

INFLUÊNCIA DO TIPO DE LEITE PRODUZIDO NO EMPREGO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS PARA O DIAGNÓSTICO DAS AFECÇÕES DA GLÂNDULA MAMÁRIA

**A.M.M.P. DellaLibera¹, S.S. Kitamura¹, A.M.F. Rosenfeld¹,
M. Garcia², R.M.S. Mirandola¹, W.P. de Araujo¹**

¹Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária, FMVZ-USP, Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508-000, São Paulo, SP, Brasil.

RESUMO

Objetivando-se comparar a contagem de células somáticas (CCS) do leite de vacas mantidas em estabelecimentos produtores de leite tipo A e B, oriundas de quartos mamários sem alterações ao exame físico e à prova do fundo escuro, foram colhidas 683 amostras. Quatro grupos foram constituídos, conforme o CMT e isolamento bacteriano: "cl clinicamente sadio", "portadores ou infectados", "mamite sem isolamento" e "mamite infecciosa". Após a análise estatística concluiu-se que: a maioria das amostras analisadas apresentou CMT e/ou crescimento bacteriológico positivos, independentemente do sistema de produção; a CCS foi mais sensível que o CMT para identificar variações discretas como nos grupos "cl clinicamente sadio" e "portador ou infectado"; o sistema de produção não interferiu na maior parte das CCS, mas foi significativo quanto à presença e ao tipo de microrganismo isolado; a sensibilidade, a especificidade e a eficiência foram semelhantes independentemente ao sistema de produção; a sensibilidade da CCS foi menor nas baixas contagens e maior com o aumento da celularidade, ocorrendo o inverso quanto à especificidade; a eficiência da CCS foi maior para identificar amostras sem crescimento bacteriano empregando-se o limite de 100.000 células / mL, embora as medianas dos "portadores ou infectados" de ambos os grupos, estivessem muito próximas do limite.

PALAVRAS-CHAVE: CCS, mamite, leite tipo A, leite tipo B, diagnóstico, bovino.

ABSTRACT

MILK PRODUCE SYSTEM INFLUENCE ON MAMMARY AFECTIONS DIAGNOSIS BY SOMATIC CELL COUNT. This study was aimed to compare somatic cell count (SCC) of milk samples collected deriving from cows kept in different produce systems (milk type A and B). The 683 milk samples were taken from the mammary gland that did not show alteration in physico-chemical neither on the tamis exams. The samples were separated in four groups: "clinically healthy", "carrier or infected", "no isolated mastitis organisms" and "infectious mastitis". After the statistical analysis, it was concluded that, no matter what kind of productive system, the majority of the samples was positive in CMT and / or organisms isolated; the SCC was more sensitive than CMT to identify slight variations as in "clinically healthy" and "carrier or infected"; the productive system did not interfere in most of SCC, but it was significant to study the presence and types of the isolated organisms. Sensitivity, specificity and efficiency were similar for both milk produce milk types; the SCC level of sensitivity was lower for the small cell count and higher with the increasing of the cell count, but this result was reversed for the specificity levels. It was proved to be better to identify samples without isolated organisms through the SCC efficiency study, using the SCC limit level of 100,000 cells / mL, although the average of the "carrier" group in both milk types A and B was near the limit.

KEY WORDS: SCC, mastitis, milk type A and B, diagnosis, bovine.

²Faculdade de Medicina Veterinária - UNIP

INTRODUÇÃO

A mamite (do latim *mammae*) ou mastite (do grego *mastos*) bovina é uma doença de grande importância, sobre a qual muito se tem investigado. Identificar uma mama doente, na maioria dos casos não representa uma tarefa difícil, mas considerar um quarto efetivamente sadio ou em vias de apresentar alguma alteração ainda é discutível. Além disso, a maioria das mamites apresenta-se sem sinais físicos de processo inflamatório agudo, sendo crônicas ou incipientes e, apesar do aspecto inofensivo, causam sérios prejuízos econômicos e servem de fonte de infecção (COSTA, 1998).

Esses já seriam motivos suficientes para justificar o diagnóstico precoce da doença (DELLA LIBERA *et al.*, 1999), assim como, aprimorar o diagnóstico da mamite, analisando-se a influência de outros fatores, entre os quais, os diferentes sistemas oficiais de produção leiteira no Brasil, que podem interferir tanto nos fatores predisponentes como nos determinantes da doença (ARAUJO, 1994).

Mamite é um processo inflamatório da mama que deverá ser diagnosticado pelo exame desta (inspeção e palpação), complementado pelo exame do leite no qual avalia-se principalmente suas características macroscópicas (prova do fundo escuro), sua celularidade (*California Mastitis Test* ou CMT e contagem de células somáticas ou CCS), seu perfil microbiológico, entre outras provas menos triviais (GRUNERT, 1993). COSTA *et al.* (1996), comparando a prova do CMT e o exame microbiológico, obtiveram uma concordância de 70,97% em 5.047 exames realizados, confirmando o CMT como método auxiliar de diagnóstico de mamite, embora os autores considerassem que o exame microbiológico era mais indicado na orientação terapêutica, principalmente quando associado ao teste de sensibilidade antimicrobiana *in vitro*.

As bactérias dos gêneros *Corynebacterium*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, são as mais comumente isoladas nas mamites (WATTS, 1988; COSTA *et al.*, 2000) e os principais pontos críticos da doença são a higiene e o manejo de ordenha (COSTA *et al.*, 2000). Um exemplo da diversidade de condições higiênicas e de manejo é observada e normatizada nos sistemas de produção de leite tipo A e B adotadas no país (BRASIL, 1997) e que, por estar passando por uma fase de desativação gradual, deverá ainda ser investigada, para extrairmos o máximo de informações do sistema de criação e manejo nos quais nossos animais vêm, de há muito tempo, sendo mantidos, contribuindo assim, para auxiliar no diagnóstico da mamite no novo sistema de produção leiteira em implantação no Brasil, tal como já observado em outros países do mundo (ZECCONI & PICCININI, 1999).

O que ocorre numa mama "aparentemente" normal, sem alterações à inspeção, palpação e prova do

fundo escuro e, como o ambiente em que esse animal é mantido produzindo interfere na qualidade do leite, são condições a serem investigadas que podem trazer importantes informações para a compreensão da doença.

O objetivo do presente trabalho é avaliar a contagem de células somáticas de amostras de leite (CCS) de vacas mantidas em estabelecimentos produtores de leite tipo A e B, oriundas de glândulas mamárias sem alterações do exame físico seus (inspeção e palpação) e na prova do fundo escuro, com a finalidade de:

a) Analisar os valores de CCS frente a diferentes associações de resultados da prova do CMT e do exame bacteriológico.

b) Verificar a sensibilidade, a especificidade e o coeficiente global, considerando-se diferentes limites de celularidade.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 180 fêmeas bovinas da raça holandesa, sendo 80 vacas de granja leiteira ou leite tipo A e 100 vacas de estábulo leiteiro ou leite tipo B (BRASIL, 1997), localizadas nos municípios paulistas de Mogi Mirim, Santa Rita, Caçapava, Pirassununga e Descalvado, das quais foram colhidas 303 e 380 amostras de leite.

As colheitas ocorreram antes da ordenha, imediatamente após limpeza dos tetos com solução clorada e secagem, seguida da prova do fundo escuro, CMT (SCHALM & NORLANDER, 1957) e a anti-sepsia do orifício do teto.

Foram excluídos das colheitas os animais com alterações ao exame físico da glândula mamária (inspeção e palpação) e/ou que apresentaram grumos na prova do fundo escuro.

Além de serem submetidas à contagem de células somáticas (SUBCOMMITTEE ON SCREENING TESTS NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1968), as amostras foram semeadas em placas de Petri contendo ágar-sangue de carneiro (5%) e incubadas (37° C por 24 e 48 horas). Nas amostras positivas procedeu-se a identificação do gênero dos microrganismos (LENNETTE *et al.*, 1985; KRIEG & HOLT, 1994).

Para identificar a celularidade média das amostras de leite com diferentes perfis de CMT e exame microbiológico, as amostras dos quartos mamários, colhidas nos dois sistemas de produção, foram analisadas em 4 grupos, a saber: G1 composto por amostras negativas ao isolamento bacteriano e ao CMT; G2 com amostras positivas ao isolamento bacteriano e não reagentes ao CMT; G3 com amostras negativas ao isolamento bacteriano e reagentes ao CMT e G4 constituído por amostras positivas ao isolamento bacteriano e reagentes ao CMT.

A alteração da viscosidade da mistura de leite e reagente do CMT, após dez segundos de homogeneização, independente ao grau, foi considerada positiva.

Para se avaliar a sensibilidade, especificidade e o coeficiente global dos diferentes limites de celularidade na identificação da ausência de crescimento bacteriano, as amostras de leite colhidas das vacas dos estabelecimentos produtores de leite tipo A e do tipo B, foram divididas em 8 categorias conforme seus limites de celularidade (25.000, 50.000, 100.000, 200.000, 300.000, 400.000, 500.000 e 750.000 células / mL de leite).

Devido à distribuição não paramétrica de seus valores, os resultados da CCS dos quatro grupos, dos dois sistemas de produção (G1A, G1B, G2A, G2B, G3A, G3B, G4A, G4B), foram analisados e comparados pelo teste de Mann-Whitney e expressos em mediana (SAMPAIO, 1998).

A sensibilidade, a especificidade e o coeficiente global, foram calculados conforme descrito por CÔRTEZ (1993).

A distribuição de freqüências dos quatro grupos experimentais e quanto ao resultado do exame microbiológico foi submetida ao teste de χ^2 ($\alpha = 5\%$) (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta investigação, a referência aos sistemas de produção leiteira A e B buscou caracterizar indiretamente o tipo de manejo adotado (higiene de produção), como já descrito anteriormente por ARAUJO (1994) e COSTA *et al.* (2000). Apesar dessa associação só ser encontrada no Brasil e estar caminhando para sua desativação, o estudo de sistemas estratificados quanto à higiene de produção, quase sempre relacionados ao grau de especialização do criatório, é referida por outros autores (ZECCONI & PICCININI, 1999).

Considerando que o grupo G1 era negativo tanto ao CMT quanto ao isolamento bacteriano, foi identificado como "cl clinicamente sadio". Por sua vez, no grupo G2 identificou-se "quartos infectados ou portadores", pois poderia representar um achado fortuito (presença do agente em estruturas mais distais da glândula mamária, sem que estivesse causando um quadro infeccioso) ou fase inicial de uma mamite ou ainda, a presença de um patógeno que não deflagra resposta celular da glândula (apatógeno ou de baixa patogenicidade) ou mesmo uma mama não responsiva à presença do agente. Os grupos G3 e G4 foram constituídos por amostras de leite de quartos com "mamite" por haver um aumento da celularidade, fato que, no G3, poderia ser atribuído, na maioria das vezes, a um processo inflamatório, ou seja, proveniente de uma "mamite sem isolamento". A ausência de

isolamento poderia ser atribuída a um processo inflamatório asséptico, circunstancialmente ou não, promovido por alterações fisiológicas (por exemplo: fase da lactação). A ausência de isolamento também poderia ser atribuída às limitações da técnica do exame microbiológico uma vez que nenhuma técnica diagnóstica apresenta 100% de acerto e essa variação é descrita na literatura (ESTRELLA, 2001; ZECCONI & PICCININI, 1999).

O grupo G4 foi constituído por amostras de leite positivas aos exames do CMT e isolamento bacteriológico, provenientes de vacas que, na inspeção indireta do leite, mostraram-se indubitavelmente com "mamite de origem infecciosa", ou seja, com a presença do agente bacteriano determinante e resposta inflamatória celular, sintomas fundamentais para o diagnóstico da doença, embora os sinais físicos não estivessem manifestos.

Das 303 amostras de leite colhidas dos quartos mamários de vacas criadas nos estabelecimentos produtores de leite tipo A, 135 (44,6%) foram distribuídas como pertencentes ao G1, 69 (22,8%) ao G2, 23 (7,6%) ao G3 e 76 (25%) amostras que pertenciam ao grupo G4. Das 380 amostras de leite colhidas dos quartos mamários de vacas criadas nos estabelecimentos produtores de leite Tipo B, 161 (42,4%) apresentaram as características definidas ao G1, 118 (31%) ao G2, 14 (3,7%) ao G3 e 87 (22,9%) amostras ao G4. A distribuição das amostras, segundo os respectivos grupos pré-estabelecidos nesta investigação, está apresentada na Figura 1.

A comparação entre as freqüências pelo teste do χ^2 mostrou serem semelhantes os valores percentuais entre o G1A e G1B, assim como em G4A e G4B ($p > 0,05$), ou seja, os dois sistemas de produção, apresentaram a mesma quantidade de amostras "cl clinicamente sadias" e com "mamite infecciosa". Entre os grupos G2 e G3 houve diferença significativa, sendo $G2B > G2A$ (maior freqüência de "portadores" nas amostras do leite tipo B) e $G3A > G3B$ (maior freqüência de animais com "mamite sem isolamento" no leite tipo A). Talvez isso se explique pelas exigências de higiene de produção serem maiores para o leite tipo A, estando o animal mais exposto à infecção por microrganismos no sistema de leite tipo B.

Nas propriedades empregadas nesse experimento, as principais diferenças estavam nas granjas leiteiras apresentarem rebanhos maiores, os animais serem submetidos a três ordenhas diárias em sistema de circuito fechado, possuírem assistência veterinária permanente e, talvez pelo alto investimento nas instalações e demais prerrogativas legais para produção de leite A, uma preocupação maior com os índices de produção.

Nos estábulos leiteiros desse estudo, encontrou-se ordenha mecânica em circuito fechado e balde ao pé, duas ordenhas diárias e, muitas vezes, uma preocu-

pação menor com a qualificação dos ordenhadores e segregação de animais doentes.

Independentemente do sistema de produção, todas procediam higienização dos tetos antes da ordenha, secagem com papel individual e anti-sepsia pós-ordenha.

ESTRELLA (2001), trabalhando com animais apresentando baixíssimas CCS, encontrou 2,41% de suas amostras reagentes ao CMT e negativas no exame microbiológico e, portanto compatível ao que foi atribuído neste estudo, ao grupo de "mamite sem isolamento".

É interessante notar que pouco mais de 40% dos quartos mamários sem alterações ao exame físico e negativos a prova do fundo escuro, também foram negativos no CMT e no exame microbiológico (G1), sendo o grupo predominante em todos os tratamentos. Porém, mais da metade das amostras colhidas de quartos mamários sem alterações à inspeção e palpação, negativos na prova do fundo escuro, apresentaram CMT e/ou exame bacteriológico positivos, estando por isso sob suspeição de anormalidade.

A alteração de menor frequência foi encontrada no G3, considerada "mamite sem isolamento", onde se verificou aumento da celularidade (CMT positivo) e ausência de isolamento do patógeno. Essas constatações confirmam a importância de investigá-las, estratificando-as, pois em uma abordagem mais verticalizada pode-se identificar quadros incipientes e a dinâmica dos processos infecciosos.

Na segunda etapa do experimento, após comparar as frequências das diversas manifestações, a preocupação foi identificar diferenças na celularidade desses grupos e, posteriormente, avaliar se o perfil microbiológico diferia, entre os grupos provenientes de um mesmo sistema de produção e entre esses.

Na Tabela 1 estão apresentadas as respectivas medianas da CCS dos diferentes grupos ($\times 10^3$ células / mL). Quando comparados os grupos do leite tipo A e B, todos os grupos apresentaram a mesma tendência ($p < 0,00001$ e $p < 0,004$, respectivamente), sendo que as amostras das glândulas consideradas "cl clinicamente sadias" (G1) apresentaram valores menores das contagens celulares que os demais grupos e as amostras com mamite, dos G3 ("mamite sem isolamento") e G4 ("mamite infecciosa") foram semelhantes entre si, porém com valores superiores aos demais grupos. Pode-se observar que a CCS das amostras "cl clinicamente sadias" foram inferiores aos demais grupos, seguidas das amostras consideradas "infectadas ou portadoras", em ambos os sistemas de produção, apesar de o G2B ter apresentado uma frequência maior na análise anterior, seus diagnósticos poderiam respeitar limites de celularidade específicos, mas não seriam identificadas apenas pelo CMT, pois mesmo sendo significativa a diferença da CCS, esses

limites estão muito próximos e dentro de valores de celularidade insuficientes para alterar a viscosidade da reação, embora COSTA *et al.* (1996) tenham referido uma alta concordância. No grupo caracterizado como "portador ou infectado", deve-se levar em conta dois conceitos distintos. Considera-se portador o indivíduo que alberga e dissemina o agente, sem manifestar qualquer alteração e considera-se infectado quando o microrganismo estando instalado pode se multiplicar. Essa mama que alberga o agente isolado manifesta modificação da celularidade identificável à CCS (diferiu de G1) mas não ao CMT e, potencialmente poderia disseminar o agente, servir de fonte de infecção, comprometer quantitativa e qualitativamente a produção, sem ser identificada por um teste comumente empregado para triar amostras alteradas como o CMT. Por outro lado, pode-se considerar que a lesão apresenta-se muito sutil para uma resposta inflamatória mais significativa e as prováveis chances do processo ser controlado pelo hospedeiro durante sua evolução, são hipoteticamente maiores. Apesar de ser considerada "infectada", a condição de "doente" dependerá da evolução do processo, o que não exclui que deva ser posta em observação e sejam adotadas medidas de controle.

Quanto ao número de células, não houve diferença entre os tipos de leite nos grupos ($G1A \cong G1B$ e $G3A \cong G3B$) ($p > 0,07$), enquanto que, no grupo G2 os valores encontrados foram menores no leite tipo A quando comparado ao tipo B ($p < 0,01$). No grupo G4 o leite do tipo B apresentou valores menores do número de células do que o tipo A ($p < 0,02$) (Tabela 1).

Associando-se as análises, observamos que, neste estudo, as amostras provenientes de vacas com mamite apresentaram contagens celulares semelhantes entre si (CCS de G3A, G3B, G4A e G4B), independentemente do tipo de produção, mas suas frequências foram diferentes ($G3A > G3B$). Apesar de estatisticamente semelhantes, houve uma tendência a G3A ser maior que G4A e G3B ser maior que G4B. Tanto a CCS de G3 como G4 estavam acima do limite mais eficiente para identificação de positividade (100.000 células / mL), embora G3 não apresentasse crescimento bacteriológico (Tabela 1).

ARAUJO (1994) já havia referido a preocupação em conhecer os parâmetros fisiológicos do leite de vacas criadas no Estado de São Paulo submetidas a diferentes condições higiênicas e de manejo. Apesar de ter utilizado outra metodologia, esse autor referiu ter o leite Tipo A uma CCS média inferior, menor frequência de isolamento bacteriano e, na sua maioria, as amostras foram negativas ao CMT, quando comparadas ao leite Tipo B. Pode-se observar o mesmo comportamento sob outro ponto de vista, uma vez que as amostras positivas e negativas ao crescimento bacteriológico foram subdivididas em dois grupos.

Tabela 1 – Medianas das contagens de células somáticas (CCS) das amostras do leite dos respectivos grupos.

Grupos	CCS			
	A		B	
	Mediana		Mediana	
	N	(x10 ³ células/ mL)	N	(x10 ³ células/ mL)
G1	135	30,4 ^{Ac}	160	37,4 ^{Ac}
G2	69	98,2 ^{Bb}	118	138,0 ^{Ab}
G3	23	1029,1 ^{Aa}	14	619,7 ^{Aa}
G4	76	857,1 ^{Aa}	87	523,8 ^{Ba}

Letras maiúsculas distintas nas linhas indicam diferenças significativas entre os tipos de leite.

Letras minúsculas distintas nas colunas indicam diferenças significativas entre os grupos.

Os microrganismos identificados nesse estudo foram aqueles já apontados como os mais comuns por COSTA *et al.* (2000) que investigaram amostras positivas nas provas de fundo escuro e / ou CMT.

Quanto à identificação do gênero das bactérias isoladas, avaliadas no teste do χ^2 , os grupos foram confrontados 2 x 2, ou seja, G2 do leite tipo A (G2A) x G4 do leite tipo A (G4A); G2A x G2B; G2B x G4B; G4A x G4B, onde foram encontrados os seguintes resultados: com relação ao *Staphylococcus* sp. só não houve diferença no G2B x G4B e nos demais as diferenças ocorreram nos grupos G2 e G4 do leite tipo A. Com relação ao *Streptococcus* sp. houve diferenças nos confrontos G2A x G4A e G2B x G4B devido aos G4 do leite tipo A e B. Quanto ao *Corynebacterium* sp. não ocorreu diferença somente no confronto G2A x G4A, e nos demais, as diferenças se deram devido aos grupos do leite B (Tabela 2 e Tabela 3). Assim sendo, foi maior a frequência de *Staphylococcus* no leite A; mas no G4A a maior frequência foi de *Streptococcus* no primeiro confronto e no G4B no terceiro. A maior frequência de *Corynebacterium* foi encontrada no leite tipo B (Tabela 2).

COSTA *et al.* (1994) estudaram a condição de portador de *Staphylococcus* sp., de vacas criadas em sistemas de produção de leite B e C no Estado de São Paulo e

Tabela 2 - Frequência de isolamento de microrganismos (%) de acordo com resultado do CMT em amostras de leite de bovinos.

	Grupos	G2A	G4A	G2B	G4B
Microrganismos					
<i>Corynebacterium</i> sp.		18,6	10,6	50,4	23,6
<i>Staphylococcus</i> sp.		75,7	57,6	36,4	41,6
<i>Streptococcus</i> sp.		5,7	29,5	13,2	34,8
Leveduras		-	2,3	-	-
Total		100	100	100	100

G2A= grupo 2 ("portador ou infectado") do leite tipo A; G4A= grupo 4 ("mamite infecciosa") do leite tipo A; G2B= grupo 2 ("portador") do leite tipo B; G4B= grupo 4 ("mamite infecciosa") do leite tipo B.

também encontraram níveis significativos de portadores e, após um acompanhamento com CMT e exame microbiológico por vários dias, concluíram que o padrão de infecções intramamárias é dinâmico, os grupos não são estáveis, embora apresentem tendências nítidas, através de uma única tomada de exames seria difícil conhecer o verdadeiro estado imunológico e microbiológico da glândula mamária.

A maior frequência de isolamento de *Staphylococcus* sp. nas amostras colhidas de animais produtores de leite tipo A acompanha a tendência dessa bactéria estar associada a sistemas de produção mais especializados e o *Streptococcus* a sistemas menos especializados (ZECCONI & PICCININI, 1999), sendo possível que o predomínio no grupo de "portadores ou infectados" deva-se aos coagulase-negativos ou outras cepas de menor patogenicidade.

Os valores de sensibilidade, especificidade e coeficiente global (eficiência) dos diferentes limites de celularidade (CCS) na identificação de amostras negativas no exame microbiológico, oriundas de animais mantidos em estabelecimentos produtores de leite Tipo A, foram, respectivamente, 35%, 93,1% e 63% para as amostras com até 25.000 células/mL (n = 66); 60%, 86,2% e 72,5% para as amostras com até 50.000 células/mL (n = 115); 75%, 75,9% e 75,2% para as amostras com até 100.000 células/mL (n = 153); 85%, 52,4% e 69,3% para as amostras com até 200.000 células/mL (n = 203); 87%, 44,8% e 67% para as

Tabela 3 – Resultados das comparações dos respectivos grupos quanto às frequências de isolamento bacteriano, pelo teste do χ^2 .

	G2 A x G4 A	G2 A x G2 B	G2 B x G4 B	G4 A x G4 B
<i>Staphylococcus</i> sp.	S	S	NS	S
<i>Streptococcus</i> sp.	S	NS	S	NS
<i>Corynebacterium</i> sp.	NS	S	S	S
Leveduras	-	-	-	-

S= significativa (p < 0,05), NS= não significativa (p > 0,05).

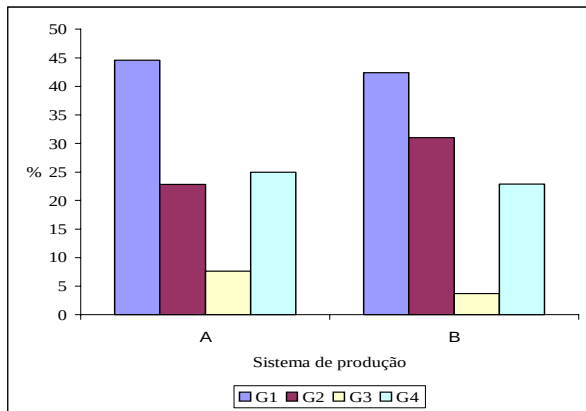


Fig. 1 – Distribuição das amostras (%) provenientes de sistemas de produção de leite tipo A e B, nos respectivos grupos.

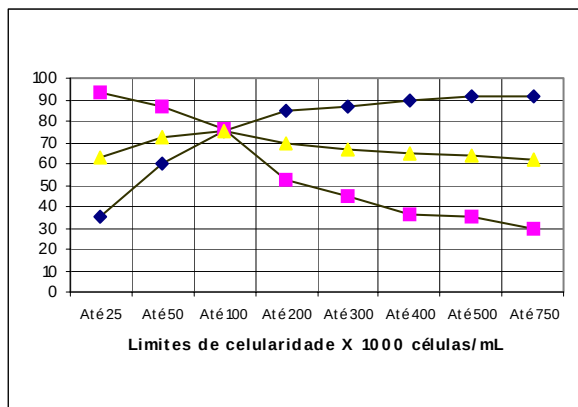


Fig. 2 – Sensibilidade, especificidade e coeficiente global de diferentes limites de celularidade de amostras de leite de vacas, criadas em sistema de produção de leite tipo A, na identificação de amostras negativas no exame bacteriológico.

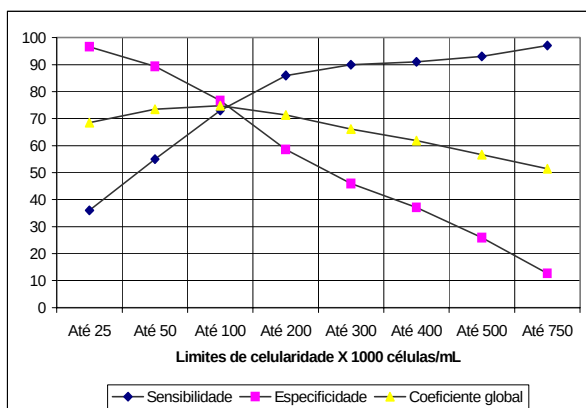


Fig. 3 – Sensibilidade, especificidade e coeficiente global de diferentes limites de celularidade de amostras de leite de vacas, criadas em sistema de produção de leite tipo B, na identificação de amostras negativas no exame bacteriológico.

amostras com até 300.000 células / mL ($n = 218$); 90%, 36,6% e 64,4% para as amostras com até 400.000 células / mL ($n = 234$); 91%, 35,2% e 64% para as amostras com até 500.000 células / mL ($n = 237$); 91%, 29,7% e 61,7% para as amostras com até 750.000 células / mL ($n = 246$). Nos estabelecimentos produtores de leite Tipo B, a sensibilidade, especificidade e coeficiente global foram de 36%, 96,6% e 68,5% para as amostras com até 25.000 células / mL ($n = 70$); 55%, 89,3% e 73,5% para as amostras com até 50.000 células / mL ($n = 119$); 73%, 76,6% e 74,8% para as amostras com até 100.000 células / mL ($n = 176$); 86%, 58,5% e 71,4% para as amostras com até 200.000 células / mL ($n = 237$); 90%, 45,9% e 66,1% para as amostras com até 300.000 células / mL ($n = 269$); 91%, 37,1% e 61,9% para as amostras com até 400.000 células / mL ($n = 289$); 93%, 25,9% e 56,7% para as amostras com até 500.000 células / mL ($n =$); 97%, 12,7% e 51,4% para as amostras com até 750.000 células / mL ($n = 349$), respectivamente.

Os resultados estão representados nas Figuras 2 e 3, onde se observa a tendência crescente da sensibilidade e decrescente da especificidade para o diagnóstico da ausência de patógenos de acordo com a celularidade, além da maior eficiência da prova empregando-se limite de 100.000 células / mL. O atual estudo concorda com os resultados apresentados por DELLA LIBERA *et al.* (1999) que, num estudo preliminar avaliando apenas amostras de leite provenientes de animais mantidos em sistema de criação para produção de leite tipo A, também encontraram maior sensibilidade nos limites mais elevados, maior especificidade nos menores limites de CCS e uma maior eficiência da prova empregando-se o limite de 100.000 células / mL, demonstrando ser a CCS aplicada à identificação de amostras negativas, independentemente ao sistema de produção que aqui foram considerados os sistemas para produção de leite tipo A e B. Esse resultado também corrobora com o anterior que demonstrou a limitação do emprego exclusivo do CMT para identificar alterações mais discretas pois esse limite provavelmente apresentaria-se não reagente ao CMT (COSTA *et al.* 1996).

CONCLUSÕES

- a) a maioria das amostras analisada apresentou CMT e / ou crescimento bacteriológico positivos, independentemente do sistema de produção;
- b) a CCS foi mais sensível que o CMT para identificar variações mais discretas como as verificadas nos grupos "cl clinicamente sadio" e "portador ou infectado";
- c) Os sistemas de produção estudados não interferiram na maior parte das CCS, mas foi significativa a variação da CCS quanto a presença e ao tipo de microrganismo isolado;

d) apesar de presente em todos os grupos, os isolamentos de *Staphylococcus* sp. predominaram nos "portadores" do sistema de produção de leite tipo A, enquanto os isolamentos de *Streptococcus* sp. corresponderam mais aos grupos com "mamite infecciosa", independentemente do tipo de leite; houve mais isolamento de *Streptococcus* sp. nas "mamites infecciosas" que nos "portadores" em ambos sistemas;

e) houve mais isolamento de *Corynebacterium* sp. nos "portadores" que nas "mamites" em ambos sistemas mas, nas "mamites" do leite B, foi maior do que nas do leite A;

f) a sensibilidade, a especificidade e o coeficiente global foram semelhantes independentemente ao sistema de produção;

g) a sensibilidade da CCS foi menor nas baixas contagens e maior com o aumento da celularidade, ocorrendo o inverso quanto à especificidade; a eficiência da CCS foi maior para identificar amostras sem crescimento bacteriano empregando-se o limite de 100.000 células / mL, embora as medianas dos "portadores ou infectados" de ambos os grupos, estivessem muito próximas deste limite.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, W.P. *Constituição Físico-química, celular e microbiológica de leites tipo A, B e especial colhidos de vacas criadas no Estado de São Paulo. Contribuição à semiologia da glândula mamária*. São Paulo: 1994. 54p. [Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo].
- BRASIL. Lei nº 1283, 18 de dezembro de 1950. Dispõe sobre a inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – DIPOA. DIVISÃO DE NORMAS TÉCNICAS. *Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal*. Brasília: Ministério da Agricultura do Abastecimento, 1997. p.6-9. Publicado no Diário Oficial da União em 19/12/1950.
- BRASIL. Decreto nº 30.691, 29 de março de 1952. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. In: MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, DO ABASTECIMENTO. DEPARTAMENTO DE INSPEÇÃO DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL – DIPOA. DIVISÃO DE NORMAS TÉCNICAS. *Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal*. Brasília: Ministério da Agricultura do Abastecimento, 1997. p.10. Publicado no Diário Oficial da União em 07/07/1952.
- CÔRTEZ, J. DE A. *Epidemiologia: conceitos e princípios fundamentais*. São Paulo: Varela, 1993. 138p.
- COSTA, E.O.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; VIANI, F.C.; MASCOLLI, R.; OLIVEIRA, P.J. Mastite bovina: CMT versus microbiológico. *Hora Vet.*, São Paulo, n.89, p.53-54, 1996.
- COSTA, E.O.; GARINO JUNIOR, F.; MELVILLE, P.A.; RIBEIRO, A.R.; SILVA, J.A.B.; WATANABE, E.T.; VALLE, L.R. Estudo da etiologia das mastites bovinas nas sete principais bacias leiteiras do Estado de São Paulo. *NAPGAMA*, n.4, p.6-13, 2000.
- COSTA, E. O. Importância da mastite na produção leiteira do país. *Rev. Educ. Cont. CRMV-SP*, v.1, n.1, p.3-9, 1998.
- COSTA, E.O.; VIANI, F.C.; WHITE, C.R.; ABE, S.; LOPES, V.C. DE A. Importância do portador na dinâmica de infecção intramamária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 23., 1994, Olinda. *Resumos*. Olinda: 1996. p.239.
- DELLA LIBERA, A.M.M.P.; ARAUJO, W.P.; GARCIA, M.; BENATTI, L.A.T.; BENITES, N.R.; MELO, L.E.H. Avaliação de diferentes limites de celularidade do leite no diagnóstico de infecções da glândula mamária. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 2., 1999, *Resumos*. Arq. *Inst. Biol.*, São Paulo, v.66 supl., p.131, 1999.
- ESTRELLA, S.L.G. *Características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça holandesa, criados no Estado de São Paulo*. São Paulo: 2001. 162p. [Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Univ. São Paulo].
- GRUNERT, E. Sistema genital feminino In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H.D.; STÖBER, M. (Eds.) *Rosemberger, Exame Clínico dos Bovinos*. 3. ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.269-314, 1993.
- KRIEG, N.R. & HOLT, J.C. (Eds.) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994.
- LENNETTE, E.M.; BALOWS, A.; HANSLER JR., W.J.; SHADOMY, H.J. *Manual of clinical microbiology*, 4.ed. Washington: American Society of Microbiology, 1985.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Univ. Federal de Minas Gerais, 1998. 221p.
- SCHALM, O.W.; NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.130, n.5, p.199, 1957.
- SUBCOMMITTEE ON SCREENING TESTS NATIONAL MASTITIS COUNCIL. Direct microscopic somatic cell count in milk. *J. Milk Food Technol.*, v.1, p.350-354, 1968.
- WATTS, J.L. Etiological agents of bovine mastitis. *Vet. Microbiol.*, v.16, p.41-66, 1988.
- ZECCONI, A. & PICCININI, R. Teoria e prática de controle de mastite por *Staphylococcus aureus*. *NAPGAMA*, n.5, p.4-11, 1999.

Recebido em 12/8/02

Aceito em 12/12/02