o Streptococcus uberis e 53,1% o Staphylococcus aureus.

FERNANDES et alii (1973) examinando 970 amostras de leite da bacia leiteira de Porto Alegre, Rio Grande do Sul isolaram microrganismos patogênicos de 45,0% das mamicas subclínicas, sendo de 42,0% por Staphylococcus aureus e 3,0% dos casos por Streptococcus dysgalactiae.

HARROP et alii (1975) ao examinarem 866 vacas em lactação da bacia leiteira da zona do agreste meridional de Pernambuco, encontraram 39,0% com distúrbios na secreção, e

o exame bacteriológico revelou infecção no úbere de 275 vacas (31,7%). O Staphylococcus aureus foi isolado de 59,2% das vacas; o Streptococcus agalactiae de 14,1%; o Streptococcus dysgalactiae de 18,9% e o Streptococcus uberis de 31,2%.

SILVA (1977) estudando um mesmo rebanho bovino em Florestal, Minas Gerais, obteve de 565 isolamentos os seguintes resultados: Staphylococcus aureus 83,5%; Staphylococcus spp (coagulase negativa) 0,7%; Streptococcus uberis 14,0% e o Streptococcus dysgalactiae 0,7%.

FERREIRO et alii (1981) em levantamento conduzido em 118 rebanhos de 27 municípios da zona da mata, Minas Gerais, examinaram bacteriologicamente 1.007 lactoculturas, sendo que 77,6% resultaram positivas, o Staphylococcus aureus representou 30,5%; o Staphylococcus epidermidis 16,1%; o Micrococcus spp 4,5%; o Streptococcus agalactiae 11,8%; o Streptococcus dysgalactiae 5,4% e o Streptococcus uberis 3,6%.

NADER FILHO et alii (1983) ao examinarem 468 vacas em lactação em seis rebanhos produtores de leite B, no município de Barretos, São Paulo, isolaram Staphylococcus aureus de 25 (52,1%) dos casos de mamite, Staphylococcus epidermidis de 3 (6,3%), o Streptococcus dysgalactiae de 7 (14,6%), Streptococcus agalactiae de 5 (10,4%) e Streptococcus uberis de 4 (8,3%).

## 2.2. Métodos de contagem de células no leite



STOKES & WEGAFORTH (1897) foram os primeiros a descrever um método para a contagem diferenciada destas células.

PRESCOTT & BREED (1910) introduziram a contagem microscópica direta, associando o grande número de células somáticas no leite às condições de anormalidade no úbere, considerando-as higienicamente indesejáveis.

BREED (1914) concluiu serem os elementos celulares do leite de origem hematôgena e de células derivadas da porção secretora da glândula, admitindo que as alterações poderiam afetar a secreção dessas células.

Entretanto, o método de PRESCOTT & BREED (1910) está sujeito a alguns erros, segundo conclusão de STRINADKA & THORNTON (1937), devido ao fato de os campos microscópicos selecionados não serem representativos do leite total, embora a alíquota de leite espreada na lâmina seja representativa.

A introdução do método de contagem direta tem sido usado com algumas variações por FIGUEIREDO (1957, 1962), SANTOS & VILELA (1983), quanto ao número de campos microscópicos e a coloração dos esfregaços respectivamente.

Este método de contagem de células envolve longos períodos e é muito tedioso o trabalho ao microscópio, quando muitas amostras têm de ser analisadas, CULLEN (1966), e por essa razão SANTOS & VILELA (1983) sugerem-na para uso nas pequenas e médias indústrias.

Métodos indiretos para determinação do conteúdo

de células no leite foram desenvolvidos. WHITESIDE (1939) descreveu um teste no qual 2 ml de uma solução de hidróxido de sódio a 1 N(normal) foi adicionado em 10ml de leite, observou-se a presença de uma massa viscosa nas amostras com alta CCS.

JENSEN (1957) concluiu que a reação de WHITESIDE (1939) foi devido à combinação de leucócitos com íons de cálcio, resultando em uma gel proteína leucocitária-hidróxido de cálcio. SCHALM & NOORLANDER (1957), investigando a natureza da reação de WHITESIDE, adaptaram-na para seu uso próprio, substituindo o hidróxido de sódio (NaOH) por um sal - ALKILARILSULFONATO, e é conhecido como "CALIFORNIA MASTITIS TEST" - CMT, e a reação é devido à formação de gel proteína leucocitária, muito mais específica.

CULLEN (1965) e SCHIMIDT-MADSEN (1975) utilizaram contadores eletrônicos de partículas como o contador COULTER e o FOSSOMATIC, respectivamente, para a determinação do conteúdo de células somáticas no leite, abrindo o caminho para a automação das análises de leite e o controle de mamite bovina e avaliação da qualidade do leite.

CULLEN (1965, 1967) usou diversas combinações de métodos químicos e físicos para remover a gordura do leite.

PHIPPS & NEWBOULD (1965) concluíram que os métodos químicos para separar as células somáticas da gordura do leite produziam uma reação linear entre os resultados eletrônicos e a microscopia direta.

Um procedimento adequado de dispersão dos glóbulos de gordura, deixando as células somáticas intactas, foi conduzido primeiramente por TOLLE et alii (1966).

As células foram estabilizadas pelo tratamento da amostra de leite com formalina em diluição de 1:500 durante 24 h à temperatura ambiente. O leite fixado foi subsequentemente diluído em SOMATON<sup>1</sup> e incubado por 10 minutos a 80°C em banho-maria, para dispersão dos glóbulos de gordura.

Um coeficiente de correlação de 0,97 foi obtido entre o método eletrônico e o microscópico.

O método químico de TOLLE et alii (1966) foi avaliado por outros pesquisadores PHIPPS (1968), PEARSON et alii (1970) e a metodologia básica foi amplamente confirmada.

O método químico de TOLLE et alii (1966) foi adotado pela INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1971), como o mais valioso procedimento presentemente utilizado para a rotina de teste e de grande número de amostras de leite, para contagem de células somáticas.

O contador COULTER conta partículas que fluem através de uma solução eletrolítica, o FOSSOMATIC conta os núcleos das células coradas por uma substância fluorescente. Ambos os aparelhos são capazes de determinar o conteúdo de células de modo rápido e econômico.

A calibração do aparelho, para contagem de partículas de volume selecionado, embora não relatada por TOLLE et alii (1966), no seu método, foi sugerida por PHIPPS (1968), SWEETSUR & PHILLIPS (1976) para contagem de partículas com

---

1- COULTER ELECTRONICS IND. COM. LTDA - JACAREPAGUÁ-RJ.



volume entre 47,7 e 65,5  $\mu\text{m}^3$  (4,5 a 5,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro).

PEARSON et alii (1970), INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (1971) e SHELDRAKE et alii (1977) têm recomendado um registro do limiar de 54,4  $\mu\text{m}^3$ .

BOSSUYT et alii (1976) determinaram a taxa de células somáticas no leite, calibrando o aparelho para contar partículas de diâmetro de 5  $\mu\text{m}$ .

### 2.3. Fatores que afetam a contagem de células somáticas.

O estado de infecção, o número de quartos infectados, a idade, o estágio de lactação e o manejo são fatores que, observados, auxiliam a interpretação correta acerca do conteúdo de células somáticas no leite. Tais fatores podem exercer influência no quarto, vaca ou ao nível do rebanho.

#### 2.3.1. Estado de infecção.

O mais importante fator que afeta o conteúdo de células somáticas no leite de um quarto individual, e consequentemente a vaca e o rebanho, é o estado de infecção do quarto em comparação com outros fatores de menor efeito, SCHULTZ (1977).

O Staphylococcus aureus e o Streptococcus spp têm sido agrupados como os principais microrganismos patogênicos causadores de mamite subclínica e secundariamente têm sido

apresentados como de baixa patogenicidade para o úbere o Staphylococcus epidermidis, o Staphylococcus xylosus, o Staphylococcus sciuri e o Micrococcus spp (BRAMLEY (1981), DOHOO & MEEK (1982)).

BLACKBURN (1968) encontrou em amostras de leite de quartos não infectados, uma taxa de células somáticas de  $4,1 \times 10^5$  cél/ml, de  $7,5 \times 10^5$  cél/ml para amostras com Staphylococcus spp (coagulase negativa), de  $3,6 \times 10^6$  cél/ml para Staphylococcus aureus e de  $2,4 \times 10^6$  cél/ml para Streptococcus spp.

WARD & DCHULTZ (1972) concluíram que os Micrococcus spp não são causadores de resposta celular de importância prática, devido às estimativas de  $3,5 \times 10^5$  cél/ml serem similares aos dos quartos não infectados com taxa de  $3,14 \times 10^5$  cél/ml. Relataram ainda que encontraram para o Streptococcus agalactiae taxa de  $9,0 \times 10^5$  cél/ml, para o Streptococcus uberis  $1,625 \times 10^6$  cél/ml, para o Staphylococcus aureus  $1,498 \times 10^6$  cél/ml, e para o Staphylococcus spp (coagulase negativa)  $1,432 \times 10^6$  cél/ml quando por ocorrência de mamite clínica, e de  $7,0 \times 10^5$  cél/ml nos quartos que não tinham ocorrência prévia de mamite subclínica.

Vacas infectadas com as principais bactérias relacionadas com a mamite produziram em média, contagens de células somáticas acima de  $6,0 \times 10^5$  cél/ml, segundo trabalhos de NATZKE et alii (1972), WARD & SCHULTZ (1972) e SCHULTZ (1977), embora uma média geométrica de  $4,92 \times 10^5$  cél/ml tenha sido encontrada por DOHOO et alii (1981).

Nos trabalhos de NATZKE et alii (1972) e SCHULTZ (1977) foram relatadas taxas que variaram de  $1,7 \times 10^5$  cél/ml a  $2,14 \times 10^5$  cél/ml (taxas aritméticas) e por DOHOO et alii (1981)  $1,06 \times 10^5$  cél/ml (taxa geométrica), em amostras colhidas de vacas com os quartos livres de infecção.

BRAMLEY (1981) relatou média aritmética de  $1,93 \times 10^5$  cél/ml para quartos não infectados, e de  $4,62 \times 10^5$  cél/ml para quartos com somente microrganismos secundários, e de  $3,03 \times 10^6$  cél/ml para os quartos com os principais microrganismos, em estudo de nove rebanhos.

### 2.3.2. Número de quartos infectados

NATZKE et alii (1972) relataram que quando um quarto adicional estava infectado, ocorria uma aproximada duplicação de células somáticas na amostra de leite.

MEEK et alii (1980) usando uma contagem celular total e diferencial verificaram que a medida que o número de quartos aumentou de um para quatro, cresceu de 77,9% para 92,7% a habilidade de classificar corretamente vacas infectadas ou não.

DOHOO & MEEK (1982) observaram que a concentração de células somáticas na amostra composta (quatro quartos) de leite estava em função de contagens individuais dos quatro quartos e sua respectiva produção de leite. Este fato foi considerado da maior importância, pois o objetivo do programa de controle de mamite, baseado em amostras compostas, era de

tectar e classificar como infectadas as vacas que tinham infecção subclínica em um ou mais quartos. Concluíram ainda que a diluição do leite de quarto infectado e com alta CCS é uma importante consideração a ser observada na interpretação de amostra composta na contagem de células somáticas.

### 2.3.3. Idade

O aumento de CCS no leite de vacas com idade avançada tem sido relatado por diversos pesquisadores em diferentes períodos (WAITE & BLACKBURN (1957), BLACKBURN (1966,1968), BECKLEY & JOHNSON (1966), DANIEL et alii (1966), SCHULTZ (1977), GILL & HOLMES (1978), SYRSTAD et alii (1979)).

MARSHAL & EDMONDSON (1962) relataram que o aumento de CCS no leite de vacas mais velhas não é em razão da idade em si, mas devido à alta prevalência de infecção no seu período de vida.

Segundo DUITSCHAEVER & ASHTON (1972), algumas vacas livres de mamite não sofreram nenhum aumento de CCS com a idade, enquanto outras tiveram um leve acréscimo.

NATZKE et alii (1972) e WANASINGHE & FROST (1979) observaram apenas um leve acréscimo de CCS no leite de vacas em idade avançada.

### 2.3.4. Estágio de lactação

Há muito tem sido reconhecido que no começo e no

final da lactação, a CCS é diferente daquela ao meio de lactação. Para os primeiros dias de lactação a contagem de células é normalmente alta, CULLEN (1966).

Com relação ao estágio inicial de lactação KRIEGER (1961) encontrou taxa de concentração celular de  $2,5 \times 10^6$  cél/ml nos dois primeiros dias, decrescendo em proporção inversa até atingir a normalidade em 15 dias, quando valores de  $1,5 \times 10^5$  cél/ml são considerados normais.

CULLEN (1968) e NATZKE et alii (1972) observaram elevações variáveis na contagem de células somáticas nos primeiros 15 dias e REICHMUTH (1975) por 5 dias.

No que se refere ao terço médio de lactação WAITE & BLACKBURN (1957) encontraram valores menores entre o 70º e 130º dia de lactação, aumentado lentamente no início, e mais acentuadamente após o 170º dia de lactação.

BECKLEY & JOHNSON (1966), BLACKBURN (1966) e SCHULTZ (1977) relataram aumentos com o decorrer da lactação.

REICHMUTH (1975) observou que a CCS, à semelhança do efeito idade, que não consiste principalmente em um fenômeno fisiológico, resulta de uma prevalência aumentada por infecções subclínicas, ao longo da vida da vaca.

Quanto ao terço final de lactação JOHNSON & TRUDEL (1932) concluíram haver uma elevação fisiológica devido ao aumento das células epiteliais.

CULLEN (1966) relatou que os aumentos de células somáticas são causados por células epiteliais, em função do processo involutivo do parênquima glandular.

Em estudos onde observações são restritas a vacas não infectadas, NATZKE et alii (1972) relataram que não ocorreu acréscimo na CCS do começo ao fim da lactação, e que não foi afetada a produção diária de leite.

DUITSCHAEVER & ASHTON (1972) encontraram aumento na CCS no final da lactação.

BODOH et alii (1976) observaram que somente ao baixar a produção de leite para menos de 4kg/dia, houve aumento na CCS.

#### 2.3.5. Manejo

Os procedimentos de controle de mamite exercem influência na CCS ao nível do rebanho por influenciar a taxa de infecção dos quartos (NATZKE et alii, 1972).

O uso regular da desinfecção pós-ordenha pelo mergulho de teta, tem sido consistentemente associado com as mais baixas CCS (POSTLE et alii (1971), BODOH et alii (1976), HAYWARD & WEBSTER (1977), MEIN et alii (1977), SCHULTZ (1977), MOXLEY et alii (1978), GOODHOPE & MEEK (1980).

BRANDER et alii (1975) encontraram baixas CCS em rebanhos que adotaram um completo programa de controle de ma

mite pelo mergulho das tetas, terapia da vaca seca e manutenção anual da ordenhadeira mecânica.

As mais altas CCS, foram encontradas em rebanhos que não usavam a terapia completa (todos os quartos, independente de infecção ou não) e as mais baixas contagens em rebanhos que usavam o mergulho de tetas em conjunto com a terapia, BODOH et alii (1976).

MEIN et alii (1977) em um estudo, encontraram níveis mais baixos de células no latão, quando foram associadas com a terapia completa, em comparação à terapia seletiva (só dos quartos infectados), enquanto em outros rebanhos a terapia seletiva da vaca seca foi associada com níveis mais baixos de contagens celulares do que a terapia completa, BODOH et alii (1976), SCHULTZ (1977).

SCHULTZ (1977), GOODHOPE & MEEK (1980) encontraram níveis baixos de células somáticas em rebanhos, associados ao uso de toalhas de papel individuais para higienização da glândula mamária.

#### 2.4. Interpretação de contagem de células somáticas

DOHOO & MEEK (1982) observaram que a interpretação da CCS dependia do fato da amostra de leite ser procedente do quarto, da vaca, do latão ou tanque.

## 2.4.1, Amostras de quartos

A IDF (1971) passou a considerar a mamite segundo a presença de bactérias potencialmente patogênicas e CCS, conforme TAB. I.

TABELA I - Interpretação da contagem de células somáticas no leite, segundo a presença ou não de microrganismos patogênicos, IDF (1971).

Contagem de células por ml/leite	Microrganismos patogênicos	
	Ausentes	Presentes
$\leq 5,0 \times 10^5$	Secreção normal	Infecção latente
$> 5,0 \times 10^5$	Mamite não-específica	Mamite

DOHOO & MEEK relataram e recomendaram o uso de um limite de  $3,0 \times 10^5$  cél/ml como sendo o mais razoável para a divisão de quartos nas categorias de infectados e não infectados.

McDERMOTT et alii (1982) concluíram que o diagnóstico de infecções intramamárias por predição da CCS dependia de três fatores:

- sensibilidade do método de contagem de células;
- especificidade do método de contagem de células;
- e
- prevalência da infecção.

POULTREL & RAINARD (1982) encontraram 93% dos quar



tos não infectados com contagens celulares menores de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml.

McDERMOTT et alii (1983) sugeriram que não deviam ser tratados os quartos com CCS de  $4,0 \times 10^5$  cél/ml, por ser anti-econômico e não haver benefício no aumento de produção de leite.

#### 2.4.2. Amostras compostas (vaca)

SCHULTZ (1977) considerou que CCS abaixo de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml são normais.

MEEK et alii (1980), DOHOO et alii (1981), sugeriram o limite apropriado de  $2,28 \times 10^5$  cél/ml, pois conseguiram, classificar, respectivamente, 79,4% e 85,8% das vacas corretamente.

#### 2.4.3. Amostras do latão ou tanque

SCHULTZ (1977) observou que o efeito de uma ou duas vacas com alta contagem de células foi particularmente notado em pequenos rebanhos, entretanto, ainda que as contagens de células de latão ou tanque não indicassem quais as vacas infectadas, serviram como indicador útil para alertar os produtores de leite para os problemas do rebanho.

Tentativas de predizer taxas de infecção em quartos do rebanho proveniente de contagens de leite de latão ou tanque têm encontrado sucesso devido ao fato de que estas contagens representam uma correlação da taxa de infecção do quarto com a gravidade destas infecções WANASINGHE & FROST, 1979).

Correlações entre contagens de células de latões ou tanques e a taxa (média geométrica) de todas as vacas individualmente ou quartos, têm sido registrados como sendo  $r = 0,83$  para vacas e  $r = 0,89$  para quartos nos estudos de PEARSON et alii (1971) e REICHMUTH (1975).

DOHOC & MEEK (1982) relataram que as CCS de latão ou tanque abaixo de  $2,5 \times 10^5$  cél/ml indicaram um bom nível de saúde do úbere nos rebanhos estudados, e CCS acima de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml indicaram um problema definido do rebanho com a ma mite subclínica.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Local e época da execução do trabalho

O levantamento foi realizado nos municípios de Itaguaí, Piraí, Barra do Piraí, Miguel Pereira, Rezende e Barra Mansa, no Estado do Rio de Janeiro (FIG. 1). As análises foram desenvolvidas nas instalações da UNIDADE DE APOIO AO PROGRAMA NACIONAL DE PESQUISA EM SAÚDE ANIMAL da EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA - Seropédica, Itaguaí-RJ. O período de desenvolvimento do trabalho foi de agosto de 1983 a maio de 1984.

#### 3.2. Rebanhos utilizados

Foram utilizados treze rebanhos com vacas das raças Holandesa Preto e Branco (HPB) e Holandesa Vermelho e branco (HVB) e Mestiços Zebu x Holandês (MZH).

O tamanho dos rebanhos variou de 25 a 236 vacas, sendo mantidos em regime semi-intensivo, recebendo no momen-

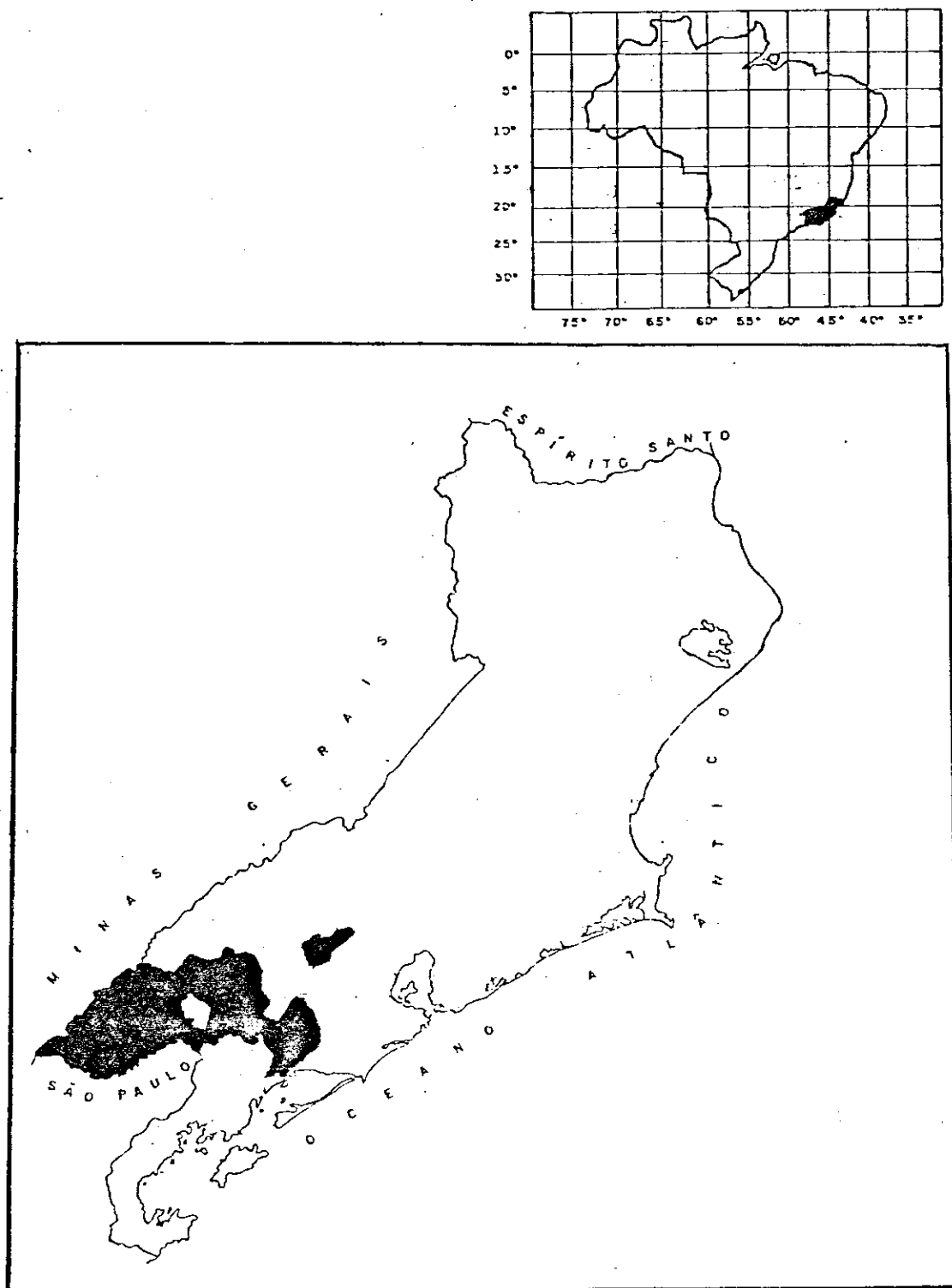


FIGURA 1 - Localização geográfica dos municípios trabalhados no Estado do Rio de Janeiro, 1983-1984.

to da ordenha suplementação alimentar variada, composta ora por resíduos de cevada, farelo de trigo, mandioca, forragem verde triturada, sais minerais e concentrado proteico, ora por combinações destes componentes.

### 3.3. Animais

Utilizaram-se 175 vacas sorteadas aleatoriamente de um total de 934, de idades e estágios de lactação os mais diversos, sendo estas informações obtidas através das fichas individuais dos animais.

O estágio da lactação compreendia um período de 10 meses ou 305 dias, e a idade correspondente a 3 anos no mínimo e 10 anos no máximo, sendo as idades inferiores e superiores agrupadas dentro destes limites de classes.

### 3.4. Procedimentos estatísticos

#### 3.4.1. Amostragem

O tamanho da amostra foi estimado por uma amostragem aleatória simples, baseando-se nos seguintes dados:

a - Intensidade do caráter considerado, isto é, a mamite subclínica causada pelos principais agentes etiológicos bacterianos, foi estimada em cerca de 70%, baseando-se nos valores obtidos por levantamento prévio da prevalência de

animais infectados, e nos trabalhos de vários pesquisadores, como de FIGUEIREDO (1959), ROGICK et alii (1964), LANGENEGGER et alii (1970), FERNANDES et alii (1973), HARROP et alii (1975), FERREIRO et alii (1981) e NADER FILHO et alii (1983).

b - Grau de precisão ou margem de erro admitida entre o valor verdadeiro e o valor estimado, igual a 10%.

c - Nível de significação, ou risco que se está disposto a correr de que a prevalência concluída seja diferente do valor estimado, igual a 95%.

Aplicando a fórmula recomendada pelo CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSES (1979).

$$n = \frac{p \times (100 - p) \times Z^2}{\left(\frac{d \times p}{100}\right)^2}$$

n = número de animais a serem testados

p = prevalência esperada = 70%

Z = grau de confiança igual 95%  $(1,96)^2 = 3,84 \approx 4$

d = margem de erro esperada igual a 10%, temos:

$$n = \frac{70 \times (100 - 70) \times 4}{\left(\frac{10 \times 70}{100}\right)^2} = \frac{8.400}{49} = 171 \text{ aproximando este valor para } 175 \text{ vacas.}$$

Aleatoriamente 13 rebanhos foram eleitos para este estudo.

Os fatores investigados foram tamanho do rebanho, idade das vacas e mês de lactação. Para o estudo do tamanho dos rebanhos, estes foram divididos em três estratos:

Estrato I : 1 → 40 vacas

Estrato II : 40 → 80 vacas

Estrato III : + 80 vacas

Para o estudo da idade, as vacas foram classificadas em três grupos de faixas etárias:

Grupo I : < 3 → 5 anos

Grupo II : 5 → 8 anos

Grupo III : 8 → 10 anos ou mais

O estágio de lactação foi dividido em:

Terço inicial : < 1 → 3 meses

Terço médio : 3 → 7 meses

Terço final : 7 → 10 meses ou mais

### 3.5. Colheita de amostra de leite

O leite foi obtido o mais assepticamente possível em 15 vacas por rebanho, através de ordenha manual para as análises delineadas neste trabalho, na ordenha vespertina, isto é, na segunda ordenha do dia, e repetindo-se os mesmos procedimentos 7 dias após a primeira colheita, para confirmação dos resultados obtidos anteriormente, quanto ao aspecto bacteriológico e celular.

Após a lavagem do úbere com água corrente, para retirar as sujidades maiores, procedeu-se a lavagem e secagem dos tetos com uma toalha embebida em uma solução desinfetante de hipoclorito de sódio (200 - 400 mg/l).

Com uma gaze embebida em álcool 70 a 80%, fez-se uma limpeza de todos os tetos, friccionando mais demorada

mente a parte inferior, com ênfase ao orifício do canal do teto.

Desprezados os três primeiros jatos de leite, foram colhidos 15 a 20 ml de leite em tubos estéreis, com rolha de algodão-gaze. Após a retirada da rolha de algodão, o tubo de ensaio foi mantido em posição quase horizontal, o mais próximo possível do teto sem, todavia, tocá-lo, para evitar a contaminação. As amostras foram mantidas em isopor, e refrigeradas a mais ou menos 5°C, até a chegada ao laboratório, dentro de no máximo 3 horas.

Ao término da ordenha de todo o rebanho, coletou-se uma amostra de leite de cada latão de 50 litros, previamente homogeneizado por alguns minutos, com o auxílio de um agitador manual. Quando o leite foi armazenado em tanques de 1000 litros ou mais, as amostras foram coletadas na razão de uma para cada 50 litros.

No laboratório cada amostra de quarto individual foi dividida após homogeneização, sendo retirada assepticamente 10ml com pipeta volumétrica graduada estéril, para um outro tubo de ensaio estéril, onde o leite foi fixado com três gotas de SOMAFIX<sup>1</sup>, mantendo-se no refrigerador até o dia seguinte, quando foi manuseado para a contagem eletrônica de células somáticas. O leite remanescente foi incubado durante a noite ou período de 15 a 18 horas em estufa bacteriológica a 37°C, para posterior plaqueamento em "Agar Sangue"<sup>2</sup>.

1. COULTER ELETRONICS INDUSTRIA E COMÉRCIO LTDA - JACAREPAGUÁ-RJ.
2. BACTO AGAR - Difco Laboratories, Detroit, Michigan-USA.





### 3.6. Exames culturais

As amostras de leite com incubação prévia foram semeadas em meios de agar sangue e incubadas a 37°C por 24 horas. Após este período, observada a morfologia, coloração e tipo de hemólise, as colônias de Streptococcus spp foram transferidas para tubos contendo agar sangue, e as de Staphylococcus spp em agar simples e incubadas a 37°C por 24 horas, observando-se a pureza da cultura comparando-a com o crescimento da placa, procedendo-se às provas bioquímicas de identificação das bactérias através da fermentação de açúcares ou pela prova de coagulase para Staphylococcus spp e teste de CAMP, hidrólise da esculina e hipurato, e da fermentação de açúcares para os Streptococcus spp de acordo com a IDF (1981).

### 3.7. Contagem eletrônica de células somáticas (CCS).

Para a determinação das células somáticas, o leite foi tratado previamente com 3 gotas de SOMAFIX para cada alíquota de 10ml de leite, e mantido em Banho-Maria a 60°C por 5 minutos, para a estabilização das células e, conseqüentemente maior resistência aos tratamentos posteriores (IDF. 1979, 1981).

Com uma pipeta automática<sup>1</sup>, 100 µl de leite foi diluído em uma solução eletrolítica emulsificadora (SOMATON<sup>2</sup>), seguida por aquecimento em Banho-Maria a 80 ± 1° C por 10 mi

1. CACIL - CAMELO & CIA LTDA, Recife-Pernambuco.

2. COULTER ELECTRONICS INDUSTRIA E COMERCIO LTDA - JACAREPAGUÁ-RJ.

nutos, para emulsão dos glóbulos de gordura do leite, em um tubo de ensaio (18 x 180mm) com rolha de látex branca, para evitar evaporação. Seguiu-se a transferência da solução para um copo de "becher" de 20 ml para o resfriamento à temperatura ambiente e leitura a seguir no contador COULTER modelo DN-VET<sup>1</sup>.

A CCS foi feita com o aparelho calibrado para contar partículas com volume de  $\geq 54 \mu\text{m}^3$  ou de  $\geq 6,5 \mu\text{m}$  de diâmetro, observando-se a homogeneização de cada amostra, com um mínimo de 25 movimentos de rotação da solução eletrolítica emulsificadora, evitando-se os movimentos bruscos e vigorosos e a formação de bolhas de ar.

A calibração do aparelho foi feita mensalmente, utilizando-se partículas de látex COULTER<sup>1</sup> de  $4,98 \mu\text{m}$  de diâmetro, segundo orientação do fabricante do aparelho.

Utilizou-se a determinação de células somáticas em um volume de 0,1 ml da solução eletrolítica emulsificadora, fazendo-se três leituras consecutivas de cada amostra, para a obtenção de um valor médio.

### 3.8. Análise estatística dos dados.

Foi utilizado o teste do Qui-Quadrado (SNEDECOR, & COCHRAN, 1980) para verificar a significância ao nível de 5% de probabilidade das diferenças entre os percentuais de vacas e quartos positivos ao isolamento de microrganismos, nos diferentes estratos, faixas etárias e estágios de lacta-

1. COULTER ELECTRONICS INDUSTRIA E COMÉRCIO - JACAREPAGUÁ-RJ

ção.

As médias de CCS nos quartos com e sem isolamento de microrganismos, entre os estratos, faixas etárias e estágios de lactação, foram comparados através da análise de variância, conforme modelo proposto por SENDECOR & COCHRAN (1980), e as significâncias das desigualdades foram testadas pelo teste-F, ao nível de 5% de probabilidade.

Os resultados significativos encontrados na análise de variância foram comparados utilizando-se o teste-DUNCAN (GOMES, 1982) ao nível de 5% de probabilidade.

O método de CCS eletronicamente, com um limiar de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml e a presença de bactérias, foi avaliado através de sua sensibilidade, especificidade, predição positiva e negativa de quartos infectados, e a prevalência segundo fórmula e definições de McDERMOTT et alii (1982).

$$1. \text{ Sensibilidade} = \frac{TP}{TP + FN} \cdot 100$$

$$2. \text{ Especificidade} = \frac{TN}{TN + FP} \cdot 100$$

$$3. \text{ Preditibilidade Positiva} = \frac{TP}{TP + FP} \cdot 100$$

$$4. \text{ Preditibilidade Negativa} = \frac{TN}{TN + FN} \cdot 100$$

$$5. \text{ Prevalência de infecção} = \frac{TP + FN}{TP + FP + TN + FN} \cdot 100$$

onde TP = Teste Positivo real (quarto infectado com limiar acima de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml).

FP = Teste Falso Positivo (quarto não infectado com limiar acima de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml).

TN = Teste Negativo real (quarto não infectado abaixo do limiar de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml).

FN = Teste Falso Negativo (quarto infectado abaixo do limiar de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os rebanhos produtores de leite tipo B, classificados por estratos, são apresentados na TAB. II. No Estrato I encontrou-se 16,9% das vacas em lactação; 23,3% no Estrato II e 59,8% no Estrato III. O percentual de vacas amostradas nos estratos foi inversamente proporcional ao percentual de vacas por estrato, correspondendo a 39,9% para o Estrato I, 24,9% para o Estrato II e 10,4% para o Estrato III. As 175 vacas amostradas representaram 18,7% dos animais pesquisados.

A TAB. III apresenta a classificação das vacas por estratos, segundo a idade dos animais, onde se observou que 77,1% das vacas tinham até 7 anos de idade, ou seja, estavam no 4º ou 5º parto, demonstrando que aquelas consideradas improdutivas foram eliminadas dos rebanhos, devido provavelmente ao alto índice de mamite subclínica infecciosa, perdas de quartos por mamite clínica e consequente diminuição da produção de leite.

Quanto à classificação dos rebanhos segundo o estágio de lactação, observou-se que à medida que aumentava o

TABELA II - Classificação dos rebanhos produtores de leite B, segundo o número de animais por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Rebanhos	Vacas/Rebanhos		Vacas/Amostra		% Estrato
		Nº	Total %	Nº	Total %	
	1	25		14		
	2	30		11		
I	3	31	158 16,9	14	63 36,0	39,9
	4	34		14		
	5	38		10		
<hr/>						
	6	42		14		
	7	42		15		
II	8	65	217 23,3	10	54 30,9	24,9
	9	68		15		
<hr/>						
	10	90		15		
	11	100		15		
III	12	133	559 59,8	13	58 33,1	10,4
	13	236		15		
<hr/>						
Total			934 100,0		175 100,0	18,7

TABELA III - Classificação dos rebanhos produtores de leite B, segundo a idade, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Idade/Anos								Total
	3	4	5	6	7	8	9	10	
I	7	6	17	10	10	2	2	9	63
II	5	8	9	9	8	5	5	5	54
III	16	6	6	5	13	6	2	4	58
Total	28	20	32	24	31	13	9	18	175
%	16,0	11,4	18,5	13,7	17,7	7,4	5,1	10,3	100,0
% Acumulado	16,0	27,4	45,7	59,4	77,1	84,5	89,7	100,0	

número de meses de lactação, diminuía o número de vacas, sendo que 74,2% das vacas encontravam-se até o 6º mês de lactação, conforme mostra a TAB. IV.

A média de produção de leite nos rebanhos foi de 12,1 litros (TAB. V), e a maior média encontrada foi de 13,8 litros no Estrato I, devido provavelmente ao pequeno número de vacas por rebanho, como também ao maior porcentual de vacas, com até 7 anos de idade, e até o 6º mês de lactação, demonstrados nas TAB. III e TAB. IV.

Dois rebanhos (15,38%) apresentaram uma CCS abaixo de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml, devido, naturalmente, ao controle da mamite subclínica ser feito rotineiramente, com a desinfecção pré e pós-ordenha, uso de caneca de fundo escuro, teste mensal pelo CMT de todas as vacas e utilização de antimicrobianos baseados no antibiograma dos agentes isolados para o tratamento dos quartos infectados.

Estas medidas de controle nos rebanhos com baixa CCS foram também relatadas por POSTLE et alii (1971), NATSKE et alii (1972), BODOH et alii (1976), HAYWARD & WEBSTER (1977), MEIN et alii (1977), SCHULTZ (1977), MOXLEY et alii (1978) e GOODHOPE & MEEK (1980).

Os restantes onze rebanhos tiveram problemas específicos com a mamite subclínica, superando em muito os níveis aceitáveis de CCS ( $5,0 \times 10^5$  cél/ml), que indicam um bom nível de saúde do úbere, sugerido por SCHULTZ (1977), MEEK et alii (1980), DOHOO et alii (1981) e DOHOO & MEEK (1982).



TABELA IV - Classificação dos rebanhos produtores de leite B, segundo o estágio de lactação, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Mês de lactação										Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
I	11	6	13	8	6	7	3	3	1	5	63
II	6	14	3	3	3	7	8	4	2	4	54
III	8	10	6	3	7	9	2	3	6	4	58
Total	25	30	22	14	16	23	13	10	9	13	175
%	14,3	17,1	12,6	8,0	9,1	13,1	7,4	5,7	5,1	7,4	100,0
% Acumulado	14,3	31,4	44,0	52,0	61,1	74,2	81,7	87,4	92,6	100,0	

TABELA V - Classificação dos rebanhos quanto à produção de leite, CCS no leite do lactário ou tanque, e de vacas e quartos quanto à presença de bactérias patogênicas. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Rebanhos	Prod.Média de leite(1)	CCS x 10 <sup>6</sup> cél/ml do leite no lactário ou tanque	Porcentagem (%)	
				Vacas infectadas	quartos infectados
	1		1,338	79	59
	2		0,543	64	43
I	3	13,8	- (2)	79	38
	4		0,442	14	2
	5		1,510	100	85
	6		1,952	79	48
II	7	10,3	1,400	80	42
	8		2,564	100	65
	9		1,028	70	20
	10		1,229	93	57
III	11	11,8	1,549	80	47
	12		0,443	31	12
	13		1,554	100	77
Média		12,1		71,4	46,0

(1) litros

(2) Amostra não coletada

A porcentagem de 71,4% de vacas com infecção foi inferior aos relatados por ROGICK et alii (1964) e LANGENEGGER et alii (1970), mas superior aos de FIGUEIREDO (1959) e HARROP et alii (1975). As diferenças nos percentuais entre os estratos não foram significativas ( $p > 0,05$ ), pelo teste do Qui-quadrado, devido provavelmente, à alta taxa de vacas e quartos com mamite subclínica infecciosa, caracterizando as péssimas condições higiênico-sanitárias dos animais ordenhados, independente do tamanho dos rebanhos (TAB. VI).

A prevalência de 71,4% de vacas infectadas, correspondeu a uma prevalência de 46,0% de quartos infectados (TAB. VII), não sendo significativa ( $p > 0,05$ ), consequentemente, a diferença nas porcentagens encontradas entre os estratos, para os quartos com mamite subclínica infecciosa.

As diferenças entre os resultados deste estudo e dos demais relatados acima, se devem provavelmente, ao tipo de manejo e método de amostragem.

A TAB. VIII refere-se às médias de CCS nos quartos e por estrato. Nos 311 (46,0%) quartos com lactoculturas positivas, a média de CCS foi de  $2,107 \times 10^6$  cél/ml, o que demonstrou a importância da infecção bacteriana como causa de elevação da CCS.

Nos 365 (54,0%) quartos sem infecção, a média de CCS foi de  $4,3 \times 10^5$  cél/ml. Encontrou-se um acréscimo na média de CCS aparentemente correlacionado com o aumento do número de animais por rebanho. Entretanto, estes resultados não foram significativos ( $p > 0,05$ ), pelo teste-F. Este nível de

TABELA VI - Classificação das vacas quanto ao isolamento de bactérias, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Vacas			
	Com isolamento		Sem isolamento	
	Nº	%	Nº	%
I	40	63,5 <sup>a</sup>	23	36,5 <sup>a</sup>
II	40	74,0 <sup>a</sup>	14	26,0 <sup>a</sup>
III	45	77,5 <sup>a</sup>	13	22,5 <sup>a</sup>
Total	125	71,4	50	28,6

Números na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente (  $p > 0,05$  ), pelo teste do Qui-Quadrado.

TABELA VII - Classificação dos quartos segundo o isolamento de bactérias, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Quartos				Total	
	Com isolamento		Sem isolamento		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
I	108	45,0 <sup>a</sup>	132	55,0 <sup>a</sup>	240	35,5
II	90	43,1 <sup>a</sup>	119	56,9 <sup>a</sup>	209	30,9
III	113	49,8 <sup>a</sup>	114	50,2 <sup>a</sup>	227	33,6
Total	311	46,0	365	54,0	676	100,0

Números na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ), pelo teste do Qui-Quadrado.

TABELA VIII - Médias de CCS nos quartos, segundo o isolamento de bactérias, por estrato. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Quartos			
	Com isolamento		Sem isolamento	
	Nº	CCS x 10 <sup>6</sup> cél/ml	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup> cél/ml
I	108	1,874 <sup>a</sup>	132	4,07 <sup>a</sup>
II	90	1,757 <sup>a</sup>	119	4,29 <sup>a</sup>
III	113	2,609 <sup>a</sup>	114	4,60 <sup>a</sup>
Total	311	2,107	365	4,30

Números na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ) pelo teste-F.

CCS é compatível àqueles descritos pela IDF (1971), DOHOO & MEEK (1982), POUTREL & RAINARD (1982), e McDERMOTT et alii (1983).

Não se encontraram diferenças significativas nas taxas de prevalência nas vacas, quando classificadas pela faixa etária, sendo de 75,0% a prevalência de vacas com mamite subclínica infecciosa para a faixa etária de 3 a 5 anos; 63,2% de 5 a 8 anos e 81,5% para a faixa de 8 a 10 anos (TAB. IX).

O porcentual de vacas decresceu com a idade, de 45,7% das vacas com 3 a 5 anos para 38,9% com 5 a 8 anos e para 15,4% com mais de 8 anos, devido, provavelmente, ao descarte de vacas com alta taxa de quartos com mamite subclínica infecciosa, e por outras doenças.

A alta taxa de mamite subclínica infecciosa correspondeu à metade dos quartos, aproximadamente, com infecção, ou seja, para cada quarto saudável encontrou-se um quarto infectado, independentemente da faixa etária (TAB. X).

As diferenças nas taxas de prevalência para os quartos, segundo a idade, não foram significativas ( $p > 0,05$ ), visto que 49,0% dos quartos estavam infectados nas faixas de 3 a 5 anos e 8 a 10 anos e 41,0% na faixa de 5 a 8 anos (TAB. X).

Na TAB. XI, as diferenças entre as médias de CCS, segundo as faixas etárias, nos quartos infectados não foram significativas ( $p > 0,05$ ). Contudo, nos quartos sem infecção, ocorreram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ), na análise de variância pelo teste-F. Esta significância foi veri-

TABELA IX Classificação das vacas segundo o isolamento de bactérias, por faixa etária, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Faixa Etária/anos	Vacas				Total	
	Com isolamento		Sem isolamento		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
≤ 3 → 5	60	75,0 <sup>a</sup>	20	25,0 <sup>a</sup>	80	45,7
5 → 8	43	63,2 <sup>a</sup>	25	36,8 <sup>a</sup>	68	38,9
8 → 10 >>	22	81,5 <sup>a</sup>	5	18,5 <sup>a</sup>	27	15,4
Total	125	71,4	50	28,6	175	100,0

Número na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ), pelo teste do Qui-Quadrado.



TABELA X - Classificação dos quartos segundo o isolamento de bactérias, por faixa etária, nos rebanhos produto de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Faixa Etária/anos	Quartos				Total	
	Com isolamento		Sem isolamento		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
≤ 3 → 5	154	49,2 <sup>a</sup>	159	50,8 <sup>a</sup>	313	46,3
5 → 8	107	41,0 <sup>a</sup>	154	59,0 <sup>a</sup>	261	38,6
8 → 10 ≥	50	49,0 <sup>a</sup>	52	51,0 <sup>a</sup>	102	15,1
Total	311	46,0	365	54,0	676	100,0

Números na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ), pelo teste do Qui-Quadrado.



TABELA XI - Médias de CCS nos quartos, segundo o isolamento de bactérias, por faixa etária nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Idade/Anos	Quartos			
	Com isolamento		Sem isolamento	
	Nº	CCS x 10 <sup>6</sup> cél/ml	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup> cél/ml
≤ 3 → 5	154	1,761 <sup>a</sup>	159	3,48 <sup>a</sup>
5 → 8	107	2,365 <sup>a</sup>	154	4,42 <sup>a</sup>
8 → 10 >>	50	2,616 <sup>a</sup>	52	5,85 <sup>b</sup>
Total	311	2,107	365	4,30

Números na mesma coluna, seguidos de letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), pelo teste de DUNCAN.

ficada pelo teste de DUNCAN, entre a média de CCS da faixa etária das vacas com mais de 8 anos com relação às faixas inferiores.

Estes níveis de CCS correspondem àqueles relatados por outros autores, e concorda-se com MARSHAL & EDMONDSON (1962), de que o aumento é devido primeiramente a um acréscimo de prevalência de infecção em vacas mais velhas, e não a um aumento fisiológico em razão da idade em si, confirmados por relatos de DUITSCHAEVER & ASHTON (1972), NATZKE et alii (1972) e WANASINGHE & FROST (1979).

Estes resultados demonstram a necessidade de se ter vacas em lactação nas mais diversas faixas etárias, mantendo-se renovações constantes de animais, através de manejo adequado, devido às vacas com mais de 8 anos e não infectadas, terem CCS acima do limite recomendado de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml, pela IDF (1971), pois encontrou-se uma média de  $5,85 \times 10^5$  cél/ml.

As diferenças nas porcentagens de vacas na TAB. XII e de quartos na TAB. XIII, segundo o mês de lactação, com m<sub>a</sub>mite subclínica infecciosa, não foram significativas ( $p > 0,05$ ). Entretanto, o percentual de vacas decresceu durante o estágio de lactação de 44,0% no estágio de 1 a 3 meses, para 18,3% para o estágio de 7 a 10 meses.

Nos quartos com a presença de bactérias, as diferenças entre as médias de CCS também não foram significativas ( $p > 0,05$ ), TAB. XIV. Nos quartos sem bactérias, ocorreu um acréscimo significativo ( $p < 0,05$ ), nas médias de CCS,

TABELA XII - Classificação das vacas, segundo o isolamento de bactérias, por mês de lactação, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Mês de Lactação	Vacas				Total	
	Com isolamento		Sem isolamento		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
« 1—3	54	70,1 <sup>a</sup>	23	29,9 <sup>a</sup>	77	44,0
3—7	49	74,2 <sup>a</sup>	17	25,8 <sup>a</sup>	66	37,7
7—10»	22	68,8 <sup>a</sup>	10	31,2 <sup>a</sup>	32	18,3
Total	125	71,4	50	28,6	175	100,0

Números na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ), pelo teste do Qui-Quadrado.

TABELA XIII - Classificação dos quartos segundo o isolamento de bactérias, por mês de lactação, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Mês de Lactação	Quartos				Total	
	Com isolamento		Sem isolamento		Nº	%
	Nº	%	Nº	%		
≤ 1 → 3	124	43,0 <sup>a</sup>	164	57,0 <sup>a</sup>	288	42,6
3 → 7	125	48,0 <sup>a</sup>	135	52,0 <sup>a</sup>	260	38,5
7 → 10 ∥	62	48,4 <sup>a</sup>	66	51,6 <sup>a</sup>	128	18,9
Total	311	46,0	365	54,0	676	100,0

Números na mesma coluna, com a mesma letra, não diferem significativamente ( $p > 0,05$ ), pelo teste do Qui-Quadrado.

TABELA XIV - Média de CCS nos quartos, segundo o isolamento de bactérias, por mês de lactação, nos rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Mês de Lactação	Quartos			
	Com isolamento		Sem isolamento	
	Nº	CCS x 10 <sup>6</sup> cél/ml	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup> cél/ml
1-3	124	1,765 <sup>a</sup>	164	3,48 <sup>a</sup>
3-7	125	2,346 <sup>a</sup>	135	4,95 <sup>b</sup>
7-10	62	2,311 <sup>a</sup>	66	5,05 <sup>b</sup>
Total	311	2,107	365	4,30

Números na mesma coluna, com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), pelo teste de DUNCAN.

no estágio regressivo da lactação, observação semelhante àque las relatadas por CULLEN (1966), BECKLEY & JOHNSON (1966), DITSCHAEVER & ASHTON (1972), REICHMUTH (1975), BODOH et alii (1976) e SCHULTZ (1977).

Na TAB. XV encontra-se a classificação dos quartos segundo as categorias da IDF (1971), e observa-se que 37,72% dos quartos foram classificados como normais, com médias de CCS de  $2,84 \times 10^5$  cél/ml; os quartos com mamite não específica 16,27%, com CCS de  $7,71 \times 10^5$  cél/ml; 9,17% com infecção latente e média de CCS de  $3,49 \times 10^5$  cél/ml e mamite subclínica em 36,84% dos quartos, com média de CCS  $2,545 \times 10^6$  cél/ml. Ocorreu aumento significativo ( $p < 0,05$ ), entre as médias de CCS dos estratos, para a categoria normal.

As diferenças entre as médias de CCS nos quartos de categoria normal e de mamite não são significativas ( $p > 0,05$ ) segundo as faixas etárias, mas o são para as categorias latente e não-específica (TAB. XVI).

Através da TAB. XVII verifica-se que somente os quartos na categoria normal apresentaram diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre as médias de CCS, segundo os estágios de lactação.

As principais bactérias causadoras de mamite subclínica nos rebanhos estudados são apresentadas na TAB. XVIII, verificando-se que de 311 lactoculturas positivas, os Staphylococcus epidermidis representaram o maior porcentual de isolamento, 32,8%, seguidos pelo Staphylococcus aureus com 28,0%; o Streptococcus agalactiae 15,1%; Streptococcus dysgalactiae

TABELA XV - Distribuição de frequência de quartos quanto ao isolamento de bactérias e médias de CCS por estrato e segundo a classificação do INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF-1971), em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Estratos	Quartos							
	Sem isolamento				Com isolamento			
	Normal		Não Espec.		Latente		Mamite	
	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>6</sup>
I	100	2,68 <sup>a</sup>	32	8,40 <sup>a</sup>	18	3,20 <sup>a</sup>	90	2,185 <sup>a</sup>
II	80	2,78 <sup>a</sup>	39	7,38 <sup>a</sup>	28	3,56 <sup>a</sup>	62	2,390 <sup>a</sup>
III	75	3,10 <sup>b</sup>	39	7,46 <sup>a</sup>	16	3,68 <sup>a</sup>	97	2,979 <sup>a</sup>
Total	255	2,84	110	7,71	62	3,49	249	2,545
%	57,72		16,27		9,17		36,84	

Números na mesma coluna, com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), pelo teste de DUNCAN.



TABELA XVI - Distribuição de frequência de quartos quanto ao isolamento de bactérias e médias de CCS, por faixa etária e segundo a classificação do INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF-1971), em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Faixa Etária/ Anos	Quartos							
	Sem isolamento				Com isolamento			
	Normal		Não Espec.		Latente		Mamite	
	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>6</sup>
≤ 3 → 5	134	2,71 <sup>a</sup>	25	7,64 <sup>a,b</sup>	44	3,15 <sup>a</sup>	110	2,340 <sup>a</sup>
5 → 8	92	2,96 <sup>a</sup>	62	7,10 <sup>a</sup>	14	4,15 <sup>a,b</sup>	93	2,660 <sup>a</sup>
8 → 10 ≥	29	3,15 <sup>a</sup>	23	9,26 <sup>b</sup>	4	4,80 <sup>b</sup>	46	2,801 <sup>a</sup>
Total	255		110		62		249	
Média		2,84		7,71		3,49		2,545

Números na mesma coluna, com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), pelo teste de DUNCAN.

TABELA XVII - Distribuição de frequência de quartos quanto ao isolamento de bactérias e médias de CCS, por mês de lactação e segundo a classificação do INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (IDF-1971), em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Mês de Lactação	Quartos							
	Sem isolamento				Com isolamento			
	Normal		Não Espec.		Latente		Mamite	
	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>5</sup>	Nº	CCS x 10 <sup>6</sup>
1—3	134	2,61 <sup>a</sup>	30	7,39 <sup>a</sup>	35	3,40 <sup>a</sup>	89	2,325 <sup>a</sup>
3—7	86	3,11 <sup>b</sup>	49	8,17 <sup>a</sup>	22	3,78 <sup>a</sup>	103	2,884 <sup>a</sup>
7—10	35	3,03 <sup>a,b</sup>	31	7,29 <sup>a</sup>	5	2,82 <sup>a</sup>	57	2,489 <sup>a</sup>
Total	255		110		62		249	
Média		2,84		7,71		3,49		2,545

Números na mesma coluna, com letras diferentes, diferem significativamente ( $p < 0,05$ ), pelo teste de DUNCAN.

TABELA XVIII - Prevalência de quartos infectados segundo as espécies de microrganismos isolados e médias de CCS, em rebanhos produtores de leite B. Rio de Janeiro, 1983-1984.

Microrganismos	Quartos infectados		CCS x 10 <sup>6</sup> cél/ml	
	Nº	%		Prevalência % (n=676)
<u>Staphylococcus epidermidis</u>	102	32,8	15,1	1,064
<u>Staphylococcus aureus</u>	87	28,0	12,9	2,232
<u>Streptococcus agalactiae</u>	47	15,1	6,9	5,074
<u>Streptococcus dysgalactiae</u>	29	9,3	4,3	1,811
<u>Micrococcus spp</u>	18	5,8	2,7	0,779
<u>Streptococcus uberis</u>	6	1,9	0,9	6,574
Infecções mistas	22	7,1	3,2	-
Total	311	100,0	46,0	-

9,3%; o Micrococcus spp 5,8%; o Streptococcus uberis 1,9%; e por infecções mistas 7,1%.

Estes achados eram esperados e estão de acordo com aqueles relatados por FIGUEIREDO (1959), ROGICK et alii (1964), FERNANDES et alii (1973), FERREIRO et alii (1981) e NADER FILHO et alii (1983). O único resultado discordante dos demais autores, foi para o Staphylococcus epidermidis, muito superior, tornando-o um agente que precisa ser melhor pesquisado quanto ao seu papel nas mamites subclínicas infecciosas, pois BRAMLEY (1981) e DOHOO & MEEK (1982), o enquadraram como bactéria secundária causadora de mamite subclínica.

A prevalência de quartos com mamite subclínica causada pelo Staphylococcus epidermidis foi de 15,1%, Staphylococcus aureus 12,9%; Streptococcus agalactiae 6,9%; Streptococcus dysgalactiae 4,3%; Micrococcus spp 2,7%; Streptococcus uberis 0,9%, e as infecções mistas 3,2%.

De acordo com cada espécie de bactéria isolada, obteve-se a média de CCS representando sua patogenicidade e sob este aspecto de análise os Micrococcus spp foram os menos patogênicos, com média de CCS de  $7,79 \times 10^5$  cél/ml, e o Streptococcus uberis o mais patogênico, com  $6,574 \times 10^6$  cél/ml, seguido pelo Streptococcus agalactiae com  $5,074 \times 10^6$  cél/ml, o Staphylococcus aureus com  $2,232 \times 10^6$  cél/ml, o Streptococcus dysgalactiae com  $1,811 \times 10^6$  cél/ml e o Staphylococcus epidermidis com  $1,064 \times 10^6$  cél/ml. Estes valores não são concordantes com aqueles descritos na literatura, devido aos di

ferentes métodos de CCS utilizados.

O método de classificação dos quartos quanto à presença de bactérias e CCS segundo as categorias definidas pela IDF (1971), com um limiar de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml, apresentou uma sensibilidade de 80,0% e uma especificidade de 69,8%. A capacidade de predizer os quartos com bactérias e distúrbios na secreção do leite devido à infecção foi de 69,3%, enquanto a capacidade de predizer os quartos sem distúrbios na secreção e com ausência de bactérias patogênicas foi de 84,4%.

McDERMOTT et alii (1982), ao trabalharem com um nível de  $4,0 \times 10^5$  cél/ml, e com a presença ou ausência de bactérias, obtiveram uma sensibilidade 60,0% e especificidade de 87,0%.

Esta capacidade de predizer os quartos negativos transforma a contagem eletrônica de células somáticas num método de triagem para avaliação da qualidade do leite através dos níveis de células somáticas presentes nas amostras de rebanhos, quartos ou vacas individualmente.

## 5. CONCLUSÕES

A interpretação das taxas de prevalência de mamite subclínica infecciosa bacteriana e as CCS nos 13 rebanhos produtores de leite tipo B do Estado do Rio de Janeiro, permitem as seguintes conclusões:

1. Aparentemente algumas condições de manejo dos rebanhos em função do número de animais não se refletiram nas taxas de prevalência de mamite subclínica e nem nas CCS.

2. O fator idade do animal não induziu a uma maior resposta leucocitária, fisiológica, no leite, sendo os aumentos na CCS relacionados às altas taxas de prevalência de mamite subclínica infecciosa no rebanho, advindas da não adoção de medidas eficazes no controle da mamite.

3. A CCS não variou em função do estágio de lactação a não ser que ocorresse alta taxa de prevalência de mamite subclínica em quartos, no rebanho.

4. A adoção de medidas de controle de mamite subclínica em um rebanho refletirá na CCS do leite, e o limite máximo de  $5,0 \times 10^5$  cél/ml, poderá ser adotado para avalia-

ção da qualidade do leite nas plataformas das usinas, conforme recomendação da INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION.

5. Os diversos agentes etiológicos de mamite subclínica provocam diferentes respostas no organismo do animal através das variações das CCS encontradas, o que torna necessário o controle das infecções, face aos problemas por elas provocados.

6. O uso rotineiro da CCS como meio de melhor remunerar o produtor pela qualidade do leite torna-se um incentivo para manter sob controle a mamite subclínica, e consequentemente, aumentar a produtividade do rebanho.

7. A CCS sendo utilizada nas plataformas de recepção de leite das usinas permitirá ao produtor obter uma orientação sobre as perdas de leite causadas pela mamite subclínica, a julgar pelo índice de leucócitos no leite do latão ou tanque.

8. A utilização da CCS, além da determinação da acidez e contagem de bactérias por contaminação, como complemento para avaliar a qualidade do leite em usinas de recepção, constitui uma prática altamente recomendável.

9. A mamite subclínica infecciosa encontra-se altamente difundida nos rebanhos produtores de leite tipo B, e a CCS no leite de latões ou tanque pode ser uma técnica recomendada para a triagem e controle da mamite nos rebanhos, e como forma de classificação qualitativa, para pagamento diferenciado do leite tipo B.

10. A ocorrência de alta taxa de mamite subclíni-

ca causada pelo Staphylococcus epidermidis sugere que novos estudos devam ser realizados, com maior número de observações, para avaliar o seu papel nas infecções subclínicas.



## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BECKLEY, M.S. & JOHNSON, T. Five year study of a California Mastitis Test on a comercial dairy herd. J. Dairy Sci., Champaign, 49(6):746, 1966.
2. BLACKBURN, P.S. Diseases of dairy cattle. J. Dairy Res., London, 25(3):486-98, 1958.
3. BLACKBURN, P.S. The variation in the cell count of cows milk throughout lactation and from one lactation of the next. J. Dairy Res., London, 33(1):193-98, 1966.
4. BLACKBURN, P.S. The cell count of cows milk and the microorganisms cultured from the milk. J. Dairy Res., London, 35(1):59-65, 1968.
5. BLOSSER, T.H. Economic losses from and the national research program on mastitis in the United States. J. Dairy Sci. Champaign, 62(1):119-27, 1979.
6. BODOH, G.W.; BATTISTA, W.J.; SCHULTZE, L.H.; JOHNSTON JR, R.P. Variation in somatic cell counts in dairy herd improvement milk samples. J. Dairy Sci., Champaign, 59(6): 1119-23, 1976.
7. BOSSUYT, R.; MOERMANS, R.J.; WAES, G.; NAUDTS, M. The fluctuations of the cell content of milk and the optimum sampling frequency for the cell count. Milchwissenschaft, Munich, 31(1):4-8, 1976.

8. BRAMLEY, A.J. Infection of the udder with Streptococcus uberis, Escherichia coli and minor Pathogens. National Institut for Research in Dairyng, Ayr, 1.981. 230p.(Technical Bulletin).
9. BRANDER, G.C.; GORD, R.P.; WATKINS, J.H. A large scale mastitis control programme in Somerset. Vet.Rec., London, 97(16):300-4, 1975
10. BRASIL. Leis, Decretos, etc. Decreto nº 30.691 - 29 mar. 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Rio de Janeiro. Serviço de Informação Agrícola. 1953. 342p.
11. FEED, R.S. The sanitary significance of body cells in milk. J. Infect. Dis., Chicago, 14(1):93-9, 1914.
12. CENTRO PANAMERICANO DE ZONOSIS. Procedimientos para estudios de prevalencia de enfermedad cronicas en el ganado. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1973. (Nota Tecnica, 18).
13. CULLEN, G.A. The use of eletronic counter for determining the number of the cells in milk. Vet. Rec., London, 77(29):858, 1965.
14. CULLEN, G.A. Cells in milk. Vet.Bulletin, Farnham Royal, 36(6):337-46, 1966.
15. CULLEN, G.A. A method of counting cells in milk using electronic cell count. Vet. Rec., London, 80(5):188-95, 1967.
16. CULLEN, G.A. Cell counts throughout lactation: Physiological variation in the cell count of cow's milk during lactation. Vet.Rec., London, 84(5):125-28, 1968.
17. DANIEL, R.C.W.; BARNUM, D.A.; RENNIE, J.C. Variation in modified California Mastitis Tests scores in dairy cattle. J. Dairy Sci., Champaign, 49(10):1226-29, 1966.

18. DOBBINS JR, C.N. Mastitis losses. J. Am. Vet. Assoc., Schaumburg, 170(10):1129-32, 1977.
19. DOHOO, I.R.; MEEK, A.H.; MARTIN, S.W.; BARNUM, D.A. Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. Can. J. Comp. Med., Ottawa, 45(1):8-14, 1981.
20. DOHOO, I.R. & MEEK, A.H. Somatic cell counts in bovine milk. Can. Vet. J., Ottawa, 23(4):119-25, 1982.
21. DUITSCHAEVER, C.L. & ASHTON, G.C. Variation of somatic cells and neutrophils in milk throughout lactation. J. milk Food Technology, Ames, 35(4):197-202, 1972.
22. FERNANDES, J.C.T.; MOOJEN, V.; FERREIRO, L. Agentes etiológicos das mastites bovinas na região leiteira de Porto Alegre-RS-Brasil. Arq.Fac.Vet.Univ.Fed. Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1(1):41-6, 1973
23. FERREIRO, L. Mastite bovina: causas e consequências na produção e qualidade do leite do gado mestiço da micro região de Juiz de Fora-MG, Coronel Pacheco. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária-CNPL, 1979. 4p (Circular Técnica, 03).
24. FERREIRO, L.; SOUZA, E.P.L.; NOVY, E.F. Influência da mastite bovina subclínica na produção do leite do gado mestiço. Arq. Fac. Vet. UFRGS, Porto Alegre, 7(12):135-43, 1979.
25. FERREIRO, L.; SANTOS, E.C.; SILVA, N. Ocorrência e etiologia da mastite bovina na "Zona da Mata", do Estado de Minas Gerais. Arq. Esc. Vet. UFMG., Belo Horizonte, 33(1):31-7, 1981.
26. FIGUEIREDO, J.B. A comparison of the California Mastitis Test with the other commonly employed diagnostic tests. E. Lansing, Michigan State University. 1957. 47p. (Tese, Master Science).

27. FIGUEIREDO, J.B. Estudo sobre a mamite bovina no Município de Betim, Minas Gerais, Belo Horizonte. Esc. Sup. Vet. Univ. Rural Est. Minas Gerais, 1959. 70p. (Tese, Cátedra).
28. FIGUEIREDO, J.B. Comparação dos métodos de diagnóstico, frequência e sensibilidade dos germes isolados. Arq. Esc. Vet. UFMG., Belo Horizonte, 14(1):257-95, 1962.
29. GIESECKE, W.H. Bovine Mastitis. Department of Agricultural Technical Services, Pretoria, 1979, 37p. (Technical Communication, 151).
30. GILL, M.S. & HOLMES, C.W. Somatic cell counts, mastitis and milk production in dairy herds. N.Z.J. Dairy Sci. Technol., Palmerston North, 13(3):157-61, 1978.
31. GOMES, F.P. Curso de Estatística Experimental. 10 ed. 1982, São Paulo, Livraria Nobel SA. Editora-Distribuidora. 430p.
32. GOODHOPE, R.G. & MEEK, A.H. Factors associated with mastitis in Ontario dairy herds: A case control study. Can. J. Comp. Med., Ottawa, 44(4):351-7, 1980.
33. HAYWARD, P.J. & WEBSTER, A.N. Reduction in mastitis by use of a teat spray sanitizer. N.Z.J. Dairy Sci. Technology, Palmerston North, 12(4):267-69, 1977.
34. HARROP, M.H.V.; PEREIRA, L.J.C.; BRITO, J.R.F.; MELLO, A. M.B. Incidência de mastite bovina na bacia leiteira da Zona do Agreste Meridional de Pernambuco. Pesq. Agrop. Bras., Rio de Janeiro, 10(8):65-7, 1975.
35. HODGES, H.G. Bovine mastitis. A challenge to veterinarians. North Am. Vet., Santa Barbara, 38(3):65-76, 1957.
36. HOLFORD, F.D. Mastitis and its effect upon the milk industry. Cornell Vet., Ithaca, 20(2):190-7, 1930.
37. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. A monograph on bovine mastitis. Part I. Brussels. 1971. (Annual Bulletin, 60).

38. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Somatic cells in milk. Their significance and recommended methods for counting. Brussels, 1979. (Annual Bulletin, 114).
39. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Laboratory methods for use in mastitis work. Brussels, 1981. (Annual Bulletin, 132).
40. JANSEN, J.J. Economic losses resulting from mastitis. A review. J. Dairy Sci., Champaign, 53(9)1151-61, 1970.
41. JENSEN, P.T. Investigations into the WHITESIDE -test and the C.M.T.-test for the detection of pathological secretions in herd milk samples. Nord. Vet. Med., Copenhagen, 9(8):590-608, 1957.
42. JOHNSON, S.D. & TRUDEL, F.G. Observations on the significance of leucocytes in milk. Cornell Vet., Ithaca., 22(4):354-66, 1932.
43. KRIEGER, A. Über die Anwendung des Schalm-Mastitis Test in der Kolostralmilchperiode beim Rind. Vet. Diss, München, 1961. In: HEIDRICH, H.J. & RENK, W. Mamitis. Enfermedades de las glandulas mamarias en los animales domesticos. 1ª ed. Barcelona, Editorial Labor SA, 1969. p.167-426.
44. LAING, M.C. & MALCOLM, J.F. The incidence of bovine mastitis with special reference to the non-specific condition. Vet. Rec., London, 68(28):474-55, 1956.
45. LANGENEGGER, J.; COELHO, N.M.; LANGENEGGER, C.H.; CASTRO, R.P. Estudo da incidência da mastite bovina na bacia leiteira do Rio de Janeiro. Pesq. Agrop. Bras., Rio de Janeiro, 5(3):437-40, 1970.
46. LANGENEGGER, J.; VIANI, M.C.E.; BAHIA, M.G. Efeito do agente etiológico da mamite subclínica sobre a produção de leite. Pesq. Agrop. Bras., Rio de Janeiro, 1(2) 47-52, 1981.

47. MARSHALL, R.T. & EDMONDSON, J.E. Value of California Mastitis Test records to the practitioner. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 140(1):45-9, 1962.
48. McDERMOTT, M.P.; ERB, H.N.; NATZKE, R.P. Predictability by somatic cell counts related, to prevalence on intramammary infection within herds. J. Dairy Sci., Champaign, 65(8):1535-9, 1982.
49. McDERMOTT, M.P.; ERB, H.N.; NATZKE, R.P.; BARNES, F.D.; BRAY, D. Cost benefit analysis of lactation therapy with somatic cell counts as indications for treatment. J. Dairy Sci., Champaign, 66(5):1198-1203, 1983.
50. MEEK, A.H.; BARNUM, D.A.; NEWBOULD, F.H.S. Use of total and differential somatic cell counts to differentiate potentially infected from potentially non-infected quarters and cows and between herds of various levels of infections. Journal Food Protec., Ames, 43(1):10-14, 1980.
51. MEIN, G.A.; GILMOUR, W.I.D.; BALLEK, J. Mastitis control in Vitoria: interrelationships between current practices and farmers knowledge, their bulk milk cell count and milk yield per cow. Aust. J. Dairy Techn., Victoria, 32(1):81-5, 1977.
52. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Serviço de Informação Agrícola, Rio de Janeiro, 1953, 342p.
53. MOXLEY, J.E.; KENNEDY, B.W.; DOWNEY, B.R.; BOWMAN, J.S.T. Survey of milking hygiene practices and their relationships to somatic cell counts and milk production. J. Dairy Sci., Champaign, 61(11):1637-44, 1978.
54. NADER FILHO, A.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ROSSI JR, O.D. Mastite subclínica em rebanhos produtores de leite tipo B. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., Belo Horizonte, 35(5):621-30, 1983.

55. NATZKE, R.P.; EVERETT, R.W.; POSTLE, D.S. Normal milk somatic cell counts. J. Milk Food Techn., Ames, 55(5): 261-3, 1972
56. PAAPE, M.J. et alii. Feulgen-DNA in milk as measures of udder irritations. J. Animal Sci., Champaign, 21(4): 1028, 1962.
57. PEARSON, J.K.L.; WRIGHT, C.L.; GREER, D.O. A study of methods for estimating the cell content of bulk milk. J. Dairy Res., London, 37(3):467-80, 1970.
58. PEARSON, J.K.L.; GREER, D.O.; SPENCER, B.K. The relationship between bulk milk cell count and cow and quarter mastitis incidence. Vet. Rec., London, 88(19):488-94, 1971.
59. PHIPPS, L.W. & NEWBOULD, F.H.S. Isolation and electronic counting of leucocytes in cows milk. Vet. Rec., London, 77(46):1377-79, 1965
60. PHIPPS, L.W. Electronic counting of cells in milk: examination of a chemical treatment for dispersal of milk fat. J. Dairy Res., London, 35(2):295-302, 1968.
61. POSTLE, D.S.; NATZKE, R.P.; EVERETT, R.W. Relationship between leucocyte counts in bulk milk and apparent quarter infections in Dairy herds. J. Milk Food Technol. Ames, 34(11):517-20, 1971.
62. POUTREL, B. & RAINARD, P. Predicting the probability of quarter infection (by major pathogens), from somatic cell concentration. Am. J. Vet. Res., Schaumburg, 43(7) 1296-99, 1982.
63. PRESCOTT, S.C. & BREED, R.S. The determination of the number of the body cells in milk by a direct method. J. Infect Dis., Chicago, 7(5):632-40, 1910.
64. REICHMUTH, J. Somatic cell counting interpretation of results. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION, Brussels. 1975 p.93-109. (Annual Bulletin, 85).

65. ROGICK, F.A.; PORTO, E.; GONÇALVES, M. A mamite subclínica no rebanho produtor de leite tipo B. Bol. I d. Animal. São Paulo, 22(Único):91-120, 1964.
66. SANTOS, E.C. Influência da mamite induzida por enterotoxina estafilocócica na composição e produção de leite de vaca. Belo Horizonte, Univ.Fed.Minas Gerais, 1974. 61p. (Tese, Mestrado).
67. SANTOS, E.C. & VILELA, M.A.P. Pesquisa de células somáticas no leite cru como critério de avaliação de qualidade. Arq. Bras. Med. Vet. Zoot., Belo Horizonte, 35(6):907-19, 1983.
68. SILVA, N. Mamite no rebanho bovino da Escola Média de Agricultura de Florestal, UFV-MG : I. Controle através da desinfecção pós-ordenha e do uso do Trimethoprim-sulfametoxazole. II. Frequência e etiologia. Belo Horizonte, Esc. Vet. UFMG. 1977. 81p. (Tese, Mestrado).
69. SCHALM, O.W. & NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 130(5):199-207, 1957.
70. SCHIMIDT-MADSEN, D. Fluoro-opto-electronic cell counting on milk. J. Dairy Res., London, 42(2):227-39, 1975.
71. SCHULTZ, L.H. Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. J. Am. Vet. Med. Assoc., Schaumburg, 170(10):1244-46, 1977.
72. SHELDRAKE, R.F.; HOARE, R.J.T.; WOODHOUSE, V.E.; MCGREGOR G.D. Cell volume to aid analysis and technique of somatic cell counts in milk. J. Dairy Sci., Champaign, 60(6):882-8, 1977.
73. SHELDRAKE, R.F.; HOARE, R.J.T.; MCGREGOR, G.D. Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cell, electrical conductivity and serum albumin in milk. J. Dairy Sci., Champaign, 66(3):542-7, 1983.



74. STOKES, W.E. & WEGAFORTH, A. The microscopic examinations of milk. Medicine News, 71:45-8, 1897. In: CULLEN, G.A. Cells in Milk. Vet. Bulletin, Farnham Royal, 36(6):337-47, 1966.
75. STRYNADKA, W.J. & THORNTON, H.R. The accuracy of the direct microscopic (Breed) count of bacteria and leucocytes in milk. J. Dairy Sci., Champaign, 20:685-92, 1937 apud CULLEN, G.A. Cells in milk, Vet. Bull. Farnham Royal, 36(6):337-46, 1966
76. SWEETSUR, A.W.M. & PHILLIPS, J.D. Effect of storage on the electronic cell count of milk. J. Dairy Res., London, 43(1):53-62, 1976.
77. SYRSTAD, D.O.; RON, I.; WIGGEN, J. factors affecting cell count in milk from individual cows. Nord.Vet.Med., Copenhagen, 31(3):114-21, 1979.
78. TATTERSFIELD, J.G.; ELLIOTT, R.E.W.; BROOKBANKS, E.O. New Zealand national mastitis survey: 1965-1966. Measures of mastitis prevalence. N. Z. Vet. J., Wellington. 24(3):40-4, 1976.
79. TOLLE, A.; ZEIDLER, H.; HEESCHEN, W. A method for the electronic determination of the cell count in milk. Milchwissenschaft, Munich, 21(2):93-8, 1966.
80. WAITE, R. & BLACKBURN, P.S. The chemical composition and cell count of milk. J. Dairy Res., London, 24(3):328-39, 1957.
81. WANASINGHE, D.D. & FROST, A.J. The prevalence of udder infection and mastitis in herds producing bulk milk with either consistently high or low cell count. Aust.Vet.J. Sydney, 55(8):374-80, 1979.
82. WARD, G.E. & SCHULTZ, L.H. Relationship somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. J. Dairy Sci., Champaign, 55(10):1428-31, 1972.

83. WHITESIDE, H. Observations on a new test for the presence of mastitis milk. Can. J. Public Health, Ottawa, 30: 40-51, 1939.