

CORRELAÇÕES ENTRE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E MICROBIOLÓGICOS DE QUALIDADE DO LEITE

DIEGO PRADO DE VARGAS¹, JOSÉ LAERTE NÖRNBERG², RENIUS DE OLIVEIRA MELLO², RUDOLF BRAND SHEIBLER³, FERNANDA CRISTINA BREDA², MARCELI PAZINI MILANI¹

¹Pós-Graduando da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Brasil - diegodevargas@hotmail.com

²Professores Doutores da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS. Brasil.

³Pós-Graduando da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS. Brasil

RESUMO

Objetivou-se avaliar as correlações entre contagem de células somáticas (CCS) e os constituintes do leite e verificar as associações das condições ambientais com a CCS. Os dados utilizados foram de 1.541 unidades produtoras de leite referentes a 15 municípios da bacia leiteira do Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. Foram tabulados os dados de CCS, contagem bacteriana total (CBT) e composição centesimal do leite, referentes ao período de junho de 2008 a dezembro de 2011, totalizando 44.089 amostras analisadas. A temperatura ambiente apresentou correlação positiva e significativa com a CCS, enquanto a precipitação pluviométrica e a umidade relativa do ar, ausência de correlação. Os teores de

gordura, proteína, minerais e sólidos totais foram diretamente correlacionados com a CCS, enquanto que os sólidos não gordurosos e a lactose apresentaram comportamento inverso. Através da análise de componentes principais (ACP), auxiliada pelo método hierárquico aglomerativo de agrupamento, os sete tratamentos presentes no estudo foram reduzidos a cinco grupos de acordo com a similaridade, permitindo constatar que amostras com CCS superiores a 400.000 até 750.000 céls mL⁻¹, apresentam a mesma qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nesta amplitude de variação.

PALAVRAS-CHAVE: composição centesimal do leite; mastite; qualidade química do leite; qualidade higiênico-sanitária do leite; variáveis climáticas.

CORRELATIONS BETWEEN SOMATIC CELL COUNT AND PHYSICAL-CHEMICAL PARAMETERS AND MICROBIOLOGY OF MILK QUALITY

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the correlations between somatic cell count (SCC) and milk components, and verify the associations of environmental conditions with SCC. Data were obtained from 1,541 dairy farms located in 15 municipalities in the dairy region of Vale do Taquari, Rio Grande do Sul. The data from SCC, total bacterial count (TBC) and milk composition, from June 2008 to December 2011, were tabulated, totaling 44,089 samples.

The environment temperature showed positive and significant correlation with the somatic cell score, while rainfall and air relative humidity showed no correlation. The fat, protein, minerals and total solids were directly correlated with the SCC, while non-fat-solids and lactose showed an opposite behavior. By the principal component analysis (PCA) followed by the agglomerative hierarchical clustering method, the seven treatments in the

present study were reduced to five groups according to the similarity, showing that milk with SCC above 400,000 to

750,000 cels mL⁻¹ present the same quality, not justifying the interval stratification within this range of variation.

KEYWORDS: climatic variables; mastitis; milk chemical quality; milk composition; milk hygienic-sanitary quality.

INTRODUÇÃO

O termo células somáticas abrange diferentes elementos celulares, normalmente presentes no leite, e compreende leucócitos, sobretudo neutrófilos e células de descamação do epitélio secretor da glândula mamária¹. Por inúmeros fatores que influenciam a CCS no leite, existe a necessidade de se atentar à interpretação de seus resultados, porém, está bem definido que a infecção da glândula mamária (mastite) é a causa de maior interferência, pois as células de defesa migram do sangue para o local de infecção, com o objetivo de combater o agente causador, aumentando desta forma a contagem de células somáticas (CCS) do leite²⁻⁵.

Dessa maneira, a CCS é usada como critério de diagnóstico indireto de mastite subclínica⁶, sendo de extrema importância o seu controle e monitoramento, pois, além de fazer parte das exigências normativas de órgãos fiscalizadores do Brasil e de diversos outros países do mundo, este indicador está relacionado com a composição do leite, rendimento industrial e determinação da segurança alimentar do produto, enquanto que, para os produtores, é uma importante ferramenta no controle da saúde da glândula mamária, qualidade da matéria-prima e perda de produção^{7,8}.

Os principais mecanismos pelos quais ocorre modificação nas concentrações dos componentes do leite, com a elevação dos níveis de CCS, são as lesões às células do epitélio secretor, decorrente da mastite^{9, 10}, o que resulta em alteração da concentração de lactose, proteína e gordura¹¹⁻¹³ e em aumento da permeabilidade das células epiteliais, que determina a elevação da passagem de substâncias do sangue para o leite, tais como sódio, cloro, imunoglobulinas e outras proteínas séricas⁹.

Evidentemente, as alterações qualitativas de produção irão depender da severidade da infecção e do estágio da doença; entretanto, há uma relação direta entre CCS e alterações na concentração dos constituintes do leite, justificando-se a realização de estudos que avaliem o impacto de diferentes níveis de CCS sobre indicadores da qualidade da matéria-prima.

Diante do exposto e devido à ausência de uma descrição científica mais consistente que caracterize as associações existentes entre CCS e variáveis importantes para a qualidade do leite, como os teores de gordura, proteína, lactose, minerais,

sólidos totais, sólidos não gordurosos e a contagem bacteriana total, objetivou-se analisar as correlações existentes entre a CCS e esses parâmetros de qualidade físico-química e microbiológica, bem como avaliar a influência que as variáveis climáticas exercem sobre a CCS.

MATERIAL E MÉTODOS

Os dados utilizados foram obtidos a partir dos laudos oficiais emitidos pelo Laboratório de Serviço de Análises de Rebanhos Leiteiros (SARLE), órgão credenciado junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), os quais continham 54.696 registros de gordura (GORD), proteína (PROT), lactose (LACT), sólidos não gordurosos (SND), sólidos totais (ST), contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT), obtidos de amostras de leite coletados em tanque de expansão de 1.706 propriedades, durante o período de junho de 2008 a dezembro de 2011. A GORD, PROT, LACT, ST e SNG foram determinados por espectrofotometria com radiação infravermelha utilizando-se equipamento Bentley[®] 2000 (Bentley Instruments, Chaska, MN, EUA), enquanto a CCS e a CBT, por citometria de fluxo utilizando-se equipamento Somacount[®] 300 (Bentley Instruments, Chaska, MN, EUA) e Bactocount[®] IBC (Bentley Instruments, Chaska, MN, EUA), respectivamente.

Os dados meteorológicos das médias mensais da temperatura média, umidade relativa do ar (URA) e precipitação pluviométrica, referentes ao período experimental foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), situado em Brasília, Distrito Federal, a partir da estação climática em Teutônia/RS.

Para obtenção da consistência do banco de dados, os registros foram considerados em classes mensais e foram excluídas do arquivo as propriedades com menos de quatro controles e com três desvios-padrão acima ou abaixo da média da característica no mês. Após as restrições, foram utilizados nas análises estatísticas 44.089 registros de 1.541 rebanhos, referentes a 15 municípios, localizados na região sul do Brasil.

Com o intuito de linearizar os dados, a CCS foi transformada em escore linear de células somáticas ECS= $[\log_2(\text{CCS}/100)]+3$ ¹⁴, e a CBT transformada pelo logaritmo natural da CBT normal.

Os dados de CCS foram divididos em sete classes estabelecidas de acordo com seus valores fisiológicos e regulatórios¹⁵⁻¹⁷. As classes avaliadas foram: (1) $CCS \leq 200.000$ céls mL^{-1} ; (2) $200.000 < CCS \leq 400.000$ céls mL^{-1} ; (3) $400.000 < CCS \leq 500.000$ céls mL^{-1} ; (4) $500.000 < CCS \leq 600.000$ céls mL^{-1} ; (5) $600.000 < CCS \leq 750.000$ céls mL^{-1} ; (6) $750.000 < CCS \leq 1.000.000$ céls mL^{-1} ; e (7) $CCS > 1.000.000$ céls mL^{-1} .

As variáveis dependentes (GORD, PROT, LACT, minerais, SNG, ST e CBT) foram testadas quanto à normalidade residual pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e quanto à homocedasticidade pelo teste de Levene. Posteriormente, foram submetidas à análise de variância univariada pelo procedimento de modelos lineares gerais (PROC GLM) em delineamento inteiramente casualizado. Em seguida, as médias foram ajustadas pelo método dos quadrados mínimos ordinários com o comando LSMEANS (*Least Squares Means*) e comparadas pelo teste de Tukey 5% de significância.

Além disso, foi realizada análise de correlação linear simples da CCS com as variáveis GORD, PROT, LACT, minerais, SNG, ST e logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT). Adicionalmente, também foi efetuada análise de correlação linear simples da CCS com as variáveis meteorológicas (médias mensais da temperatura média, da umidade relativa do ar e da precipitação pluviométrica).

Para reduzir a dimensionalidade do conjunto original de variáveis com menor perda de informação possível, procedeu-se à análise de variância multivariada pelo procedimento GLM e o comando MANOVA.

As variáveis empregadas na análise multivariada foram GORD, PROT, LACT, minerais e log da CBT. As demais variáveis foram eliminadas do modelo devido às altas correlações existentes entre as mesmas, formando matrizes de dispersão singulares e causando problemas de multicolinearidade ou dependência linear entre as variáveis.

Na análise multivariada para testar a hipótese de que os vetores de médias dos tratamentos (classes de CCS) fossem nulos, foi realizado o teste de Wilks.

Em seguida, foi efetuada a análise de componentes principais – ACP (*Principal Component Analysis - PCA*) para ordenação das classes de CCS, sendo uma técnica de análise multivariada que permite o agrupamento de acordo com a similaridade, mediante o exame visual das dispersões gráficas. Salienta-se que para melhor interpretação dos resultados, foi feita a padronização dos dados de forma que apresentassem média zero e variância igual a um, ou seja, com base na matriz de

correlação. Todavia, conforme inspeção gráfica visual não se pode concluir qual o número ideal de grupos entre tratamentos. Dessa forma, procedeu-se à análise de agrupamento (*Cluster Analysis*) utilizando-se o algoritmo hierárquico aglomerativo de Ward como método de agrupamento e a distância euclidiana quadrática como medida de dissimilaridade e, juntamente com o auxílio estatístico do coeficiente de correlação cofenética (CCC), pseudo-F e pseudo- t^2 , foram determinados o número ideal de grupos entre tratamentos.

A análise de componentes principais foi executada com o procedimento PRINCOMP, enquanto a análise de agrupamento com o procedimento CLUSTER.

As análises estatísticas foram executadas no aplicativo SAS® *System for Windows*™ versão 9.0 (SAS Institute Inc., Cary - NC, USA)¹⁸.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os teores de gordura aumentaram ($P < 0,05$) com a elevação da CCS (Tabela 1), corroborando com os resultados apresentados por Pereira et al.¹⁹, Machado et al.²⁰ e Noro et al.¹¹. O aumento nos teores de gordura não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois, segundo Machado et al.²⁰, a provável redução na produção de leite devido à infecção da glândula mamária é mais acentuada que a redução na síntese de gordura, ocorrendo concentração desse constituinte.

O teor de proteína aumentou ($P < 0,05$) com a elevação dos valores de CCS (Tabela 1). Raječević et al.²¹, Noro et al.¹¹ e Najafi et al.¹² também evidenciaram este mesmo comportamento. O aumento na concentração de proteína com o incremento da CCS pode ser decorrente não só da proteína celular, mas também da alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos que permitem influxo de proteínas séricas (albumina sérica e imunoglobulinas) para o interior da glândula mamária, a fim de combater a infecção¹⁹.

Paralelamente, segundo Harmon²², pode ocorrer expressiva redução da fração de caseína, pela sua degradação por proteases bacterianas e leucocitárias e pela diminuição de sua síntese devido à inflamação da glândula mamária (mastite). Neste sentido, no leite com elevada CCS, ocorre um aumento da atividade enzimática, promovendo maior ativação do plasminogênio em plasmina, a qual promove proteólise, principalmente na caseína e, mais especificamente, na β -caseína e α_{S2} -caseína, alterando a composição proteica do leite e diminuindo o rendimento na fabricação do queijo, além de resultar no acúmulo de pequenos peptídeos,

os quais são responsáveis pelo desenvolvimento de sabor amargo e adstringente²³.

Segundo Considine et al.²⁴, além da plasmina, a catepsina-G é uma das principais proteases liberadas pelos polimorfonucleares, contribuindo para proteólise do leite, resultando em

peptídeos similares aos liberados pela plasmina. Dessa forma, sistemas de pagamento baseados em porcentagem de proteína total, sem considerar a CCS, apresentam limitações, uma vez que o rendimento industrial do leite está associado principalmente à fração de caseína.

Tabela 1 - Médias ajustadas dos teores de gordura (Gord), proteína (Prot), lactose (Lact), minerais (Min), sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST) e do logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) com seus respectivos erros padrão da média (entre parênteses) em função das distintas classes de contagem de células somáticas (CCS)

CCS (x10 ³ céls mL ⁻¹)	Gord (%)	Prot (%)	Lact (%)	Min (%)	SNG (%)	ST (%)	CBT (log UFC mL ⁻¹)
CCS≤200	3,42 ^d (0,005)	3,075 ^{bc} (0,003)	4,43 ^a (0,002)	0,958 ^b (0,001)	8,47 ^a (0,005)	11,89 ^b (0,009)	14,41 ^a (0,022)
200<CCS≤400	3,57 ^c (0,003)	3,072 ^c (0,002)	4,39 ^b (0,002)	0,962 ^b (0,001)	8,42 ^b (0,003)	11,99 ^a (0,006)	14,18 ^b (0,015)
400<CCS≤500	3,59 ^{bc} (0,005)	3,077 ^{bc} (0,003)	4,36 ^c (0,002)	0,963 ^b (0,001)	8,40 ^{bc} (0,005)	12,00 ^a (0,008)	13,98 ^c (0,021)
500<CCS≤600	3,60 ^{bc} (0,005)	3,083 ^{bc} (0,003)	4,35 ^{cd} (0,002)	0,964 ^b (0,001)	8,40 ^{bc} (0,005)	12,00 ^a (0,008)	13,96 ^c (0,022)
600<CCS≤750	3,60 ^{bc} (0,005)	3,082 ^{bc} (0,003)	4,34 ^d (0,002)	0,966 ^{ab} (0,001)	8,38 ^c (0,004)	11,98 ^a (0,007)	13,93 ^c (0,019)
750<CCS≤1000	3,60 ^b (0,004)	3,091 ^{ab} (0,002)	4,32 ^e (0,002)	0,966 ^b (0,001)	8,38 ^c (0,004)	11,97 ^a (0,007)	13,98 ^c (0,018)
CCS>1000	3,63 ^a (0,003)	3,105 ^a (0,002)	4,27 ^f (0,001)	0,973 ^a (0,001)	8,35 ^d (0,003)	11,97 ^a (0,006)	14,39 ^a (0,014)
Média	3,58	3,08	4,34	0,97	8,39	11,98	14,14
Valor de P ¹	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
CV ²	10,36	6,86	3,54	10,12	3,95	4,78	10,19

Médias seguidas por letras distintas na mesma coluna diferem (P<0,05) entre si pelo teste de Tukey.

¹Valor probabilístico

²Coefficiente de variação

Os teores de lactose diminuíram (P<0,05) com o incremento da CCS (Tabela 1), observando-se diferença de 0,04 pontos percentuais do limite mínimo de CCS (<200.000 céls mL⁻¹) para a classe subsequente (200.000<CCS≤400.000 céls mL⁻¹). Da mesma maneira, Bueno et al.⁸ relataram diminuição de 0,06 pontos percentuais, considerando os mesmos intervalos de CCS. Por outro lado, Raječević et al.²¹, constataram que CCS a partir de 100.000 céls mL⁻¹ ocasiona redução significativa no teor de lactose (0,07 pontos percentuais), quando estes valores alcançam 250.000 céls mL⁻¹. Isto evidencia que a redução da CCS, mesmo dentro de limites considerados fisiológicos (200.000 céls mL⁻¹) por Andrade et al.¹⁷, provavelmente seja capaz de mitigar o efeito desta variável sobre a lactose.

A redução no teor de lactose do leite, à medida que se elevaram os valores de CCS, pode ser resultante de distúrbios da glândula mamária, ocorrendo menor biossíntese desse constituinte, ou

aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue, ocasionando perda de lactose para corrente sanguínea^{22, 25}. Além disso, a infecção da glândula mamária pode contribuir de forma significativa para elevação da contaminação bacteriana do leite e a diminuição dos teores de lactose pode ocorrer por ação direta desses patógenos mamários que utilizam esse carboidrato como principal substrato^{22, 20}.

Os teores de minerais do leite aumentaram (P<0,05) à medida que se elevaram os valores de CCS (Tabela 1). De acordo com Shamay et al.²⁶, embora o potássio e o cálcio diminuam em leites com altas CCS, o teor de minerais eleva-se em consequência do aumento no teor de sódio e cloro através do epitélio lesado, uma vez que as concentrações de sódio e cloro no sangue são normalmente maiores que as no leite. A diminuição das concentrações de cálcio no leite com a elevação da CCS pode estar associada à redução na síntese de

caseína, considerando que a maioria do cálcio do leite estaria incorporado às micelas caseínicas²⁷. Contudo, o aumento na concentração de minerais não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois haveria substituição de elementos minerais mais nobres (Ca, K) por minerais de menor importância nutricional (Na, Cl), além de proporcionar um desequilíbrio salino do leite, o que poderia contribuir para a diminuição da estabilidade das caseínas.

O teor de sólidos totais elevou-se ($P < 0,05$) com o incremento da CCS, a uma taxa de 6,68% (Tabela 1). Por outro lado, Bueno et al.⁸ encontraram uma redução de 3,25% do primeiro (< 200.000 céls mL⁻¹) para o último intervalo de CCS ($> 1.000.000$ céls mL⁻¹), enquanto El-Tahawy e El-Far¹³, de 8,02% à medida que os resultados de CCS elevaram-se do intervalo que compreendia os menores valores de CCS (1.000 céls mL⁻¹ à 99.000 céls mL⁻¹) para os valores mais elevados (> 400.000 céls mL⁻¹).

O teor de sólidos não gordurosos (SNG) diminuiu ($P < 0,05$) com a elevação da CCS (Tabela 1), concordando com El-Tahawy e El-Far¹³, que observaram uma diminuição significativa nos teores de SNG a partir de CCS de 200.000 céls mL⁻¹, com uma redução de 0,65 pontos percentuais até valores superiores a $1.000.000$ céls mL⁻¹.

A diminuição ($P < 0,05$) nos sólidos não gordurosos e o aumento ($P < 0,05$) nos sólidos totais, à medida que se elevou a CCS, provavelmente, deve-se ao fato de o primeiro estar associado com o comportamento obtido para a lactose e o segundo com o comportamento encontrado para a gordura do leite (Tabela 1).

Os maiores valores de CBT estão nos intervalos de menores ($CCS \leq 200.000$ céls mL⁻¹) e maiores ($CCS \leq 1.000.000$ céls mL⁻¹) CCS (Tabela 1). Isto se deve, provavelmente, ao tipo de patógeno presente, sendo que os patógenos classificados como secundários são responsáveis pela elevação da CBT no primeiro intervalo ($CCS \leq 200.000$ céls mL⁻¹), pois aumentam em menor intensidade a CCS do leite, enquanto os patógenos primários, pela elevação da CBT do último intervalo ($CCS \leq 1.000.000$ céls mL⁻¹), pois pode estar relacionado com o aumento concomitante dos valores de CCS e CBT do leite. Essas suposições, reforçam-se com os resultados reportados por SOUZA et al.²⁸, que, apesar de não proporem a diferenciação dos agentes causadores de mastites subclínica nas amostras analisadas, encontraram uma média de $1.520.000$ céls mL⁻¹ para

o *Streptococcus agalactiae* (patógeno primário) e, entre aqueles classificados como secundários, valores de CCS menores ou iguais a 166.000 e 205.000 céls mL⁻¹ em mais de 50% das amostras.

Os teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais apresentaram correlação positiva, ao passo que a lactose e os sólidos não gordurosos apresentaram correlação negativa com a CCS (Tabela 2). Por outro lado, não há correlação significativa entre CCS e CBT (Tabela 2). Isso apenas reforça os diferentes comportamentos do úbere frente aos agentes causadores da mastite subclínica, ou microbiota residente. Assim, a inflamação da glândula mamária causada por estes patógenos resultam em grandes variações na composição e na CCS do leite²².

As correlações foram de baixa magnitude e sem significado prático. Estimativas de correlações semelhantes de gordura e CCS foram reportadas por Pereira et al.¹⁹, Paura et al.²⁹, Raječević et al.²¹ e Bueno et al.⁸, em contrapartida, correlações negativas e significativas também foram relatadas, como de Najafi et al.¹² e El-Tahawy e El-Far¹³, ou seja, a concentração de gordura no leite com elevada CCS também pode diminuir, provavelmente em virtude da ação de lipases leucocitárias e lipoproteicas^{22,25}.

Da mesma maneira, valores de correlações negativas e significativas entre os teores de lactose e a CCS são encontrados na literatura, como os citados por Silva et al.³⁰, Paura et al.²⁹, Raječević et al.²¹, Bueno et al.⁸ e El-Tahawy e El-Far¹³, confirmando os resultados obtidos neste estudo (Tabela 2).

Através do coeficiente de determinação (R^2) encontrado (Tabela 2), pode-se constatar que apenas 9,73% da variação da lactose pode ser explicada pela CCS. Dessa maneira, apesar do baixo coeficiente de determinação, pode-se inferir que a lactose é o componente do leite que sofre maior variação devido à elevação da CCS. Resultados semelhantes foram encontrados por El-Tahawy e El-Far¹³, que verificaram que 11,83% da volubilidade da lactose é responsabilidade da CCS. Entretanto, Bueno et al.⁸ e Raječević et al.²¹ observaram, respectivamente, que 17,64 e 17,89% da redução da lactose deve-se a elevação da CCS, reforçando os resultados de Klinkon et al.³¹, que mostraram que o conteúdo de lactose no leite juntamente com a CCS poderia ser de grande ajuda no controle da saúde da glândula mamária.

Tabela 2 - Coeficientes de correlação (r) e coeficientes de determinação (R²) dos teores de gordura, proteína, lactose, minerais, sólidos não gordurosos (SNG), sólidos totais (ST), logaritmo natural da contagem bacteriana total (CBT) com os valores de contagem de células somáticas (CCS)

Constituintes do leite	CCS (células mL ⁻¹)	
	r ⁽¹⁾	R ² (²)
Gordura, %	0,111***	0,01232
Proteína, %	0,055***	0,00302
Lactose, %	-0,316***	0,09986
Minerais, %	0,048***	0,00230
SNG, %	-0,104***	0,01082
ST, %	0,012**	0,00014
CBT, log UFC mL ⁻¹	0,007 ^{ns}	0,00005

^{ns} Não significativo; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

¹ Coeficiente de correlação linear simples

² Coeficiente de determinação

O teor de ST apresentou correlação positiva com a CCS, enquanto o de SNG, correlação negativa (Tabela 2). Entretanto, El-Tahawy e El-Far¹³ e Gonzalo et al.³² relataram correlação negativa entre CCS e ST e CCS e SNG, enquanto Silva et al.³⁰ verificaram ausência de correlação significativa entre CCS e ST.

Esses resultados contraditórios podem ser explicados pela relação direta que o teor de ST e SNG tem com as variáveis que os constituem. Assim, neste estudo, o aumento dos teores de gordura, proteína e minerais, à medida que se elevou

a CCS, prevaleceu sobre a diminuição da lactose, o que resultou na correlação positiva encontrada entre CCS e ST; por outro lado, o aumento de proteína e minerais não se sobressaiu ao decréscimo da lactose, o que por sua vez resultou na correlação negativa entre CCS e SNG (Tabela 2).

Observa-se que houve correlação positiva entre CCS e temperatura ambiente (Tabela 3), corroborando com os resultados reportados por Beno et al.⁸. Da mesma maneira, Roma Júnior et al.³³ verificaram os maiores valores de CCS nos períodos mais quentes do ano.

Tabela 3 - Coeficientes de correlação (r) e coeficientes de determinação (R²) da contagem de células somáticas (CCS) com as médias mensais das variáveis meteorológicas (temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluviométrica) durante o período experimental

Variáveis Climáticas	CCS ⁽¹⁾	
	r ⁽²⁾	R ² (³)
Temperatura média, °C	0,34*	0,1156
Umidade relativa do ar, %	0,20 ^{ns}	0,0400
Precipitação, mm	0,03 ^{ns}	0,0009

^{ns} não significativo; *P<0,05, **P<0,01, ***P<0,001

⁽¹⁾ Contagem de células somáticas

⁽²⁾ Coeficiente de correlação linear simples

⁽³⁾ Coeficiente de determinação

A correlação positiva obtida entre CCS e temperatura média (Tabela 3) pode ser explicada pelo fato de que animais em ambientes com temperaturas elevadas apresentam menor capacidade de respostas a doenças, aumentando sua susceptibilidade à invasão do úbere por microrganismos⁸. Paralelamente, pode-se inferir que altas temperaturas predispõem ao estresse térmico de vacas em lactação, que conduz à menor circulação sanguínea na glândula mamária, resultando na diminuição da produção e, conseqüentemente, na concentração relativa das células somáticas do leite³⁴.

Não houve correlação (P>0,05) da CCS com a umidade relativa do ar e com a precipitação pluviométrica (Tabela 3), o que pode ser explicado pelo fato de que a umidade relativa do ar e a precipitação pluviométrica, geralmente, estão relacionadas com maior pressão de infecção por microrganismos ambientais⁸, os quais estão diretamente ligados aos casos de mastite clínica e como, habitualmente, o leite de vacas acometidas por esta enfermidade é descartado, nesses casos não influenciariam a CCS no tanque de expansão.

Na análise de variância multivariada houve diferença (P<0,05) entre os vetores de médias para as

classes de CCS, tanto pelo teste Wilks quanto pelos testes Pillai, Hotelling-Lawley e Roy. Os três primeiros autovalores foram significativos pelo teste da razão de verossimilhança, sendo que o primeiro componente principal explicou 70,65% e o segundo 25,88%, ou seja, os dois primeiros componentes principais explicaram 96,53% da variação total dos dados (Figura 1). A análise de componentes principais permite visualizar a proximidade/similaridade ou a distância/dissimilaridade entre as diferentes classes de CCS (Figura 1).

A partir dessa análise dois novos conjuntos de dados foram gerados, os “scores”, que trazem informações sobre os tratamentos, e os “loadings”, que mostram as correlações existentes entre as variáveis e os componentes principais, sendo que a representação desses dois conjuntos de dados foi realizada por meio de um gráfico “biplot” (Figura 1). Dessa maneira, as variáveis que explicaram a variabilidade no eixo x (componente principal 1) foram gordura, proteína, minerais e lactose, ao passo que a variável que explicou a variabilidade no eixo y (componente principal 2) foi a contagem bacteriana total. Logo, a partir das correlações dos componentes principais com as variáveis, pode-se inferir que o primeiro componente principal (eixo x) está

associado à qualidade química do leite, enquanto o segundo componente principal (eixo y) está associado à qualidade microbiológica do leite (Figura 1). Todavia, conforme inspeção gráfica visual, não se pode concluir sobre o número ideal de grupos entre tratamentos.

Dessa forma, por meio da análise de agrupamento (*Cluster Analysis*), foi possível constatar que o número ideal de grupos formados entre tratamentos foram cinco, dos quais um grupo englobando as classes de CCS 3, 4 e 5 (tratamentos) (Figura 1).

Portanto, o leite com CCS superior a 400.000 até 750.000 céls mL⁻¹ apresenta a mesma qualidade química e microbiológica, ou seja, não se justifica a criação de extratos intermediários nesta amplitude para avaliação da qualidade do leite. Contudo, é importante salientar que, como discutido anteriormente, o aumento da gordura, proteína e minerais não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, e sim resultado de possíveis efeitos creditados a CCS, logo, isto significa que o leite só apresentaria melhoria na qualidade com valores de CCS menores ou iguais a 400.000 céls mL⁻¹ ou decréscimo na qualidade com valores de CCS acima de 750.000 céls mL⁻¹ (Figura 1).

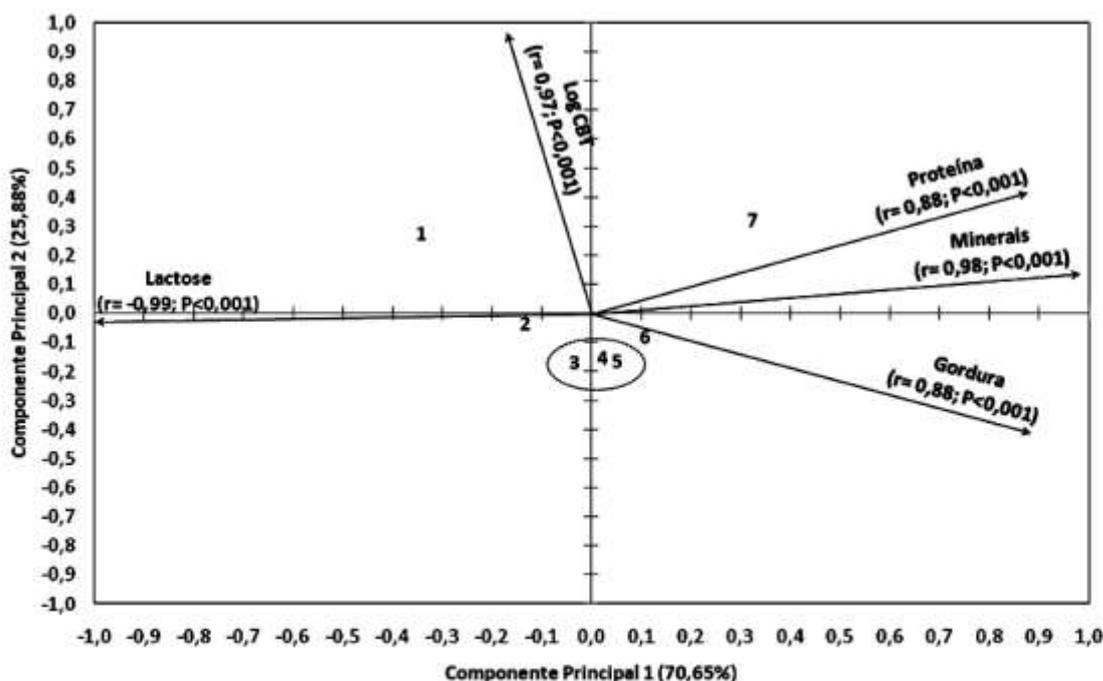


Figura 1 - Projeção bidimensional das diferentes classes de CCS (1: $CCS \leq 200.000$; 2: $200.000 < CCS \leq 400.000$; 3: $400.000 < CCS \leq 500.000$; 4: $500.000 < CCS \leq 600.000$; 5: $600.000 < CCS \leq 750.000$; 6: $750.000 < CCS \leq 1.000.000$; 7: $CCS > 1.000.000$ céls mL⁻¹) e as variáveis gordura, proteína, lactose, minerais e logaritmo natural da contagem bacteriana total (Log CBT), com seus respectivos coeficientes de correlação e nível de significância (entre parênteses) em função dos dois primeiros componentes principais.

Os padrões legais mínimos de CCS de 750.000 céls mL⁻¹ (atual limite dos Estados Unidos da América), 600.000 céls mL⁻¹ (limite brasileiro proposto para o dia 1º de janeiro de 2012 até 30 de junho de 2014) e de 500.000 céls mL⁻¹, atual limite brasileiro^{16, 35}, não resultariam em melhorias na qualidade do leite, enquanto que o limite proposto pelos países membros da União Europeia, Nova Zelândia, Austrália, Canadá e ainda pela norma brasileira a partir do dia 1º de julho de 2016 (400.000 céls mL⁻¹)^{16, 35}, se considerado como obrigação de quem produz, acarretaria melhorias significativas de qualidade.

Diante do exposto, podemos constatar que os programas de pagamento por qualidade dos países membros da União Europeia, Austrália, Nova Zelândia e Canadá estão mais adequados que os propostos pelos Estados Unidos da América (EUA), pois levam em consideração o limite de 400.000 céls mL⁻¹, o que acarretaria em melhorias significativas na qualidade do leite produzido (Figura 1). O limite adotado pelos EUA pode ser reflexo da alta produtividade por animal deste país, devido aos rebanhos leiteiros com genética de alta produção, que por sua vez, segundo Rauw et al.³⁶, aumenta a incidência de mastite e conseqüentemente a CCS do leite.

Por outro lado, a Dinamarca apresenta produtividade por animal semelhante aos EUA e o leite é remunerado considerando-se limites mais rígidos de CCS, resultando em 5 classes distintas (classe 1: CCS menor que 200.000 céls mL⁻¹; classe 2: CCS menor que 300.000 céls mL⁻¹; classe 3: CCS menor que 400.000 céls mL⁻¹; classe 4 e 5: CCS maior que 500.000 céls mL⁻¹). No mesmo sentido, porém com menor produtividade por animal, na França o leite é remunerado considerando-se quatro classes (classe 1: CCS menor que 200.000 céls mL⁻¹; classe 2: CCS entre 200.000 a 300.000 céls mL⁻¹; classe 3: CCS entre 300.000 a 400.000 céls mL⁻¹; e classe 4 somente para CCS maior que 400.000 céls mL⁻¹)³⁷.

Assim, sistemas de bonificação e penalização que levam em consideração limites de CCS mais rígidos, como os propostos pela Dinamarca e França, que, além do limite máximo de 400.000 céls mL⁻¹, determinam uma estratificação do leite até valores de CCS inferiores a 200.000 céls mL⁻¹, acarretariam melhorias significativas da qualidade do leite e seus derivados, conforme fica destacado na Figura 1.

Isto evidencia que somente o cumprimento de normas regulatórias, sem levar em consideração sistemas de bonificações e penalizações, não é suficiente para promover a melhoria na qualidade do leite; portanto, baseados nos resultados da Figura 1 e

nos programas de pagamento por qualidade de outros países, sugere-se um sistema de bonificação e penalização de qualidade do leite fundamentado em 5 distintas classes de CCS: classe 1 (CCS ≤ 200.000 céls mL⁻¹); classe 2 (200.000 < CCS ≤ 400.000 céls mL⁻¹); classe 3 (400.000 < CCS ≤ 750.000 céls mL⁻¹); classe 4 (750.000 < CCS ≤ 1.000.000 céls mL⁻¹); e classe 5 (CCS > 1.000.000 céls mL⁻¹). Dessa maneira, produtores que entreguem leite com valores de CCS menores ou iguais a 400.000 céls mL⁻¹ (classe 1 e 2), devem receber bonificações e a partir deste valor (classes 3, 4 e 5), penalizações gradativas. Entretanto, para os segmentos do setor lácteo de produtos de base proteica, como o queijo e o iogurte, sugerem-se altas bonificações para o leite que apresente CCS inferior a 200.000 céls mL⁻¹ (classe 1), pois neste intervalo foram encontrados os menores efeitos da CCS sobre a composição química do leite, o que possivelmente reduziria as perdas das proteínas sintetizadas pela glândula mamária, como as caseínas, que são as mais importantes para o rendimento industrial do processamento desses produtos.

Sistemas de bonificações e penalizações baseados nos resultados deste estudo, além de possivelmente acarretar em resultados significativos a curto e médio prazo, pois incentivariam o produtor a investir em cuidados, principalmente no que se refere à CCS, como a limpeza e higienização dos equipamentos de ordenha e o controle da mastite, possibilitaria que o leite brasileiro alcançasse padrões internacionais de qualidade e, ainda, possivelmente, reduzir-se-iam sérios danos à indústria de derivados lácteos, como: a coagulação e floculação ocorrida durante o processamento térmico do leite pasteurizado e do leite em pó, devido à sua menor estabilidade calórica³⁸; mudanças significativas na viscosidade e sabor do iogurte³⁹, geleificação e coagulação das proteínas do leite UHT durante a estocagem, devido à atividade residual de proteases bacterianas resistentes ao tratamento térmico⁴⁰; alterações na fabricação de queijos, como a redução no rendimento industrial⁸; aumento no conteúdo de água no coágulo⁴¹; alterações negativas nas propriedades sensoriais⁴²; aumento do tempo para formação do coágulo⁴³; baixa taxa de enrijecimento do coágulo e defeitos de textura⁴³; e elevada perda de sólidos no soro do queijo⁴⁴.

CONCLUSÕES

A elevação da CCS está correlacionada com o aumento dos teores de gordura, proteína, minerais e sólidos totais, o que não deve ser considerado favorável à qualidade do leite e, sim, como efeitos decorrentes da mastite subclínica. Por outro lado, o

aumento da CCS está relacionado com a redução das concentrações de lactose e dos sólidos não gordurosos. A temperatura ambiente apresenta correlação significativa e positiva com o escore de células somáticas, enquanto a umidade relativa do ar e a precipitação pluviométrica, ausência de correlação. A análise de componentes principais seguida da análise de agrupamento permitiu constatar que leites com CCS superiores a 400.000 até 750.000 céls mL⁻¹ apresentam a mesma qualidade, não justificando a estratificação de intervalos nessa amplitude de variação. Paralelamente, observou-se que somente o cumprimento de limites das normas regulatórias não é suficiente para melhorar a qualidade do leite, sugerindo-se parâmetros para sistemas de pagamento baseado na bonificação e penalização em relação à CCS.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), pelo apoio e auxílio financeiro prestado, bem como ao Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) e a empresa de laticínios estudada, pela concessão do banco de dados meteorológicos e de qualidade do leite, respectivamente, possibilitando o desenvolvimento deste estudo.

REFERÊNCIAS

- Jorge AM, Andrighetto C, Strazza MRB, Correa RC, Kasburgo DG, Piccinin A, Victória C, Domingues PF. Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do Leite de Búfalas Murrah. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2005;34(6):2039-2045.
- Zafalon LF, Nader Filho A, Oliveira JV, Resende FD. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mastite subclínica bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2005;25(3):150-163.
- Lindmark-Mansson H, Fondén R, Petterson HE. Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Journal*. 2003;13(3):409-425.
- Andrade LM, Faro LE, Cardoso VL, Albuquerque LG, Cassoli LD, Machado PF. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2007;36(2):343-349.
- Wellnitz O, Doherr MG, Woloszyn MW, Bruckmaier RM. Prediction of total quarter milk somatic cell counts based on foremilk sampling. *Journal of Dairy Research*. 2009;76(3):326-330.
- Berglund I, Pettersson G, Ostensson K, Svennersten-Sjaunja K. Quarter Milking for improved detection of increase SCC. *Reproduction in Domestic Animals*. 2007;42(4):427-432.
- Wickström E, Persson-Waller K, Lindmark-Månsson H, Östensson K, Sternesjö A. Relationship between somatic cell count, polymorphonuclear leucocyte count and quality parameters in bovine bulk tank milk. *Journal of Dairy Research*. 2009;76(2):195-201.
- Bueno VFF, Mesquita AJ, Nicolau ES, Oliveira NA, Oliveira JP, Neves RBS, Mansur JRG, Thomaz LW. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. *Ciência Rural*. 2005;35(4):848-854.
- Sommerhauser J, Kloppert B, Wolter W, Zschock M, Sobiraj A, Failing K. The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. *Veterinary Microbiology*. 2003;96(1):91-102.
- Olde Riekerink RGM, Barkema HW, Veenstra W, Stryhn H, Zadoks RN. Somatic cell count during and between milkings. *Journal of Dairy Science*. 2007;90(8):3733-3741.
- Noro G, González FHD, Campos R, Dürr JW. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2006;35(3):1129-1135.
- Najafi NM, Mortazavi SA, Koocheki A, Khorami J, Rekik B. Fat and protein contents, acidity and somatic cell counts in bulk milk of Holstein cows in the Khorosan Razavi Province, Iran. *International Journal of Dairy Technology*. 2009;62(1):19-26.
- El-Tahawy AS, El-Far AH. Influences of somatic cell count on milk composition and dairy farm profitability. *International Journal of Dairy Technology*. 2010;63(3):463-469.
- Shook GE. Genetic improvement of mastitis through selection on somatic cell count. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 1993;9(3):563-581.
- Brasil. Instrução Normativa no. 51 de 18 de setembro de 2002. Dispõe sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru refrigerado e pasteurizado. *Diário Oficial da União*. 2002. Sep 20; Seção 1. Available from: http://www.qualidadedoleite.com.br/hd/arquivos/IN51de2002_leitebnormas.pdf. Portuguese.
- Brasil. Instrução Normativa no. 62 de 29 de dezembro de 2011. Dispõe sobre regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, leite Cru refrigerado, leite pasteurizado e do regulamento técnico de coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. *Diário Oficial da União*. 2011. Dec 29. Available from: http://www.sindilat.com.br/gomanager/arquivos/IN62_20

- 11(2).pdf. Portuguese.
17. Andrade UVC, Hartman W, Masson ML. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. *Ars Veterinaria*. 2009;25(3):129-135.
18. SAS Institute. Statistical Analysis System: user guide [CD-ROM]. Version 9. Cary (NC): SAS Institute Inc., 2002.
19. Pereira AR, Silva LFP, Molon LK, Machado PF, Barancelli G. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – Gordura e Proteína. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*. 1999;36(3):121-124.
20. Machado PF, Pereira AR, Sarríes GA. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2000;29(6):1883-1886.
21. Raječević M, Potočnik K, Levstek J. Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. 2003;68(3):221-226.
22. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*. 1994;77(7):2103-2112.
23. Ma Y, Ryan C, Barbano DM, Galton DM, Rudan MA, Boor KJ. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science*. 2000; 83(2):264-274.
24. Considine T, Geary S, Kelly AL, McSweeney PLH. Proteolytic specificity of cathepsin G on bovine alphas 1- and beta caseins. *Food Chemistry*. 2002;76(1):59-67.
25. Auldish MJ, Coats S, Rogers GL, McDowell GH. Changes in the composition of milk from healthy and mastitis dairy cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 1995;35(4):427-436.
26. Shamay A, Shapiro F, Leitner G, Silanikove N. Infusions of casein hydrolyzates into the mammary gland disrupt tight junction integrity and induce involution in cows. *Journal of Dairy Science*. 2003;86(4):1250-1258.
27. Neville MC, Waters CD. Secretion of calcium in to milk: review. *Journal of Dairy Science*. 1983;66(3):371-380.
28. Souza GN, Brito JRF, Moreira EC, Brito MAVP, Silva MVGB. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(5):1015-1020.
29. Paura L, Kairisha D, Jonkus D. Repeatability of milk productivity traits. *Veterinarija ir zootehnika*. 2002;19(41):90-93.
30. Silva LFP, Pereira AR, Machado PF, Sarríes GA. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*. 2000;37(4):330-333.
31. Klinkon M, Klopčič M, Osterc J. Potential use of milk analyses for udder health control in highly productive dairy herd. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 2002;6(2):177-185.
32. Gonzalo C, Carriedo JA, Blanco MA, Beneitez E, Juárez MT, De La Fuente LF, Primitivo FS. Factors of variation influencing bulk tank somatic cell count in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*. 2005;88(3):969-974.
33. Roma Júnior LC, Montoya JFG, Martins TT, Cassoli LD, Machado PF. Sazonalidade do teor de proteína e outros componentes do leite e sua relação com programa de pagamento por qualidade. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2009;61(6):1411-1418.
34. Nakamura AY, Alberton LR, Otutumi LK, Donadel D, Turci RC, Agostinis RO, Caetano ICS. Correlação entre as variáveis climáticas e a qualidade do leite de amostras obtidas em três regiões do estado do Paraná. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR*. 2012;15(2):103-108.
35. Schutz MM. Changes in Standards for Milk Quality and How They Will Affect Your Clients [Internet]. West Lafayette: Purdue University; 2011 April [cited 2014 mar 03]. Available from: <http://tristatedairy.osu.edu/Proceedings%202011/Schutz%20paper.pdf>. English.
36. Rauw WM, Kanis E, Noordhuizen-Stassen EN, Grommers FJ. Undesirable side effects of selection for high production efficiency in farm animals: a review. *Livestock Production Science*. 1998;56(1):15-33.
37. FOSS analytical. The key to high quality products lies in your raw milk supply: Influence the composition, volume and hygienic quality of your raw milk through payment systems [Internet]. Issue 3. Hillerød: FOSS analytical, 2005. Available from: <http://www.foss.us/-/media/427E37E692364F0C9ED9F2B0DC44384A>. English.
38. Le Roux Y, Laurent F, Moussaqui F. Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research*. 2003;34(5):629-645.
39. Fernandes AM, Oliveira CAF, Lima CG. Effects of somatic cell counts in milk on physical and chemical characteristics of yogurt. *International Dairy Journal*. 2007;17(2):111-115.
40. Datta N, Deeth HC. Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk. *Food Science and Technology*. 2003;36:173-182.
41. Mitchell GE, Fedrick IA, Rogers SA. The relationship between somatic cell count, composition and manufacturing properties of bulk milk. 2. Cheddar cheese from farm bulk milk. *Journal of Dairy Technology*. 1986;41(1):12-14.
42. Auldish MJ, Coats SJ, Sutherland BJ, Hardham JF,

- McDowell GH. Effect of somatic cell count and stage of lactation on the quality and storage life of ultra high temperature milk. *Journal of Dairy Research*. 1996;63(3):377-386.
43. Klei L, Yun J, Sapru A, Lynch J, Barbano D, Sears P, Galton D. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. *Journal of Dairy Science*. 2002;81(5):1204-1213.
44. Barbano DM, Rasmussen RR, Lynch JM. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. *Journal of Dairy Science*. 1991;74(2):369-388.
-

Protocolado em: 15 out. 2012. Aceito em: 24 set. 2014.