

Influência da estação do ano, do estágio de lactação e da hora da ordenha sobre o número de células somáticas do leite bovino

(Influence of the season of the year, stage of lactation and milking time on somatic cell counts in bovine milk)

C.G.C. Vasconcelos¹, A. Nader Filho^{2*}, L.A. Amaral², G.T. Pereira³

¹Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - UNESP - Jaboticabal, SP

²Departamento de Medicina Veterinária Preventiva
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias - UNESP
Rodovia Carlos Tonani, Km 5
14870-000 - Jaboticabal, SP

³Departamento de Ciências Exatas, FCAVJ-UNESP

RESUMO

De janeiro a outubro de 1995, foram realizadas contagens de células somáticas em 2.218 amostras de leite colhidas em 67 quartos de 17 vacas lactantes, nos estádios inicial, médio e final do período de lactação, nas ordenhas da manhã e tarde. As maiores médias dos logaritmos das contagens celulares foram observadas nas amostras de leite colhidas no estágio final da lactação (5,652cel/ml), no inverno (5,358cel/ml) e na ordenha da tarde (5,199cel/ml). As diferenças nas contagens celulares segundo o estágio da lactação e a hora da ordenha da manhã foram significativas ($P < 0,0001$). A maior ocorrência de amostras com contagens celulares superiores a 500.000cel/ml foi verificada no estágio final do período de lactação (34,9%), no inverno (23,6%) e na ordenha da tarde (21,3%). Esses resultados mostram a influência de fatores fisiológicos e de manejo (estádio de lactação e hora da ordenha) sobre o conteúdo de células somáticas do leite.

Palavras-Chave: Bovino, estágio de lactação, estação do ano, células somáticas

Recebido para publicação em 08 de outubro de 1996.

*Autor para correspondência

ABSTRACT

From January to October of 1995, somatic cell countings were accomplished in 2,218 milk samples collected from 67 quarters of 17 lactating cows at the initial, middle and final stages of lactation, in the morning and evening milkings. The highest means of cell countings were observed among the milk samples collected at the final stage of lactation (5.652cell/ml), in the winter (5.358cell/ml) and the afternoon milking (5.199cell/ml). The differences observed amongst the cell countings in samples obtained at the different stages of lactation and the morning and afternoon milkings were statistically significant ($P < 0.0001$). In contrast differences observed amongst the seasons of the year, showed to be non-significant at the level of 5% probability. Higher occurrence of samples with cell countings superior to 500,000cell/ml was verified at the final stage of lactation (34.9%), in the winter (23.6%) and the afternoon milking (21.3%). These findings show the influence of physiologic and management factors (stage of lactation and milking time) on milk cell concentrations.

Keywords: Bovine, stage of lactation, season of the year, somatic cells

INTRODUÇÃO

A elevada ocorrência das formas subclínicas da mastite bovina aliada à sua importância epidemiológica no mecanismo de transmissão dessa enfermidade, bem como a redução da quantidade e o comprometimento da qualidade do leite secretado pelos quartos afetados têm conduzido a várias investigações no País, com a finalidade de avaliar a eficiência dos métodos auxiliares de diagnóstico (Nader Filho et al., 1985; Vianni & Nader Filho, 1991; Nader Filho et al., 1991).

Dentre os vários métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina, a avaliação do conteúdo celular do leite destaca-se como um excelente indicador do estado sanitário da glândula mamária (Poutrel, 1982). Apesar das dificuldades existentes para o estabelecimento do limite divisório entre normalidade e anormalidade do conteúdo celular do leite (Guthy, 1979), a Federação Internacional de Laticínios tem aceito valores superiores a 500.000 células somáticas por mililitro de leite como indicativos de infecção (Guthy, 1979).

Apesar da elevada concordância entre as quantidades anormais de células somáticas do leite e o exame bacteriológico na detecção das formas subclínicas da mastite bovina (Schalm et al., 1971; Storper et al., 1981), este método auxiliar

de diagnóstico apresenta a desvantagem de proporcionar resultados falso-positivos em função da variação fisiológica do conteúdo celular do leite, decorrentes de alguns fatores, dentre os quais destacam-se o período de lactação (Kennedy et al., 1982; Nader Filho et al., 1991), a época do ano (Kennedy et al., 1982) e a hora da ordenha (Nader Filho et al., 1991).

Depreende-se, portanto, que o conhecimento dos referidos fatores é de interesse para o estabelecimento do diagnóstico da mastite bovina. Assim, idealizou-se o presente estudo com a finalidade de conhecer a influência da estação do ano, estágio da lactação e hora da ordenha sobre o número de células somáticas do leite oriundo de quartos sadios.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante o período de janeiro a outubro de 1995, foram colhidas 2.218 amostras de leite de 67 quartos sadios de 17 vacas da raça Holandesa, variedade preta e branca, puras ou cruzadas, numa propriedade rural produtora de leite de tipo A localizada no Município de Jaboticabal/SP.

A escolha dos animais e dos quartos glandulares fundamentou-se na ausência de sinais clínicos da mastite bovina (Blood & Henderson, 1976) e na ausência de grumos no leite diante do teste da caneca telada de fundo escuro, realizado antes do início da ordenha.

As estações do ano foram delimitadas de acordo com as características da latitude do Município de Jaboticabal/SP, citadas por Santos et al. (1983), quais sejam, primavera (setembro e outubro), verão (novembro, dezembro, janeiro e fevereiro), outono (março e abril) e inverno (maio, junho, julho e agosto).

Os estádios da lactação foram estabelecidos a partir da data de parição, sendo consideradas como pertencentes aos estádios inicial e final da lactação as vacas com até 60 dias após a parição e as com até 60 dias antes do início do processo de secagem, respectivamente, e como pertencentes ao estágio médio da lactação as vacas entre os limites acima estabelecidos (Van Horn & Wilcox, 1992).

Foram colhidas, semanalmente, amostras de leite dos quartos selecionados, alternando-se as ordenhas da manhã e tarde, de forma a obterem-se amostras

quinzenais para cada uma das ordenhas realizadas em ambos os períodos do dia, cujas contagens de células somáticas foram realizadas pelo método de Prescott & Breed (1910), descrito por Schalm et al. (1971).

Assim, após a homogeneização das amostras, depositavam-se 10µl de leite sobre a superfície de uma lâmina de vidro, distribuídas em uma área de 1cm². Após a secagem, as lâminas eram imersas em xilol por três minutos, drenadas e, em seguida, imersas em solução de álcool etílico a 95% por três minutos. Após a secagem, os esfregaços eram corados pelo método de Broadhurst & Paley (1939) modificado, descrito por Santos & Vilela (1983) e recomendado por Silva (1991). Em seguida, através da objetiva de imersão, efetuavam-se as contagens das células nucleadas em 100 campos distintos, sendo o resultado multiplicado pelo fator de trabalho (FT=6.500) do microscópio. O produto desta multiplicação expressava o número de células somáticas por mililitro de leite.

As amostras de leite que apresentavam contagens de células somáticas superiores a 500.000/ml (log. 5,699) eram submetidas ao isolamento e identificação de microrganismos patogênicos (Laboratory... 1981), com a finalidade de detectar a presença de casos de mastite subclínica. Foram consideradas falso-positivas aquelas que se mostravam negativas ao exame bacteriológico, porém com contagens celulares superiores ao referido valor. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, sendo os dados submetidos à análise de variância (Gomes, 1987).

RESULTADOS

A Tab. 1 mostra número de porcentagem de amostras de leite analisadas nas ordenhas da manhã e tarde e as médias dos logaritmos da contagem de células somáticas, segundo o estágio da lactação. Verifica-se que as médias dos logaritmos das contagens de células somáticas apresentam valores crescentes desde o início da lactação, tanto para amostras da ordenha da manhã como da tarde ($P<0,0001$). Verifica-se, também, que as médias dos logaritmos da contagem celular das amostras de leite colhidas na ordenha da tarde foram superiores às obtidas na ordenha da manhã ($P<0,0001$).

Tabela 1. Média dos logaritmos da contagem de células somáticas (CCS/ml) em amostras de leite nas ordenhas da manhã e da tarde, distribuídas de acordo com o estágio da lactação

Estádio da lactação	Ordenha da manhã			Ordenha da tarde			Total
	Amostras analisadas		Média dos logaritmos (CCS/ml)	Amostras analisadas		Média dos logaritmos (CCS/ml)	
	n	%		n	%		
Início	282	25,8	4,485	293	26,0	4,957	575
Médio	586	52,2	4,870	605	53,6	5,142	1.173
Final	239	22,0	5,420	231	20,4	5,642	470
Total	1.089	100,0	4,891	1.129	100,0	5,199	2.218

A Tab. 2 mostra número e percentagem de amostras de leite analisadas nas ordenhas da manhã e tarde e as médias dos logaritmos da contagem de células somáticas, segundo a estação do ano. As maiores médias foram observadas durante o inverno, tanto para as amostras de leite colhidas na ordenha da manhã como da tarde. Contudo, as diferenças observadas entre as contagens de células somáticas das amostras de leite colhidas durante as estações do ano não foram estatisticamente significativas. As médias dos logaritmos da contagem celular das amostras de leite colhidas na ordenha da tarde foram superiores às obtidas na ordenha da manhã ($P < 0,0001$).

Tabela 2. Média dos logaritmos da contagem de células somáticas (CCS/ml) em amostras de leite nas ordenhas da manhã e da tarde, distribuídas de acordo com a estação do ano

Estação do ano							
Estação do ano	Ordenha da manhã			Ordenha da tarde			Total
	Amostras analisadas		Média dos logaritmos (CCS/ml)	Amostras analisadas		Média dos logaritmos (CCS/ml)	
	n	%		n	%		
Primavera	161	14,8	4,762	152	13,4	5,206	313
Verão	147	13,5	4,919	148	13,0	5,235	295
Outono	249	22,9	4,894	299	26,6	4,895	549
Inverno	532	48,8	4,921	530	47,0	5,358	1.062
Total	1.089	100,0	4,891	1.129	100,0	5,199	2.218

A Tab. 3 mostra o número e a percentagem de resultados falso-positivos ante as contagens de células somáticas das amostras de leite de vacas sadias, obtidas nos três estádios da lactação, nas duas ordenhas. Observa-se que o estágio final da lactação foi o que apresentou maior ocorrência de resultados falso-positivos, tanto na ordenha da manhã como na da tarde. Verifica-se, também, que nos

diferentes estádios da lactação, os resultados falso-positivos foram mais freqüentes entre as amostras de leite colhidas na ordenha da tarde.

Tabela 3. Resultados falso-positivos ante a contagem de células somáticas em amostras de leite nas ordenhas da manhã e da tarde, distribuídos de acordo com o estágio da lactação

Estádio da lactação	Resultados falso-positivos			
	Ordenha da manhã		Ordenha da tarde	
	n	%	n	%
Inicial	25/282	8,6	46/293	15,3
Médio	67/568	11,5	113/605	18,2
Final	65/239	27,0	81/231	34,9
Total	157/1.089	14,4	240/1.129	21,3

A Tab. 4 mostra o número e a percentagem de resultados falso-positivos ante as contagens de células somáticas das amostras de leite oriundas de vacas sadias, obtidas nas ordenhas da manhã e da tarde, distribuídas de acordo com a estação ano. Observa-se que a menor e a maior ocorrência de resultados falso-positivos verificaram-se na primavera e no inverno, entre as amostras de leite colhidas na ordenha da manhã e da tarde, respectivamente. Durante as diferentes estações do ano, os resultados falso-positivos foram mais freqüentes entre as amostras de leite colhidas na ordenha da tarde.

Tabela 4. Resultados falso-positivos ante a contagem de células somáticas em amostras de leite nas ordenhas da manhã e da tarde, distribuídos de acordo com a estação do ano

Estádio da lactação	Resultados falso-positivos			
	Ordenha da manhã		Ordenha da tarde	
	n	%	n	%
Primavera	19/161	11,8	33/152	21,7
Verão	25/147	17,0	34/148	23,0
Outono	45/249	18,1	48/299	16,1
Inverno	68/532	12,8	125/530	23,6
Total	157/1.089	14,4	240/1.129	21,3

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O aumento progressivo do número de células somáticas das amostras de leite segundo o estágio da lactação, em ambas as ordenhas, coincide com as observações efetuadas por Ribas (1991) e Harmon (1994). Segundo Gieseck & Van Den Heever (1974), estas variações podem ser consideradas fisiológicas, pois na maioria dos casos são decorrentes das atividades proliferativas e degenerativas das células secretoras da glândula mamária, que ocorrem especialmente logo após o parto e durante o período que antecede a secagem da glândula mamária.

A maior média dos logaritmos das contagens de células somáticas das amostras da ordenha da tarde confirma os trabalhos de Schalm et al. (1971), Nader Filho et al. (1991) e Harmon (1994). Segundo Fox & Schultze (1985); tais achados talvez possam ser justificados pelo menor intervalo de tempo entre as ordenhas da manhã e da tarde do que aquele entre as ordenhas da tarde e a da manhã seguinte. Assim, haveria maior produção láctea na ordenha da manhã e por isso ocorreria o chamado efeito diluição, de modo a acarretar menor quantidade de células somáticas por mililitro de leite.

As diferenças entre as contagens de células somáticas das amostras de leite colhidas nas quatro estações do ano não foram significativas. Segundo Dohoo & Meek (1982), a elevação da temperatura ambiente associada ao aumento da umidade relativa do ar são fenômenos que podem determinar a elevação do conteúdo celular do leite. Paape et al. (1973) e Harmon (1994) afirmaram que o estresse térmico, decorrente de elevadas temperaturas, acarreta redução da quantidade de leite secretado pela glândula mamária e, conseqüente aumento da concentração das células somáticas contidas no produto.

Dados obtidos junto à Estação Agroclimatológica do Departamento de Ciências Exatas da FCAVJ/UNESP mostram que, no ano de 1995, as temperaturas máximas mais elevadas verificadas no Município de Jaboticabal/SP ocorreram no verão (janeiro) e no inverno (agosto), 31,4°C e 31,7°C, respectivamente. Contudo, os valores de umidade relativa observados nos referidos meses foram de 84,1% e 48,6%, respectivamente.

Acredita-se que os resultados desta investigação parecem assumir destacada importância no sentido de oferecer subsídios que permitam elevar a eficiência dos métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina que se fundamentam na avaliação do conteúdo celular do leite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLOOD, D.C., HENDERSON, J.A. *Medicina veterinaria*. 3.ed. México: Interamerica, 1976, 1008p.
- BROADHURST, J., PALEY, C. A single-dip stain for the direct examination of milk. *J. Am. Med. Assoc.*, v.94, p.525-529, 1939.
- DOHOO, I.R., MEEK, A.H., Somatic cell counts in bovine milk. *Can. Vet. J.*, v.23, p.119-125, 1982.
- FOX, L.K., SCHULTZ, L.H. Effect of infection status of quarter milk production and composition following omitted milking. *J. Dairy Sci.*, v.68, p.418-423, 1985.
- GIESECKE, W.H., VANDENHEEVER, H. The diagnosis of bovine mastitis with particular reference to subclinical mastitis: a critical review of relevance literature. *Onderstepoort J. Vet. Res.* v.41, p.169-212, 1974.
- GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. Piracicaba: ESALQ, 1987. 403p.
- GUTHY, K.I. The significance of the somatic cell of raw milk in relation to the quality of heated-treated milk and milk products: a review. *Bull. Int. Dairy Fed.*, n.114, p.4-8, 1979.
- HARMON, R.J. Symposium: Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count-physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.*, v.77, p.2103-2122, 1994.
- KENNEDY, B.W., SETHAR, M.S., TONG, A.K.W. et al. Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holsteins. *J. Dairy Sci.*, v.65, p.275-280, 1982.
- LABORATORY methods for use in mastitis work. *Bull. Int. Dairy Fed.*, n.132, 24p., 1981. (IDF Seminar on Mastitis Control of Reading, England, in abril, 1975).
- NADER FILHO, A., ANCHIETA, F.C., AMARAL, L.A. et al. Variação do número de leucócitos polimorfonucleares em amostras de leite de vacas sadias, durante os diferentes meses do período de lactação. *Ars. Vet.*, v.7, p.13-19, 1991.
- PAAPE, M.J. et al. Leucocytes second line of defense against invading mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.*, v.56, p.135-153, 1973.
- POUTREL, B. Susceptibility to mastitis: a review of factors related to the cow. *Annual Res. Vet.*, v.13, p.85-89, 1982.
- PRESCOTT, S.C., BREED, R.S. The determination of number of the body cells in milk by a direct methods. *J. Inf. Dis.*, v.7, p.432-440, 1910.
- RIBAS, N.P. Análise do leite. *Rev. Gado Holandês*, v.57, p.92-94, 1991.

- SANTOS, E.C., VILVLA, M.A.P. Pesquisa de células somáticas no leite cru como critério de avaliação da qualidade. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.35, p.507-519, 1983.
- SANTOS, R., ANDRE, R.G.B., VOLPE, C.A. Estimativa da radiação solar global em Jaboticabal/SP. *Cientifica*, v.11, p.31-39, 1983.
- SCHALM, O.W., CARROL, E.J., JAIN, N.C. *Bovine mastitis*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. p.182-282.
- SILVA, J.A.B.A. *Avaliação das características do leite de vacas com mastite, induzida experimentalmente por Staphylococcus agalactiae*. 1991. Itaguaí: UFRRJ. Inst. Veterinárias, 1991. 86p. Dissertação (Mestrado)
- STORPER, M., ZIV, G., SARAN, A. Evaluation of several milk sampling methods for the diagnosis of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* mastitis. *Refuah Vet.*, v.38, p.199-153, 1981.
- VAN HORN, N.H., WILCOX, C.J. Monitoring milk quality and udder health. In: *Large dairy herd mangement*. Champaign: American Dairy Science Association. 1992. p.475-486.
- VIANNI, M.C.E., NADER FILHO, A., Variação das características físico-químicas e celulares do leite de vacas com mastite subclínica. *Bol. Cien. Vet.*, v.4, p.8-9, 1991.