

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
ESCOLA DE VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**CARACTERÍSTICAS DO LEITE E SANIDADE DA GLÂNDULA  
MAMÁRIA DE BOVINOS CURRALEIRO PÉ-DURO E PANTANEIRO**

Marília Cristina Sola  
Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cíntia S. Minafra e Rezende

GOIÂNIA  
2015

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR AS TESES E DISSERTAÇÕES ELETRÔNICAS (TEDE) NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**      [ ] Dissertação      [ x ] Tese

### 2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor (a):		Marília Cristina Sola	
E-mail:		mcsmarilia@gmail.com	
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página?		[ x ] Sim	[ ] Não
Vínculo empregatício do autor			
Agência de fomento:	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior	Sigla:	CAPES
País:	Brasil	UF: GO	CNPJ: 00889834/0001-08
Agência de fomento:	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico	Sigla:	CNPq
País:	Brasil	UF: GO	CNPJ: 33654831-0001/36
Agência de fomento:	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás	Sigla:	FAPEG
País:	Brasil	UF: GO	CNPJ: 08.156.102/0001-02
Título:	Características do leite e sanidade da glândula mamária de bovinos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro		
Palavras-chave:	Contagem de células somáticas, mastite, proteinograma do soro lácteo, qualidade do leite, raças bovinas locais		
Título em outra língua:	Milk characteristics and mamary glands sanity of Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro cattle		
Palavras-chave em outra língua:	somatic cell count, mastitis, whey protein, milk quality, local breeds		
Área de concentração:	Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos		
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	02/10/2015		
Programa de Pós-Graduação:	Ciência Animal		
Orientador (a):	Profa. Dra. Cíntia Silva Minafra e Rezende		
E-mail:	cintiaminafra@gmail.com		
Co-orientador (a):*	Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti		
E-mail:	mariaclorinda@gmail.com		

\*Necessita do CPF quando não constar no SisPG

### 3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento [ x ] SIM      [ ] NÃO<sup>1</sup>

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Marília Cristina Sola  
Assinatura do (a) autor (a)

Data: 09 / 12 / 15

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto a coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

MARÍLIA CRISTINA SOLA

**CARACTERÍSTICAS DO LEITE E SANIDADE DA GLÂNDULA  
MAMÁRIA DE BOVINOS CURRALEIRO PÉ-DURO E PANTANEIRO**

Tese apresentada para obtenção do título de  
Doutor em Ciência Animal junto à Escola de  
Veterinária e Zootecnia da Universidade  
Federal de Goiás

**Área de Concentração:**  
Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos

**Linha de Pesquisa:**  
Controle de Qualidade em Alimentos

**Orientador:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cíntia Silva Minafra e Rezende

**Comitê de Orientação:**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Clorinda Soares Fioravanti

Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau

GOIÂNIA  
2015

Ficha catalográfica elaborada automaticamente  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob orientação do Sibi/UFG.

Cristina Sola, Marília

Características do leite e sanidade da glândula mamária de bovinos  
Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro [manuscrito] / Marília Cristina Sola. -  
2015.

12, 80 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende; co  
orientadora Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti; co-orientador Dr.  
Edmar Soares Nicolau.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Escola de  
Veterinária e Zootecnia (EVZ) , Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Animal, Goiânia, 2015.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, símbolos, lista de figuras, lista de tabelas.

1. contagem de células somáticas. 2. mastite. 3. proteinograma do  
soro lácteo. 4. qualidade do leite. 5. raças bovinas locais. I. Silva  
Minafra e Rezende, Cintia, orient. II. Soares Fioravanti, Maria  
Clorinda, co-orient. III. Título.

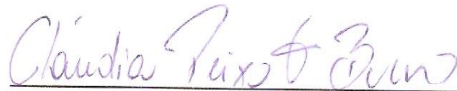
**MARÍLIA CRISTINA SOLA**

Tese defendida e aprovada em **02/10/2015** pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



---

Profa. Dra. Maria Clorinda Soares Fioravanti  
(ORIENTADOR (A))



---

Profa. Dra. Cláudia Peixoto Bueno - UEG



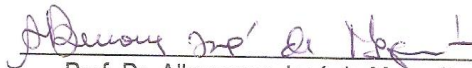
---

Dra. Raquel Soares Juliano - EMBRAPA



---

Profa. Dra. Karyne Oliveira Coelho - UEG



---

Prof. Dr. Albenones José de Mesquita

A minha mãe, Nylbe Nicula, por todo amor,  
apoio e paciência, dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela minha vida, saúde, força e por mais esta conquista.

A minha mãe, pelo amor incondicional, pelas orações, paciência e auxílio.

A minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cíntia Silva Minafra e Rezende, pela amizade, confiança e exemplo. Obrigada por todos os ensinamentos tanto profissionais quanto pessoais.

Aos professores da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás pelo apoio e ensinamentos. Em especial, agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Clorinda Soares Fioravanti, Prof. Dr. Edmar Soares Nicolau e Prof. Dr. Albenones José de Mesquita pela confiança e principalmente pela contribuição neste estudo.

A banca de qualificação, por todas as correções e sugestões.

Aos colaboradores do Centro de Pesquisa em Alimentos que de forma valiosa contribuíram para a execução deste trabalho. Em especial, meus agradecimentos ao Sr. Adair Arantes, pela amizade, carinho e zelo durante nossas jornadas nos laboratórios e viagens. Ao Magno Cândido, Cláudia, Neusa, Lorena, Sandra, Aguinalva, Keane Cintra, Jocyene Daddio, Iranilde Pinheiro, Mariana Condeixa, Rodrigo Almeida, Marcos Sotini, Leandro, Rodrigo Balduino, Silmara Dâmaso, Elias, José Carlos, Marcos Paulo, Antônio, Lourdes e Idelcia.

Ao querido Eraldo Lourenço de Souza Sena pela amizade, ensinamentos, paciência e dedicação. Muito obrigada!

Aos responsáveis pelo Laboratório Multiusuário de Biotecnologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Elaine Jacob S. Carmo e Alex W. Ferreira Borges pela colaboração na utilização do Laboratório Multiusuário.

Aos meus familiares, pelo apoio, preces e pela compreensão nos momentos de ausência.

Aos eternos amigos Eliane Pereira Mendonça, Líria Queiroz Luz Hirano, Pablo Gomes Noleto e Taísa Mara Gomes de Moraes, pelo carinho e apoio.

A toda equipe do “Cafofó” - Aline Pedrosa Oliveira, Fernanda Antunha de Freitas, Fernanda Borges, Francielly Mendes, Janaina Costa Feistel, Julierme Oliveira, Natália Menezes Moreira e Úrsula Rauecker, obrigada por todo auxílio, carinho, amizade, paciência e boas risadas. Vocês com certeza tornaram este doutorado mais divertido.

A Marcele Louise Tadaieski Arruda pela amizade e carinho.

A Maria Ivete de Moura pela contribuição ao estudo.

Aos colegas Alana Calaça, Paulo Queiroz, Thiago Marins, Gustavo Coimbra, Ítalo Garcia e Brenda Lee, pelo grande auxílio na colheita de amostras e ensaios laboratoriais.

A Pesquisadora Dra. Raquel Soares Juliano e a todos os colaboradores da Fazenda Nhumirim - Embrapa Pantanal pelo suporte e apoio nas colheitas de amostras.

Ao Sr. Valter Meganha e família por todo o carinho, gentileza e auxílio nas colheitas de amostras realizadas na Fazenda Coqueiro.

A todos os colaboradores da Fazenda Coqueiros pelo suporte e auxílio nas colheitas de amostras dos Curraleiro Pé-Duro.

Aos amigos e colegas de Pós-graduação, obrigada pela convivência e amizade.

Ao Programa de Pós-graduação da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Em especial, agradeço à querida Andréia Santana, por todo carinho e auxílio nestes anos de convivência.

A CAPES, CNPq, FAPEG e a Rede Pró Centro-Oeste, aos recursos oferecidos para desenvolvimento do projeto e bolsa de doutorado.

Aos meus companheiros de quatro patas Pooh, Killer e Jade obrigada pelo amor, carinho e por tornarem minha vida mais alegre.

Enfim, meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a conclusão de mais esta etapa de minha vida.

Muito obrigada!

**SUMÁRIO**

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	1
CAPÍTULO 2 - QUALIDADE DO LEITE E SANIDADE DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS CURRALEIRO PÉ-DURO E PANTANEIRO.....	11
2.1 Introdução.....	12
2.2 Material e métodos.....	14
2.3 Resultados e discussão.....	20
2.4 Conclusão.....	39
2.5 Referências.....	39
CAPÍTULO 3 - PROTEINOGRAMA DO SORO LÁCTEO DE BOVINOS CURRALEIRO PÉ-DURO E PANTANEIRO.....	51
3.1 Introdução.....	52
3.2 Material e métodos.....	53
3.3 Resultados e discussão.....	58
3.4 Conclusão.....	66
3.5 Referências.....	66
CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	73

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 A. Microchip para eletroforese microfluídica (Agilent 2100- Bioanalyzer), com capacidade de análise para 10 amostras. B. Representação esquemática dos poços e canais de um microchip da tecnologia *Lab-on-a-chip* para análise de proteínas. Poços G1 a G4 – adição do gel/ corante matriz; DS - solução de descolorante; S1 a S10 – amostras de leite; L – Ladder. As setas destacadas indicam: (A) - canal de separação, (B) - Posição de descoloração e (C) - posição da janela de detecção..... 56
- FIGURA 2 Representação da corrida eletroforética em equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer, demonstrando as massas moleculares das proteínas purificadas, padrão de peso molecular da reação (ladder) e tempo de migração (segundos)..... 57
- FIGURA 3 Eletroferograma obtido em função do tempo de migração e respectivos pesos moleculares das frações de proteínas do soro lácteo a partir de amostras de leite. Representação da corrida eletroforética em gel..... 58

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

QUADRO 1	Número de amostras colhidas por visita realizada nas propriedades de bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro ao longo do período de estudo.....	16
TABELA 1	Distribuição nas raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro da frequência absoluta e relativa dos resultados dos testes da caneca telada e do California mastitis test (CMT) de acordo com o quarto mamário.....	21
TABELA 2	Estatística descritiva da contagem de células somáticas do leite, separada por intervalos, considerando a presença ou não de mastite, para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.....	22
TABELA 3	Estatística descritiva da composição do leite de acordo com a CCS e ocitocina exógena para a raça Curraleiro Pé-Duro.....	25
TABELA 4	Estatística descritiva da composição do leite de acordo com a CCS para a raça Pantaneiro.....	26
TABELA 5	Estatística descritiva dos parâmetros físico-químicas do leite de acordo com a CCS e ocitocina exógena para a raça Curraleiro Pé-Duro.....	30
TABELA 6	Estatística descritiva dos parâmetros físico-químicos de acordo com a CCS do leite das fêmeas da raça Pantaneiro.....	30
TABELA 7	Descrição dos isolados bacterianos de acordo com os intervalos de contagem de células somáticas, em amostras de leite da raça Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.....	37
TABELA 1	Medidas descritivas das proteínas do soro lácteo das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, estimadas pelo método <i>lab-on-a-chip</i> .....	59
TABELA 2	Estatística descritiva das concentrações das principais proteínas do soro lácteo na raça Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.....	60
QUADRO 1	Concentrações das frações proteicas presentes no soro lácteo em diferentes estudos.....	61

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

<b><math>\alpha</math>-LA</b>	Alfa-lactoalbumina
<b><math>\beta</math>-LG</b>	Beta-lactoglobulina
<b>ABCBP</b>	Associação Brasileira de Criadores de Bovino Pantaneiro
<b>ABCPD</b>	Associação Brasileira de Criadores de Bovinos Curraleiro Pé-Duro
<b>CCS</b>	Contagem de células somáticas
<b>céls/mL</b>	Células por mililitro
<b>CMT</b>	<i>California mastitis test</i>
<b>CPA</b>	Centro de Pesquisa em Alimentos
<b>Da</b>	Daltons
<b>Embrapa</b>	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
<b>EVZ</b>	Escola de Veterinária e Zootecnia
<b>FAO</b>	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
<b>H<sub>2</sub>S</b>	Sulfeto de Hidrogênio
<b>IgA</b>	Imunoglobulina A
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>In</b>	Instrução Normativa
<b>INSA</b>	Instituto Nacional do Semi-árido
<b>IPTSP</b>	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
<b>kDa</b>	Kilodaltons
<b>kg</b>	Kilogramas
<b>LQL</b>	Laboratório da Qualidade do Leite
<b>MAPA</b>	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
<b>mL</b>	Mililitro
<b>Ms/cm</b>	MiliSiemens por centímetro
<b>MS</b>	Mato Grosso do Sul
<b>MT</b>	Mato Grosso
<b>Nº</b>	Número
<b>RP-HPLC</b>	Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa
<b>SDS-PAGE</b>	Eletroforese em gel de poliacrilamida - dodecilssulfato de sódio
<b>SIM</b>	Sulfeto-indol-motilidade
<b>UFC/mL</b>	Unidades formadoras de colônias por mililitro
<b>UFG</b>	Universidade Federal de Goiânia
<b>VM</b>	Vermelho de metila
<b>VP</b>	Voges-Proskauer

## RESUMO

O presente estudo teve por objetivo analisar os aspectos sanitários da glândula mamária, perfil de proteínas no soro lácteo e a qualidade do leite produzido pelas raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. Foram avaliadas 226 amostras de leite obtidas de um rebanho da raça Curraleiro Pé-Duro, localizados no município de Cocalzinho, Goiás e 107 amostras de leite de bovinos Pantaneiro, pertencentes à Fazenda Nhumirim -unidade experimental da Embrapa Pantanal, município de Corumbá, Mato Grosso do Sul, no período de janeiro de 2013 a maio de 2014. De acordo com os resultados encontrados neste estudo, foi possível determinar os valores relacionados à composição centesimal do leite (gordura, proteína, lactose, extrato seco total e desengordurado) e aspectos físicos (acidez, pH e eletrocondutividade). Foram identificados casos de mastite clínica e subclínica nos rebanhos com o envolvimento dos gêneros bacterianos *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Yersinia* e *Shigella*. Não foi observada a presença de resíduos de antimicrobianos no leite de ambas as raças. A partir da realização da técnica de eletroforese microfluídica foi possível caracterizar as principais proteínas presentes no soro do leite quanto a concentração, peso molecular e tempo de migração em gel, além de evidenciar a efeito da mastite sobre as proteínas presentes no soro lácteo, a partir da elevação na concentração de albumina, imunoglobulina G e lactoferrina. Os resultados obtidos neste estudo sugerem que as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro apresentaram boas condições quanto à qualidade do leite e sanidade da glândula mamária na maioria dos animais avaliados, justificando a importância na conservação destes recursos genéticos para futura contribuição ao desenvolvimento da pecuária nacional.

**Palavras-chave:** contagem de células somáticas, mastite, proteinograma do soro lácteo, qualidade do leite, raças bovinas locais

## ABSTRACT

This study aimed to analyze the health aspects of the mammary gland, whey protein profile, and quality of milk produced by the breeds Curraleiro Pe-Duro and Pantaneiro. We evaluated 226 milk samples from a Curraleiro Pé-Duro herd, in the municipality of Cocalzinho, Goiás, and 107 milk samples from a Pantaneiro herd, belonging to the Nhumirim farm - Embrapa Pantanal experimental unit, municipality of Corumbá, Mato Grosso do Sul, from January 2013 to May 2014. We determined values related to the milk chemical composition (fat, protein, lactose, degreased, and total dry extract) and physical aspects (acidity, pH, electroconductivity). According to the results of this study, we determined the values related to the chemical composition (fat, protein, lactose, total solids, and degreased) and physical aspects of milk (acidity, pH, electroconductivity). Cases of clinical and subclinical mastitis were identified in herds with the involvement of bacteria of the genera *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Yersinia*, and *Shigella*. There was no presence of antibiotic residues in the milk of both breeds. It was possible to characterize the main proteins present in whey as the concentration, molecular weight, and gel migration time due to microfluidic electrophoresis assays, besides the evidence of mastitis effect on whey proteins regarding the increase in the concentration of albumin, immunoglobulin G, and lactoferrin. The results of this study suggest that Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro showed good conditions of milk quality and sanity of the mammary gland in most animals evaluated, justifying the importance in the conservation of these genetic resources for future contribution to the development of the national livestock.

**Keywords:** mastitis, whey protein profile, milk quality.

## **CAPÍTULO 1- CONSIDERAÇÕES GERAIS**

Os bovinos locais brasileiros descendem de raças ibéricas introduzidas no Brasil durante o período da colonização pelos portugueses e espanhóis. Ao longo dos séculos, estes animais reproduziram-se e como consequência do processo de seleção natural obtiveram a adaptação em diferentes regiões do país, agregando características de rusticidade e resistência a doenças, parasitas e plantas tóxicas<sup>1-3</sup>.

Apesar das características de rusticidade e adaptação aos diferentes ecossistemas, muitos criadores optaram pelo cruzamento entre os rebanhos bovinos locais com linhagens exóticas visando a melhoria da produtividade. A ausência de critérios sobre o melhoramento genético em questão, resultou na redução significativa e quase ao desaparecimento de algumas raças locais, como Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro<sup>4</sup>.

O gado Curraleiro Pé-Duro é encontrado nos Biomas Cerrado e Semiárido, sendo caracterizado pela rusticidade, capacidade de adaptação às condições adversas do meio e baixo custo de produção. São animais pequenos, onde os machos adultos apresentam altura média de 1,13 m e 395 Kg e as fêmeas 1,17 m e 253 kg. Apresentam cabeça pequena, chifres médios semelhantes à coroa, pelagem fina e curta, com tonalidades variadas entre amarelo e amarelo avermelhado com extremidades mais escuras, principalmente no chanfro e ao redor dos olhos<sup>5,6</sup>.

Apesar da aptidão mista<sup>7-9</sup> os animais vêm sendo mais utilizados para corte visto o bom rendimento de carcaça, maciez e sabor diferenciado da carne. As fêmeas apresentam habilidade materna e a produção de leite, mesmo em baixos índices, beneficiando famílias rurais que utilizam estes animais como fonte de alimento ou geração de renda<sup>10</sup>.

Diante destas particularidades, observou-se ao longo do tempo, o interesse de alguns produtores e pesquisadores na conservação da raça Curraleiro Pé-Duro, visando a exploração e valorização das potencialidades deste patrimônio genético e cultural do país. Em virtude desta ação conjunta, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio da Portaria nº 1.150, instituída em 14 de dezembro de 2012, reconheceu o gado Curraleiro, denominação na região Centro-Oeste do país, ou Pé-Duro, denominação aos animais localizados na região Norte e Nordeste, como raça zootécnica, sendo registrada sob o nome “Curraleiro Pé-Duro”. Além do reconhecimento da raça, foi estabelecida a concessão à Associação Brasileira de Criadores de Bovinos Curraleiro Pé-Duro (ABCPD) o direito de realizar trabalhos de registro genealógico, intensificando a importância dos animais e, sobretudo a necessidade de conservação e utilização destes recursos genéticos de forma apropriada<sup>11</sup>.

Estima-se que atualmente existam mais de 7.000 bovinos Curraleiro Pé-Duro distribuídos nos criatórios localizados nos estados da Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Pará, Paraíba, Piauí e Tocantins, onde muitos permanecem ainda em condições adversas, principalmente quanto a ambiente e alimentação<sup>12</sup>.

O bovino Pantaneiro, Tucura ou Cuiabano, também se caracteriza como raça local brasileira, descendente das raças ibéricas que foram levadas para a região do Pantanal pelos colonizadores. O processo de adaptação e conseqüentemente de seleção natural neste local proporcionou a formação de animais rústicos e resistentes, sendo capazes de suportar situações pouco favoráveis quanto a clima e nutrição, oferecidos pelo bioma<sup>13,14</sup>.

Observa-se nesta raça, animais rústicos, porte pequeno a médio, com cascos resistentes em virtude do pastejo em regiões alagadas, capacidade de reprodução significativa, longevidade e habilidade materna, apresentando também menor exigência nutricional, face a escassez de alimentos no período de seca e situações adversas no período de enchentes. Apresentam chifres curtos e finos, voltados para frente e com pontas para cima, pelagem predominante de cor amarelo-avermelhada, focinho negro e pelos mais claros na região dorsal e ventral. São animais de comportamento arreado, porém o manejo adequado e constante permite a observação da docilidade da raça<sup>15,16</sup>.

Apesar destes animais apresentarem dupla aptidão, as características satisfatórias quanto ao ganho de peso, acabamento de carcaça e qualidade referentes a suculência e maciez, torna este rebanho mais atrativo para corte. A raça conta com a presença de características genéticas positivas para a produção leiteira, entretanto, preconiza-se melhorias diante a qualidade e quantidade de alimentos, manejo adequado e um programa de seleção a fim de que os animais possam interagir de forma significativa para a pecuária leiteira da região e do país<sup>15-17</sup>.

Os bovinos Pantaneiro participaram de forma ativa na pecuária local, entretanto, foram substituídos ou miscigenados gradativamente pela introdução das raças zebuínas, apresentando grave risco de extinção<sup>13-15</sup>. Diante das potencialidades do rebanho e da redução significativa de animais e conseqüentemente de recursos genéticos, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa Pantanal) em 1984, implantou um Núcleo de Criação e Conservação de bovinos Pantaneiro na Fazenda Nhumirim, Corumbá, MS, buscando a manutenção do material genético e a viabilização de pesquisas com esses animais em busca de sua caracterização, exploração, conservação e utilização<sup>16-18</sup>.

Considerando a importância e a necessidade de conservação desta raça, criadores e pesquisadores da Embrapa e outras instituições, criaram a Associação Brasileira de Criadores

de Bovino Pantaneiro (ABCBP) no ano de 2012, sediada no município de Poconé, MT. A associação luta pelo reconhecimento do rebanho como raça zootécnica junto ao MAPA, pois entendem que o registro dos animais tende a intensificar a produção, bem como expandir os critérios para conservação dos recursos genéticos e a valorização da riqueza cultural e social da região<sup>19,20</sup>. A certificação de origem aos produtos tradicionais do Pantanal poderá trazer ao queijo Nicola, produzido a partir do leite de vacas Pantaneiro, maior destaque no comércio nacional e internacional visto a qualidade do produto e riqueza cultural da região<sup>21</sup>.

Atualmente, a ABCBP conta com a participação de cinco criatórios para bovinos da raça Pantaneiro nos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul, estimando a presença de aproximadamente 500 animais<sup>19</sup>.

Diante da necessidade de conservação dos recursos genéticos animais, a comunidade internacional por meio da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) instituiu em 2007, um Plano de Ação Mundial para Recursos Genéticos Animais e a Declaração de Interlaken, a fim de traçar estratégias e responsabilidades aos países na promoção do uso racional e sustentável dos recursos vitais, garantia da biodiversidade animal em associação ao desenvolvimento rural, promoção da segurança alimentar e melhoria do estado nutricional da humanidade<sup>22</sup>.

No ano de 2009, por meio da Portaria MCT-MEC Nº 1.038 de 10 de dezembro de 2009 foi instituída a Rede Centro-Oeste de Pós-Graduação, Pesquisa e Inovação (Pró-Centro-Oeste) visando a conservação e o uso dos recursos naturais do Cerrado e Pantanal de forma sustentável, além da formação de recursos humanos para o desenvolvimento da região Centro-Oeste. Algumas linhas de pesquisa foram definidas para a Rede, sendo uma voltada especificamente para Caracterização, Conservação e Uso das Raças Bovinas Locais Brasileiras: Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, com objetivo de conhecer as particularidades das duas raças bovinas locais brasileiras em risco de extinção, buscar a conservação dos biomas Cerrado e Pantanal, a sustentabilidade e diversidade genética e ao mesmo tempo traçar estratégias à exploração pecuária adequada para estas regiões com as raças locais<sup>23</sup>.

Antes mesmo da instituição da Rede Pró-Centro-Oeste, pesquisas foram realizadas na tentativa de caracterizar as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro quanto à origem, adaptação, perfil sanitário, comportamento e inserção social das populações que utilizam as duas raças como geração de renda e subsistência de comunidades rurais<sup>10,24</sup>. No entanto, observou-se escassez de informações quanto à produção e qualidade do leite destes animais.

Atributos como sanidade da glândula mamária e qualidade do leite devem ser considerados para valorização das raças locais brasileiras com destaque nas potencialidades

genéticas e produtivas destes animais e a possibilidade de aproveitamento tecnológico na obtenção de produtos alimentícios derivados dessa matriz alimentar<sup>1</sup>.

Portugal reconhece atualmente 15 raças bovinas autóctones dispersas pelo país, sendo a maioria delas em risco de extinção. Vários projetos foram desenvolvidos buscando reconhecer a importância destas raças na fixação de comunidades em meio rural e principalmente a importância na conservação da riqueza genética destes animais, que muitas vezes é associada ao perfil de rusticidade, adaptabilidade e resistência destas raças locais frente às adversidades relacionadas à alimentação, clima, relevo e enfermidades<sup>25</sup>.

Quanto aos aspectos produtivos, a carne assume maior importância comercial, pois a certificação de origem atribuída aos produtos derivados das raças autóctones permite agregação de valor em consequência da oferta de alimentos diferenciados e de elevada qualidade. A aptidão leiteira vem sendo atribuída em grande parte às raças ovinas, como exemplo a raça Serra da Estrela, cujo leite é utilizado na obtenção de produtos com certificação de origem protegida como o queijo e requeijão Serra da Estrela<sup>25,26</sup>.

As raças bovinas leiteiras, no Brasil, têm descrições extensas sobre as propriedades do leite e detalhamento do perfil sanitário da glândula mamária, fundamentadas em estudos científicos. O mesmo cenário não ocorre com as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro que são estudadas em período menor que uma década<sup>4,9,27</sup>.

O leite caracteriza-se como um alimento de alto valor biológico, tendo na sua composição proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais. Estes nutrientes podem ser influenciados por fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais, sanitários, comportamentais e ambientais, durante o processo de síntese do leite na glândula mamária<sup>28-30</sup>.

A qualidade do leite pode ser definida por meio de suas características quanto à composição, aspectos físico-químicos e microbiológicos, sanidade do rebanho, bem como todo o processamento envolvendo a obtenção, o beneficiamento e distribuição dos produtos<sup>31,32</sup>.

O MAPA, por meio da Instrução Normativa n° 62, estabelece como forma de avaliação da qualidade do leite a determinação da contagem de células somáticas (CCS), avaliação da composição centesimal e a ocorrência de resíduos químicos<sup>33</sup>.

As células somáticas compreendem as células do sistema imune, bem como as células de descamação do epitélio alveolar da glândula mamária. A contagem destas em amostras de leite cru além de auxiliar na avaliação do estado sanitário da glândula mamária, tem sido utilizada como padrão ouro para o diagnóstico de mastite, principal enfermidade dos rebanhos leiteiros<sup>34-36</sup>.

A mastite ocorre em resposta a uma infecção bacteriana, fúngica, ou viral na glândula mamária, além de traumas mecânicos ou produtos químicos<sup>37</sup>. Caracteriza-se por uma das doenças que mais onera custos de produção de fazendas leiteiras e indústrias de laticínios, promovendo impacto negativo na eficiência e qualidade da produção, sanidade, bem-estar animal, sendo uma das principais razões que comprometem a qualidade do leite<sup>38,39</sup>.

Visando o reconhecimento das propriedades nutricionais e tecnológicas do leite, observa-se a necessidade da determinação da composição centesimal que busca a quantificação dos teores de lipídeos, proteínas, lactose e demais sólidos totais, além da detecção de resíduos químicos no leite, principalmente a presença de antimicrobianos. Verifica-se desta maneira que, aliada à quantidade, a qualidade dos componentes do leite é fundamental para aceitação e segurança dos consumidores e para utilização deste produto na indústria de laticínios<sup>40-43</sup>.

Considerando as proteínas e peptídeos no leite, verifica-se que alguns fatores importantes como espécie, raça, sanidade, período de lactação, alimentação, mudanças climáticas e manejo de ordenha, podem alterar significativamente a concentração destes constituintes<sup>44-47</sup>. Desta forma, buscando a caracterização das raças bovinas brasileiras locais e a avaliação da qualidade do leite produzido, verifica-se que além da determinação dos constituintes do leite, cabe destacar a necessidade e a importância do fracionamento eletroforético das proteínas lácteas, estas que se constituem ingredientes valorizados pelas suas excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais<sup>29,32,37,40,43,48</sup>.

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a sanidade da glândula mamária, a qualidade do leite e o perfil eletroforético das proteínas do soro lácteo de rebanhos de bovinos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.

## REFERÊNCIAS

1. Costa, MFO, Egito AA, Fioravanti MCS, Juliano RS. Qualidade da carne: podemos evitar a extinção de raças bovinas naturalizadas? Corumbá: Embrapa Pantanal. 2011. 3p. Disponível em: [http://www.insa.gov.br/wpcontent/uploads/2013/06/Documentot%C3%A9cnico\\_5.pdf](http://www.insa.gov.br/wpcontent/uploads/2013/06/Documentot%C3%A9cnico_5.pdf)
2. McManus C, Castanheira M, Paiva SR, Louvandini H, Fioravanti MC, Paludo GR, Bianchini E, Corrêa PS. Use of multivariate analyses for determining heat tolerance in Brazilian cattle. *Trop Anim Health Prod.* [online]. 2011; 43(3):623-30 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21181496>. doi: 10.1007/s11250-010-9742-8.
3. Pires RML, Alvarez RH, Amaral JB, Monteiro FM, Melo AJF, Trevisol E, Lara MAC. Caracterização citogenética das raças bovinas Caracu, Junqueira, Pantaneira e Patuá. *B. Indust. Anim.* [online]. 2014;71(4):332-40 [citado em 2015 Mai 5]. Disponível em: <http://www.iz.sp.gov.br/pdfsbia/1418131335.pdf>
4. Fioravanti MCS, Juliano RS, Costa GL, Abud LJ, Cardoso VS, Carpio MG, C MFO. Conservación del bovino Curraleiro: cuantificación del censo y caracterización de los criadores. *Anim Genet Resour* [online]. 2011; 48:109-16 [citado 15 Maio 2015]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i2200t/i2200t13.pdf>
5. Fioravanti MCS, Neiva ACG, Moura MI, Costa MFO, Monteiro EP, Sereno JRB. Kalungas e Curraleiro Pé-Duro: O resgate de uma tradição. *Revista UFG* [online]. 2012; 13 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: [http://www.proec.ufg.br/revista\\_ufg/dezembro2012/arquivos\\_pdf/12.pdf](http://www.proec.ufg.br/revista_ufg/dezembro2012/arquivos_pdf/12.pdf).
6. Carvalho GMC, Fé da Silva LR, Almeida MJO, Lima Neto AF, Beffa LM. Avaliações fenotípicas da raça bovina Curraleiro Pé-Duro do Semiárido do Brasil. *Arch. Zootec.* [online]. 2013; 62(237) [citado em 2015 Mai 02]. Disponível em: [http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S000405922013000100002&script=sci\\_arttext](http://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S000405922013000100002&script=sci_arttext). <http://dx.doi.org/10.4321/S0004-05922013000100002>
7. Lara MAC, Gama LT, Bufarah G, Sereno JRB, Celegato EML, Abreu UP. Genetic polymorphisms at the k-casein locus in cattle. *Arch Zootec* [online]. 2002; 51(1): 99-105 [citado em 2015 Mai 15]. Disponível em: [dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/279957.pdf](http://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/279957.pdf).
8. Félix GA, Piovezan U, Juliano RS, Silva MC, Fioravanti MCS. Potencial de uso de raças bovinas locais brasileiras: Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. *Enciclopédia Biosfera* [online]. 2013; 9(16):1715 [citado em 2015 Feb 22]. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/potencial%20de%20uso.pdf>.
9. Salles PA, Medeiros GR, Costa RG, Ramos CTC, Borburema JBA, Rocha MJO, Rocha LL, Mathias W. Programa de conservação e melhoramento de uma raça bovina Brasileira: Curraleiro Pé-Duro. *AICA.* 2011; 1:453-6. Disponível em: [www.insa.gov.br/wp-content/uploads/2013/.../Documento-técnico\\_5.pdf](http://www.insa.gov.br/wp-content/uploads/2013/.../Documento-técnico_5.pdf).
10. Castanheira M, McManus CM, Paula Neto JB, Costa MJRP, Mendes FDC, Sereno JRB, Bértoli CD, Fioravanti MCS. Maternal offspring behaviour in Curraleiro Pé Duro

naturalized cattle in Brazil. R. Bras. Zootec. [online]. 2013; 42(8), 584-91 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-35982013000800008&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982013000800008&lng=en&tlng=en).

11. Silva MCP, Fioravanti MCS, Solano, GA, Silva DC, Iskandar GR, Moura MI, Rocha FEC, Lopes FB, Sereno JRB. Análise do discurso em reunião para o registro genealógico de bovinos Curraleiro Pé-Duro no Brasil. AICA [online]. 2013; 3:188-93 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: [http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo\\_110\\_lin\\_photo/articulos/2013/Trabajo028\\_AICA2013.pdf](http://www.uco.es/conbiand/aica/templatemo_110_lin_photo/articulos/2013/Trabajo028_AICA2013.pdf)
12. Egito AA, Juliano RS, Fioravanti MC. Ferramentas moleculares para a gestão, uso e conservação das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. I Simpósio Internacional de Raças Nativas: Sustentabilidade e Propriedade Intelectual; Teresina, PI. 2015. Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arq\\_editor/Ferramentas%20moleculares%20para%20gest%C3%A3o,%20uso%20e%20conserva%C3%A7%C3%A3o%20das%20ra%C3%A7as%20Curraleiro%20P%C3%A9-Duro%20e%20Pantaneira.pdf](http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/Ferramentas%20moleculares%20para%20gest%C3%A3o,%20uso%20e%20conserva%C3%A7%C3%A3o%20das%20ra%C3%A7as%20Curraleiro%20P%C3%A9-Duro%20e%20Pantaneira.pdf)
13. Abreu UGP, Santos AS, Sereno JRB, McManus C. Caracterização fenotípica e genética da precocidade sexual do bovino pantaneiro. Arch Zootec [online]. 2007, 56:1-5 [citado em 2015 Mai]. Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49509945>.
14. Marques Junior HR, Juliano RS, Abdo Y. Bovino Pantaneiro: retrospectiva histórica e fomento à raça. Unbral Fronteiras [online]. 2012; 42: 71-86 [citado em 2015 Mai 3]. Disponível em: <http://unbral.nuvem.ufrgs.br/base/items/show/2169>.
15. McManus C, Abreu UG, Santos S, Melo CB, Louvandini H. Bovino Pantaneiro. Série técnica: Genética. INCT: Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira. 2010. Disponível em: [http://inctpecuaria.com.br/images/informacoestecnicas/serie\\_tecnica\\_bovino\\_pantaneiro.pdf](http://inctpecuaria.com.br/images/informacoestecnicas/serie_tecnica_bovino_pantaneiro.pdf)
16. Juliano RS, Ramos AF, Santos AS, Abreu UGP. Análise de características reprodutivas indicadoras de puberdade em tourinhos Pantaneiro. Arch. Zootec. [online]. 2011; 60(231):325-328 [citado em 2015 Jun 5]. Disponível em: [http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/az.php?idioma\\_global=0&revista=164&codigo=1925](http://www.uco.es/organiza/servicios/publica/az/php/az.php?idioma_global=0&revista=164&codigo=1925)
17. Mazza MCM, Mazza CAS, Sereno JRB, Santos SA, Pellegrin AO. Etnobiologia e conservação do bovino pantaneiro. Embrapa Pantanal: 1994. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/publicacao/783931/etnobiologia-e-conservacao-do-bovino-pantaneiro>.
18. Horton TM, Marques Junior HR, Cedran M, Juliano RS, Santos SA, Nogueira E. Avaliação de ganho de peso e peso a desmama em bezerro pantaneiros e pantaneiro x nelore, criados a pasto. 6 Simpósio sobre recursos naturais e socioeconômicos do Pantanal. Corumbá, MS. 2013. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/93874/1/RE22.pdf>
19. Dichoff N. Bovino Pantaneiro reúne resistência e produtividade. 2014. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2086467/bovino-pantaneiro-reune-resistencia-e-produtividade>

20. Rezende MPG, Luz DF, Ramires GG, Oliveira NM, Barbosa Filho JA, O MVM. Caracterização zoométrica de novilhas remanescentes da raça Pantaneira. *Cienc. Rural* [online]. 2012; 44(4):706-9 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010384782014000400022&lng=en&tlng=pt.10.1590/S0103-84782014000400022](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010384782014000400022&lng=en&tlng=pt.10.1590/S0103-84782014000400022).
21. Dani SU, Oliveira MVM. Genetics: Cattle, cheese and conservation. *Nature*. [online]. 2013; 502(448) [citado em 2015 Ago 22]. Disponível em: <http://www.nature.com/nature/journal/v502/n7472/full/502448c.html>
22. Embrapa- Recursos Genéticos e Biotecnologia. Plano de ação Mundial para os recursos genéticos animais e declaração de Interlaken. 2010. Brasília, DF. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/012/a1404p/a1404p00.pdf>.
23. Rede Pro Centro-Oeste. Rede Centro-Oeste de Pós-Graduação, Pesquisa e Inovação. 2015. Disponível em: <http://redeprocentrooeste.org.br/network/view/id/18/rede-12-caracteriza-a-o-conservaa-a-o-e-uso-das-raa-as-bovinas-locais-brasileiras-curraleiro-e-pantaneiro>.
24. Neiva ACGR. Caracterização socioeconômica da comunidade quilombola Kalunga e proposta de reintrodução do bovino Curraleiro como alternativa de geração de renda. [tese]. 2009. Universidade Federal de Goiás. 138f.
25. AniDoP. Animais domésticos de Portugal. As raças autóctones de Portugal. 2015. Disponível em: <http://www.anidop.net/index.php/racas-autoctones/bovinos>
26. Iniap. Instituto Nacional de Investigação agrária e das pescas. Recursos genéticos animais em Portugal. Relatório Nacional. Disponível em: [http://docentes.esa.ipcb.pt/churra\\_do\\_campo/RelatorioNacionaisobreaSituacao%20RecursosGeneticosAnimaisemPortugal.pdf](http://docentes.esa.ipcb.pt/churra_do_campo/RelatorioNacionaisobreaSituacao%20RecursosGeneticosAnimaisemPortugal.pdf)
27. Borburema JBMG, Ramos CTC, Nardelli MJ, Pereira Filho JM, Carvalho MCX, Reis CF. Production and physical and chemical composition of the milk of Curraleiro Pé duro (*Bos ibericus*) cows in the semiarid area of Paraíba | WFL Publisher. *JFAE* [online]. 2013;11(3-4):403-5 [citado em 2015 Jun 12]. Disponível em: <http://world-food.net/production-and-physical-and-chemical-composition-of-the-milk-of-curraleiro-pe-duro-bos-ibericus-cows-in-the-semiarid-area-of-paraiba/>
28. Souza EM, Milagres JC, Regazzi AJ, Martinez ML, Silva MA. Effects of genetic and environmental factors on milk production of dairy Gir cattle in Brazil. *Rev Bras Zootec.*1996; 25:889-901.
29. Clare DA, Swaisgood HE. Bioactive milk peptides: A prospectus. *J. Dairy Sci.* 2000; 83(6):1187-95.
30. Popescu A, Angel, E. Analysis of milk quality and its importance for milk processors. *Lucrări Științifice Zootehnie Și Biotehnologii.* [online]. 2009; 42(1):501-3[citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: [www.spasb.ro/index.php/spasb/article/download/1022/973](http://www.spasb.ro/index.php/spasb/article/download/1022/973).
31. Perkins NR, Kelton DF, Hand KJ, MacNaughton G, Berke O, Leslie KE. An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash water quality on dairy farms in

- Ontario, Canada. *J Dairy Sci.* [online]. 2009; 92(8):3714-22 [citado em 2015 Mai]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19620653](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19620653)
32. Ye A. Functional properties of milk protein concentrates: Emulsifying properties, adsorption and stability of emulsions. *Int. Dairy J.*[online] 2011; 21:14-20 [citado em 2015 Mai 2]. Disponível em: [www.sciencedirect.com/.../pii/S09586946\\_10001883](http://www.sciencedirect.com/.../pii/S09586946_10001883)
  33. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62 de 29 dezembro de 2011. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de dez. de 2011, Seção 1, p.6-11.
  34. Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tinofsky L, Gonzales RN. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res.*[online]. 2003; 34:579-96 [citado em 2015 Jun 12]. Disponível em: [www.scielo.br/pdf/sa/v70n1/a04v70n1.pdf](http://www.scielo.br/pdf/sa/v70n1/a04v70n1.pdf)
  35. Dobranié V, Njari B, Samardžija M, Mioković B, Resanović. The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. *R: Vet Arhiv.* [online]. 2008; 78:235-42. [citado em 2015 Jun 14]. Disponível em: [www.vef.unizg.hr/vetarhiv/papers/2008-78-3-6.pdf](http://www.vef.unizg.hr/vetarhiv/papers/2008-78-3-6.pdf)
  36. Rhoda DA, Pantoja JCF. Using mastitis records and somatic cell count data. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* [online]. 2012; 28(2):347-61 [citado em 2015 Mai 26]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22664212](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22664212).
  37. Zhao X, Lacasse P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J Anim Sci.* [online]. 2008; 86(13 Suppl):57-65 [citado em 2015 Jun 13]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17785603](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17785603).
  38. Keefe G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2012; 28(2):203-13. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22664203](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22664203).
  39. Wellnitz O, Bruckmaier RM. The innate immune response of the bovine mammary gland to bacterial infection. *Vet J.*[online]. 2012;192(2):148-52 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22498784](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22498784).
  40. Simões TVMD, Oliveira AA. Mastite bovina: considerações e impactos econômicos-Embrapa. 2012. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. Disponível em: [http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes\\_2012/doc\\_170.pdf](http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_170.pdf)
  41. Sant'ana VAC, Birgel EH, Rosenfeld AMF, Soares PC. Proteinograma do leite de vacas lactantes submetidas à retenção láctea. *Braz J Vet Res Anim Sci* [online] 2006; 43(2):262-9 [citado em 2015 Mai 12]. Disponível em: [www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?pid=S1413...script=sci](http://www.revistasusp.sibi.usp.br/scielo.php?pid=S1413...script=sci).
  42. Brito JRF, Souza GN, Faria CG, Moraes LCD. Normas para coleta e envio de amostras de leite do rebanho para determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas e contagem total de bactérias. Embrapa Gado de Leite, 2008. Disponível em: [www.cnpqgl.embrapa.br/nova/produto\\_serv/.../ManualColeta.pdf](http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/produto_serv/.../ManualColeta.pdf).

43. Oliveira ENA, Santos DC, Oliveira AS, Sousa FC. Composição físico-química de leite em diferentes fases de lactação. *Rev. Acad. Cienc. Agrar. Ambient* [online] 2010; 8 (4):409-15 [citado em 2015 Mai 28]. Disponível em: [www2.pucpr.br/reol/index.php/ACADEMICA?dd1=4512&dd99](http://www2.pucpr.br/reol/index.php/ACADEMICA?dd1=4512&dd99).
44. Rocha TG, Franciosi C, Nociti RP, Silva PC, Sampaio AAM, Fagliari JJ. Eletroferograma das proteínas do soro lácteo de vacas canchim primíparas e pluríparas. *Anais 8º Congresso Brasileiro de Buiatria*, 2009; Belo Horizonte, Brasil. *Ciênc. Anim. Bras.* 2009; (Supl.1), p.220.
45. Caldeira LA, Ferrão SPB, Fernandes SAA, Magnavita APA, Santos TDR. Índices de qualidade nutricional da fração lipídica do leite de búfalas da raça Murrah produzido em diferentes fases de lactação. *Rev Inst Adolfo Lutz.* [online] 2010; 69 (4) [citado em 2015 Jun 22]. Disponível em: <http://ses.sp.bvs.br/lildbi/docsonline/get.php?id=2288>.
46. Gopal PK, Gill HS. Oligosaccharides and glycoconjugates in bovine milk and colostrum. *Br J Nutr.* [online]. 2000; 84(Suppl 1):69-74 [citado em 2015 Jun 02]. Disponível em: [journals.cambridge.org/article\\_S0007114500002270](http://journals.cambridge.org/article_S0007114500002270)
47. Sgarbieri VC. Revisão: Propriedades Estruturais e Físico-Químicas das Proteínas do Leite. *Braz J Food Technol* [online] 2005; 8(1):43-56 [citado em 2015 Jun 10]. Disponível em: [www.ital.sp.gov.br/bj\\_old/brazilianjournal/free/p05185.pdf](http://www.ital.sp.gov.br/bj_old/brazilianjournal/free/p05185.pdf).
48. Juliano RS, Fioravanti MCS, Fagliari JJ, Silva PC, Silva LAF. Proteinograma sérico de bovinos da raça Curraleiro. *Arq Bras Med Vet Zootec* [online]. 2009; 61(3):533-8 [citado em 2015 Mai 28]. Disponível em: [www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n3/02.pdf](http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n3/02.pdf).

## CAPÍTULO 2 - QUALIDADE DO LEITE E SANIDADE DA GLÂNDULA MAMÁRIA DE BOVINOS CURRALEIRO PÉ-DURO E PANTANEIRO

### Resumo

Buscou-se neste estudo a avaliação do perfil sanitário da glândula mamária e a qualidade do leite produzido por bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. Foram avaliadas 226 amostras de leite da raça Curraleiro Pé-Duro e 107 amostras de leite de bovinos Pantaneiro, localizados nos estados de Goiás e Mato Grosso do Sul, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Após a realização dos testes da caneca telada e *California mastitis test*, foram colhidas as amostras de leite para avaliação microbiológica, físico-química e contagem de células somáticas. Observou-se a ocorrência de apenas um caso de mastite clínica no rebanho bovino Curraleiro Pé-Duro por meio do teste da caneca telada além de percentuais de 33,6% e 39,3% de quartos mamários reagentes ao teste *California Mastitis Test* nas raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, respectivamente. A partir da avaliação da contagem de células somáticas foram observados 78,3% e 68,2% das amostras de leite dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro com valores  $\leq 200.000$  céls/mL, enquanto percentuais de 21,7% e 31,8% das amostras de leite apresentaram valores superiores, indicando mastite. Quanto à composição centesimal do leite foram observados para a raça Curraleiro Pé-Duro valores médios de  $1,14 \pm 0,80\%$  para o teor de gordura;  $3,74 \pm 0,57\%$  de proteínas;  $4,70 \pm 0,39\%$  lactose;  $10,51 \pm 1,15\%$  para o extrato seco total e  $9,37 \pm 0,69\%$  para o extrato seco desengordurado, enquanto para a raça Pantaneiro, o teor de gordura médio esteve entre  $1,29 \pm 0,93\%$ ;  $4,23 \pm 1,37\%$  proteína;  $4,07 \pm 0,89\%$  lactose;  $10,55 \pm 1,84\%$  extrato seco total e  $9,26 \pm 1,03\%$  extrato seco desengordurado. Os valores determinados para a acidez titulável no leite foram  $16,15 \pm 2,60^\circ\text{D}$ ;  $15,56 \pm 2,65^\circ\text{D}$ , pH ( $6,78 \pm 0,24$ ;  $6,71 \pm 0,22$ ) e condutividade ( $4,70 \pm 0,86\text{mS/cm}$ ;  $4,46 \pm 0,76\text{mS/cm}$ ). Além da ausência de resíduos de antimicrobianos no leite de ambas as raças, foram identificados no leite, a partir do isolamento convencional, os gêneros bacterianos *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Yersinia*, *Shigella*, *Proteus* e *Escherichia*. Diante dos resultados obtidos, verificou-se a baixa ocorrência de mastite nos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, com destaque ao maior envolvimento de patógenos de origem ambiental. O leite produzido por estes rebanhos foi semelhante às raças de aptidão leiteira quanto a composição centesimal e atendeu os parâmetros vigentes de qualidade quanto a contagem de células somáticas do leite. Estes resultados sugerem que as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro constituem recursos genéticos importantes a serem conservados e apresentam potencial de exploração.

**Palavras-chave:** contagem de células somáticas, mastite, qualidade do leite, raças bovinas locais

## Abstract

### Milk quality and mammary gland sanity of Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro cattle

We sought in this study to assess the health profile of the mammary gland and the quality of milk produced by cattle of Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro breed. We evaluated 226 milk samples from Curraleiro Pé-Duro breed and 107 samples from Pantaneiro breed, from January 2013 to December 2014, in the states of Goiás and Mato Grosso do Sul, . Upon completion of the mug tests and California mastitis test, milk samples were collected for microbiological and physical-chemical analysis and somatic cell count. We observed the occurrence of only one case of clinical mastitis in cattle Curraleiro Pé-Duro through the screened mug test as well as 33.6% and 39.3% of mammary quarters reagents to California Mastitis Test for the breeds Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro, respectively. From the assessment of somatic cell counts, we observed 78.3% and 68.2% of milk samples from herds Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro with values  $\leq 200.000$  cells / mL, while percentages of 21.7% and 31.8% of milk samples showed higher values indicating mastitis. As for the chemical composition of milk, we observed for Curraleiro Pé-Duro the mean values of  $1.14 \pm 0.80\%$  fat content;  $3.74 \pm 0.57\%$  protein;  $4.70 \pm 0.39\%$  lactose;  $10.51 \pm 1.15\%$  total solids; and  $9.37 \pm 0.69\%$  Total solids. On the other hand, we verified for Pantaneiro breed, the mean values of  $1.29 \pm 0.93\%$  fat content ;  $4.23 \pm 1.37\%$  protein;  $4.07 \pm 0.89\%$  lactose;  $10.55 \pm 1.84\%$  total solids and  $9.26 \pm 1.03\%$  Total solids. The values determined for milk acidity were  $16.15 \pm 2.60$  ° D;  $15.56 \pm 2.65$  D; pH ( $6.78 \pm 0.24$ ,  $6.71 \pm 0.22$ ); and conductivity  $0.86\text{mS} \pm 4.70$  / cm,  $4.46 \pm 0.76\text{mS}$  / cm . Despite the absence of antimicrobial residues in milk of both breeds, bacteria of the genera Staphylococcus, Streptococcus, Corynebacterium, Bacillus, Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Yersinia, Shigella, Proteus, and Escherichia were identified in the milk by conventional bacterial isolation method . Based on these results, there was a low occurrence of mastitis in herds Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro, highlighting the greater involvement of environmental origin pathogens. Milk produced by these herds was similar to breeds of dairy aptitude regarding the chemical composition, and attended the prevailing standards of quality as milk somatic cell count. These results suggest that Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro breeds are important genetic resources to be kept with a potential for exploitation.

**Keywords:** somatic cell count, mastitis, milk quality, local breeds

## 1. Introdução

As raças bovinas Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro representam um importante recurso genético animal a ser conservado, devido ao impacto socioeconômico e suas potencialidades zootécnicas<sup>1-3</sup>. Estas raças locais brasileiras, embora apresentem índices de produção mais baixos do que as raças exóticas e sintéticas, destacam-se pela notável adaptação aos trópicos, onde foram submetidas a um longo processo de seleção natural que lhes permitiu adquirir as características de adaptação, resistência a doenças, parasitas e plantas tóxicas<sup>4-7</sup>.

Apesar da aptidão mista, os animais são pouco explorados quanto à produção de leite<sup>2,4,6</sup>, sendo oportuno avaliar nestas raças atributos como perfil produtivo, sanidade da

glândula mamária e qualidade do leite, a fim de caracterizar e avaliar o potencial das populações de bovinos locais, reconhecendo as relações entre características de produção e adaptação às diversas condições ambientais, muitas vezes menos favoráveis.

O leite é um dos alimentos mais completos, sendo uma importante fonte de proteínas, lipídeos, carboidratos, sais minerais e vitaminas. A caracterização da composição láctea auxilia na determinação de sua qualidade, por fornecer informações sobre a utilização de nutrientes e a saúde do animal, além de definir as diversas propriedades industriais<sup>8,9</sup>. Alterações na alimentação, manejo, genética além das características individuais, como o período de lactação, escore corporal, enfermidades ou situações de estresse são variantes capazes de influenciar na composição e no mecanismo de ejeção do leite, promovendo retenção na glândula mamária<sup>10-19</sup>.

A mastite também promove alterações significativas na composição e propriedades físico-químicas do leite<sup>20,21</sup>. O processo inflamatório decorrente da agressão do epitélio da glândula mamária por um agente infeccioso, químico, mecânico ou térmico, apresenta-se como a enfermidade de maior prevalência nos rebanhos leiteiros, sendo capaz de comprometer a qualidade do leite, impactar a saúde pública e causar sérios prejuízos econômicos<sup>22,23</sup>.

A mastite apresenta-se sob duas formas, a clínica, com a observação de alterações macroscópicas no leite e no úbere e sintomatologia sistêmica dos animais, como elevação da temperatura corporal, inapetência, desidratação, podendo resultar em óbito, nos casos mais severos e a forma subclínica, que se caracteriza pela diminuição da produção leiteira, sem que sejam observados sinais visíveis do processo inflamatório na glândula mamária ou no leite<sup>18,19</sup>.

A forma subclínica da doença é a mais frequente nos rebanhos leiteiros, onde além da redução na produção de leite e das alterações na sua composição, é caracterizada pelo aumento na contagem de células somáticas (CCS), que compreendem as células de descamação do epitélio alveolar, bem como células do sistema imune presentes na glândula mamária, constituindo um dos principais parâmetros para o diagnóstico de casos subclínicos no rebanho<sup>24-30</sup>.

Os principais agentes etiológicos envolvidos na mastite são classificados quanto à origem e modo de transmissão, como ambientais ou contagiosos. Os patógenos ambientais são descritos como microrganismos oportunistas, estando presentes principalmente na água, solo, fezes e ar, e os agentes mais comuns são os membros da família *Enterobacteriaceae* (como *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. e *Serratia* spp.), *Streptococcus uberis* e *Pseudomonas* spp.<sup>27,28</sup>.

O diagnóstico da mastite compreende o exame físico da glândula mamária e os testes complementares, além do isolamento e identificação dos microrganismos envolvidos.

Para a mastite clínica, destacam-se a inspeção visual dos tetos e do úbere e a observação das características macroscópicas do leite por meio do teste da caneca de telada, que permite a visualização de alterações macroscópicas como a presença de grumos, pus, coágulos, sangue e alterações na coloração normal do leite<sup>23,31-34</sup>.

A forma subclínica, por promover reações brandas na glândula mamária, muitas vezes imperceptíveis, e sem alterações macroscópicas, pode ser detectada por exames complementares baseados no conteúdo celular do leite como o *California mastitis test* (CMT) e pela contagem de células somáticas (CCS). Além disso, outras determinações como teores de cloretos e a eletrocondutividade no leite, podem auxiliar no diagnóstico de mastite, visto que diante do processo inflamatório na glândula mamária há aumento das concentrações de sódio, cloro e bicarbonato, em consequência da destruição do epitélio secretor e de alterações na permeabilidade vascular<sup>26,35-37</sup>.

Diante de tais considerações e escassez de informações sobre os aspectos produtivos das raças locais brasileiras, buscou-se com este estudo avaliar os parâmetros que envolvem a qualidade do leite de rebanhos bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, além de estabelecer o perfil sanitário da glândula mamária das fêmeas em lactação.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Descrição das propriedades e dos rebanhos**

#### **2.1.1. Curraleiro Pé-Duro**

No presente estudo foi acompanhado o rebanho bovino da raça Curraleiro Pé-Duro com aproximadamente 150 animais pertencentes à Fazenda Coqueiro, localizada no município de Cocalzinho, Estado de Goiás, que realiza atividades voltadas para melhoramento genético e piscicultura. O proprietário é membro da Associação de Bovinos Curraleiro Pé-Duro (ABCPD), realiza criação extensiva de bovinos Curraleiro Pé-Duro, e seu sistema produtivo está voltado às fases de cria e recria e venda de novilhos, acima de seis meses.

A propriedade conta com controle zootécnico e no manejo sanitário envolvendo as vacinações contra brucelose, febre aftosa, raiva, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), leptospirose e clostridioses, além da vermifugação do rebanho. Todos os animais têm acesso à mistura mineralizada, água e pasto nativo da região (capim gordura - *Melinis minutiflora*) *ad libitum*.

As fêmeas iniciam a parição aos 18 - 24 meses, pesando aproximadamente 300 kg. Apresentam úbere bem implantado, com tetos de comprimento reduzido. A parição se inicia no final de agosto, sendo o período de lactação estimado entre 170 e 210 dias.

Apesar da raça ser dócil, a ausência de manejo constante associada à existência de instalações rudimentares, dificultou o processo de colheita de amostras, não foi possível controlar, de modo eficiente, o número de animais amostrados a cada visita na propriedade.

Foram realizadas colheitas mensais no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2014, totalizando 13 visitas, o que permitiu o acompanhamento de 90 vacas em diferentes estágios de lactação, totalizando 226 amostras.

### 2.1.2. Pantaneiro

O rebanho bovino Pantaneiro avaliado, pertence ao Núcleo de Conservação *in situ* do bovino Pantaneiro, localizado na Fazenda Nhumirim, campo experimental da Embrapa-Pantanal, sub-região da Nhecolândia, Corumbá, MS, destinado a estudos envolvendo a pecuária tradicional da região. Além de buscar a conservação da raça bovina Pantaneiro, o Núcleo conta com a presença de aproximadamente 135 animais, sendo 62 fêmeas.

Nesta unidade são realizadas pesquisas que visam a caracterização dos animais sob o ponto de vista genético, produtivo, zootécnico e sanitário em três períodos de lactação a fim de garantir o melhor manejo dos animais, uma vez que permanecem em criação extensiva na Unidade Experimental, sendo reunidos para os manejos de vacinação, inseminação artificial, pesagem ou atividades ocasionais de pesquisa.

Os bovinos são criados em piquetes que possuem pastagem nativa, bebedouro com água *ad libitum*, recebem apenas mistura mineral não sendo suplementados nos períodos de escassez de alimento.

O rebanho está vinculado a diversos projetos de pesquisa, especialmente visando a reprodução assistida (inseminação artificial por tempo fixo e repasse). A estação de monta é realizada no período de dezembro a março e, depende condições de chuvas e pastagens. As novilhas são cobertas com aproximadamente 300 kg, sendo a idade média na primeira parição de 24 meses. Em geral, as fêmeas dão início à parição no mês de dezembro, sendo o período de lactação estimado de 150 a 240 dias.

Na Fazenda Experimental Nhumirim foram realizadas três visitas compreendendo os meses de novembro de 2013, janeiro e maio de 2014, durante as quais foram colhidas 107 amostras procedentes de 58 animais, em diferentes estágios da lactação (fase inicial, intermediária e final).

### 2.1.3. Amostragem

Em relação aos bovinos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro o número de amostras colhidas em cada visita variou, sendo que cada amostra representou uma fêmea diferente. O detalhamento da amostragem está descrito no quadro 1.

QUADRO 1 - Número de amostras colhidas por visita realizada nas propriedades de bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro ao longo do período de estudo

Curraleiro Pé-Duro		Pantaneiro	
Data da visita	Número de amostras	Data da visita	Número de amostras
Janeiro de 2013	14	Novembro de 2013	15
Fevereiro de 2013	16	Janeiro de 2014	48
Março de 2013	12	Maio de 2014	44
Abril de 2013	13		
Maio de 2013	12		
Junho de 2013	21		
Julho de 2013	13		
Agosto de 2013	11		
Setembro de 2013	19		
Outubro de 2013	23		
Novembro de 2013	24		
Dezembro de 2013	27		
Janeiro de 2014	21		
<b>Total</b>	<b>226</b>	<b>Total</b>	<b>107</b>

A amostragem por conveniência ocorreu em função do número de animais em lactação e do manejo realizado nas propriedades. O aumento na quantidade de amostras de leite colhidas do rebanho Curraleiro Pé-Duro foi resultado das melhorias nas instalações com a construção de brete para contenção dos animais, auxiliando nos procedimentos realizados neste estudo.

### 2.2. Colheita das amostras de leite

Todas as colheitas de amostras foram programadas com antecedência para auxiliar no manejo dos animais e separação de vacas e crias. As fêmeas que se encontravam no período colostrado não foram avaliadas.

Realizou-se ordenha manual no período da manhã, sem a presença de crias. O manejo dos animais foi individual em brete, na tentativa de minimizar o estresse e evitar acidentes. Após a contenção dos animais, procedeu-se o exame clínico da glândula mamária, por meio da palpação e observação de alterações nos tetos e no úbere. Em seguida, foram

realizados os testes de caneca telada e o *California mastitis test* (CMT) para detecção de quartos com mastite clínica ou subclínica.

No teste da caneca telada, desprezou-se os três primeiros jatos de leite no recipiente para deposição de leite, seguida da observação de possível presença de grumos, coágulos, pus, sangue ou leite aquoso. Posteriormente, foi realizado o *California mastitis test* (CMT)<sup>32</sup> em cada quarto mamário, por meio da colheita de pequenos volumes (2mL) de cada quarto mamário em uma raquete plástica (bandeja) e solução detergente (2mL). De acordo com a viscosidade formada entre o reagente e o leite, foram atribuídos escores que variaram de negativo (ausência de alteração do CMT), traços (leve formação de gel), +1 (fracamente positivo), +2 (reação positiva) e +3 (reação fortemente positiva). Foram classificados como resultados positivos ao teste de CMT quaisquer graus de viscosidade observados após a mistura de leite com a solução detergente, conforme preconizado por Schalm et al.<sup>33</sup>.

Após a realização dos testes da caneca telada e CMT, foram colhidas amostras de leite, procedendo a antissepsia dos orifícios dos tetos com algodão embebido em álcool 70% iodado<sup>34</sup>. A alíquota inicial destinada ao exame microbiológico foi obtida por meio de um *pool* dos tetos, sendo colhida em frasco esterilizado e sem conservantes perfazendo um total de 40 mL em cada frasco. Em seguida, foi realizada a ordenha completa dos animais, sendo o leite armazenado em baldes revestidos de plástico esterilizado. Após a ordenha, procedeu-se a homogeneização do leite e a separação de várias alíquotas de cada amostra, em frascos esterilizados e sem conservantes, para as análises físico-químicas e pesquisa de resíduos de antimicrobianos perfazendo um total de 40 mL em cada frasco.

Para obtenção do leite destinado à contagem de células somáticas e composição centesimal, foram utilizados frascos plásticos contendo pastilhas conservantes de bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol) totalizando aproximadamente 40 mL de leite.

Todas as amostras foram devidamente identificadas (animal) e acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável onde permaneceram até a chegada ao Laboratório Multiusuário de Microbiologia do Centro de Pesquisa de Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

Em função dos resultados obtidos no início do experimento, optou-se pela aplicação de 0,5mL de ocitocina exógena (10 U.I. de ocitocina sintética) por via intravenosa, na veia abdominal externa, momentos antes da ordenha, nas duas últimas colheitas (meses de dezembro de 2013 e janeiro de 2014), a fim de avaliar a ocorrência de leite residual na glândula mamária e a influência da retenção láctea na composição láctea no rebanho Curraleiro Pé-Duro. Este procedimento não foi realizado no rebanho de bovinos Pantaneiro, em decorrência de uma

possível interferência nos projetos paralelos em andamento na unidade experimental da Embrapa Pantanal.

Os procedimentos realizados durante o manejo dos bovinos e as colheitas das amostras atenderam as normas éticas e princípios de bem-estar animal preconizados pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

### 2.3. Análises de composição centesimal e contagem celular somática do leite

As análises foram realizadas no Laboratório de Qualidade do Leite (LQL) da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás (EVZ-UFG). Após a recepção em laboratório, as amostras foram inicialmente aquecidas em banho-maria a temperatura de 40°C, por 15 minutos. Para a análise da CCS, foi utilizado o equipamento Fossomatic 500 Basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo, com a expressão dos resultados em células/mL.

A composição centesimal foi determinada utilizando o Milkoscan 4000 (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark), cujo princípio analítico baseia-se na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos componentes do leite determinando os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite cru.

### 2.4. Análises de acidez titulável, pH e eletrocondutividade

Os parâmetros físico-químicos avaliados foram acidez titulável em graus Dornic, determinação do pH, segundo metodologia convencional recomendada pelo MAPA por meio da Instrução Normativa n. 68<sup>35</sup>.

O teste de acidez pelo método Dornic baseia-se na determinação quantitativa da acidez no leite, por meio de uma reação de neutralização, mediante a utilização do reagente de Dornic e o indicador fenolftaleína, sendo o resultado expresso em graus Dornic (°D).

A concentração hidrogeniônica na secreção láctea foi determinada utilizando-se um medidor de pH portátil (modelo 205 - marca Testo™), calibrado para a temperatura ambiente e em soluções com pH 4,7 e 10.

Os valores de eletrocondutividade foram determinados pelo condutivímetro (Thermo Scientific™ Orion Star A112). Os valores aferidos correspondem a corrente elétrica

conduzida no leite devido à presença de íons, como cloro, sódio e potássio sendo os resultados expressos em mS/cm (miliSiemens por cm)<sup>36</sup>.

## 2.5. Detecção dos microrganismos envolvidos na mastite bovina

As amostras de leite foram submetidas à cultura bacteriológica pela metodologia convencional, de acordo com o *National Mastitis Council- Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection and Determination of Milk Quality*<sup>37</sup>, com modificações.

Inicialmente, as amostras foram semeadas em placas de ágar sangue desfibrinado de ovino a 5% e ágar MacConkey e incubadas a  $37\pm 1^\circ\text{C}/48\text{h}$  em ambiente de aerobiose. Após o isolamento e purificação das unidades formadoras de colônias em ágar nutriente, os microrganismos isolados a partir do ágar sangue e do ágar MacConkey foram avaliados quanto às características morfológicas, culturais e bioquímicas para identificação dos gêneros bacterianos.

Os isolados foram avaliados pelo perfil de hemólise, morfologia, sendo submetidos ao teste de coloração de Gram e teste de KOH a 3%. Em seguida, as unidades formadoras de colônias caracterizadas como cocos Gram-positivos, foram submetidas a provas de catalase, oxidase e coagulase em tubos.

Para os microrganismos Gram-negativos, o ensaio analítico empregado baseou-se na inoculação em ágar triplice açúcar ferro (TSI), para se avaliar o comportamento em relação aos açúcares glicose, lactose e sacarose. Após incubação a  $37 \pm 1^\circ\text{C}/18$  a  $24\text{h}$ , procedeu-se a leitura dos testes e a realização de provas bioquímicas como produção de urease, indol, sulfeto de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{S}$ ) (Meio SIM), acetoina (caldo VM/VP), utilização de citrato de *Simmons*, malonato e lisina descarboxilase e motibilidade<sup>38</sup>.

## 2.6. Pesquisa de resíduos de antimicrobianos

As amostras de leite foram avaliadas pelo teste comercial Delvotest<sup>®</sup> SP-NT, compostos por ampolas plásticas, contendo o meio de cultura sólido, esporos do microrganismo *Bacillus stearothermophilus* variedade *calidolactis*, e pipetas descartáveis reguladas para 0,1mL.

O protocolo do teste comercial segundo instruções do fabricante recomenda a homogeneização da amostra, inoculação de 0,1 mL de leite na ampola, incubação sob temperatura de  $64\pm 0,5^\circ\text{C}$  por até 3 horas e leitura dos resultados<sup>39</sup>.

Em cada ensaio foram inoculados dois controles: negativo (obtido por leite cru proveniente das vacas da Fazenda Escola da EVZ/UFG que não estavam sob antibioticoterapia) e o controle positivo (amostra de leite cru com presença de antimicrobiano).

A interpretação dos resultados baseou-se na alteração do pH e da cor do indicador púrpura de bromocresol, considerando-se resultado positivo a ausência de alteração da coloração do meio de cultura (cor púrpura) e negativo, indicativo de alteração total da cor púrpura para amarelo, isto é, a amostra estava livre de inibidores (resíduos de antibióticos) e o *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* pode se multiplicar causando acidificação da amostra.

## 2.7. Análise estatística

Os dados foram analisados utilizando a estatística descritiva e representações gráficas. A análise de variância (ANOVA) com dois fatores fixos foi utilizada para avaliar as modificações dos componentes e propriedades físico-químicas do leite em relação a CCS, seguida do teste *post-hoc* HSD de Tukey para a identificação das diferenças específicas nas variáveis em questão seguindo o critério de significância estatística estabelecido ( $p < 0,05$ ).

Os programas utilizados para a realização das análises estatísticas foram SPSS-version 19.0 e software R (2009).

## 3. Resultados e discussão

### 3.1. Sanidade da glândula mamária

Os resultados referentes à realização dos testes da caneca telada e CMT nos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro ao longo do estudo estão descritos na Tabela 1.

Em relação ao teste da caneca telada, observou-se a presença de grumos no leite dos quatro quartos mamários de um animal da raça Curraleiro Pé-Duro, sendo atribuído ao grupo racial um caso de mastite clínica.

Frente ao número de animais avaliados, a ocorrência de apenas um caso de mastite clínica pode ter relação com a ausência de exploração leiteira dos animais, reduzindo a possibilidade de transmissão de patógenos durante a ordenha, a presença constante do animal com a cria, bem como o mecanismo de defesa dos animais frente à invasão de patógenos na glândula mamária, fato este ligado à rusticidade e adaptabilidade das raças naturalizadas<sup>40,41</sup>.

TABELA 1 – Distribuição nas raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro das frequências absoluta e relativa aos testes da caneca telada e do *California mastitis test* (CMT) realizados nos quartos mamários

Raças	Caneca telada		<i>California mastitis test</i> (CMT)					Nº Tetos Perdidos		
	Sem alterações	Com grumos	0	T	+1	+2	+3	1	2	3
Curraleiro	877	4	585	122	93	66	15	18	2	3
Pé-Duro	(99,5%)	(0,5%)	(66,4%)	(13,8%)	(10,6%)	(7,5%)	(1,7%)			
Pantaneiros	415	0	252	64	79	16	4	6	2	5
	(100%)		(60,7%)	(15,4%)	(19%)	(3,9%)	(1,0%)			
<b>Total</b>	1.292	4	837	186	172	82	19	24	4	8

Quanto à realização do *California mastitis test* (CMT), observou-se que 66,4% dos animais da raça Curraleiro Pé-Duro e 60,7% dos Pantaneiros, não apresentaram alteração ao teste, enquanto 33,6% dos quartos mamários reagentes ao teste de CMT em animais da raça Curraleiro Pé-Duro e 39,3% de quartos reagentes para a raça Pantaneiro, indicando ocorrência de casos de mastite em diferentes graus.

Considerando a alteração ao teste CMT, observaram-se percentuais de 13,8% e 15,4% dos quartos mamários com discreto aumento na viscosidade durante a realização do CMT, porém sem a tendência à formação de gel, sendo atribuído a estas amostras um escore de traços. Neste estudo poucas fêmeas Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro apresentaram escores CMT +1, +2 e +3, sendo o que percentual das fêmeas foi decrescente, de acordo com a gravidade do processo, indicando poucos casos de mastite nos rebanhos.

A baixa ocorrência de casos de mastite subclínica observados neste estudo pode estar relacionada às características de rusticidade e resistência dos animais em associação à reduzida intervenção no manejo dos animais quanto à exploração leiteira.

O teste da caneca telada e o *California mastitis test* apresentaram-se como ferramentas rápidas, de baixo custo, trazendo resultados importantes para a observação da sanidade da glândula mamária em campo. Apesar de pouco exploradas nas propriedades, estas ferramentas simples podem resguardar a sanidade dos rebanhos, atuando como recursos rápidos ao monitoramento diário.

Os resultados obtidos na contagem de células somáticas das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro estão indicados na Tabela 2.

TABELA 2 - Resultados da contagem de células somáticas do leite, em intervalos de classe, para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro

<b>Raça Curraleiro Pé-Duro</b>							
<b>Intervalo CCS (cél/s/mL)</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
≤200.000							
Total indicativo sem mastite	177	78,3	39.514	22.000	47.098	1.000	199.000
201.000-500.000	24	10,6	314.417	273.500	109.642	202.000	477.000
501.000-750.000	7	3,1	650.571	660.000	78.219	508.000	739.000
751.000-1.000.000	6	2,7	888.500	885.500	67.802	787.000	965.000
>1.000.000	12	5,3	2.497.000	2.326.500	1.295.213	1.033.000	4.399.000
Total indicativo de mastite	49	21,7	967.245	609.000	1.097.715	202.000	4.399.000
<b>Raça Pantaneiro</b>							
<b>Intervalo CCS (cél/s/mL)</b>	<b>N</b>	<b>%</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio Padrão</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
≤200.000							
Total indicativo sem mastite	73	68,2	37.384	12.000	51.385	1.000	198.000
201.000-500.000	14	13,1	317.000	311.500	87.308	210.000	464.000
501.000-750.000	6	5,6	641.000	661.500	63.400	550.000	717.000
751.000-1.000.000	7	6,5	855.286	868.000	70.360	762.000	973.000
>1.000.000	7	6,5	2.852.857	3.218.000	1.011.139	1.300.000	3.855.000
Total indicativo de mastite	34	31,8	1.007.088	661.500	1.069.748	210.000	3.855.000

Da análise dos dados contidos na Tabela 2 observou-se que 78,3% e 68,2% das amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, respectivamente, apresentaram valores de CCS abaixo de 200.000 céls/mL, estando de acordo com os padrões definidos de 200.000 céls/mL para sanidade da glândula mamária<sup>42,43,44</sup>.

Como o limite de 200.000 céls/mL é o mais preconizado para o monitoramento de mastite nos rebanhos leiteiros e os valores superiores indicam a ocorrência de processo inflamatório da glândula mamária, a presença de menores percentuais de amostras de leite, de ambas as raças, nos intervalos de CCS >200.000 céls/mL a >1.000.000 céls/mL, sugerem a baixa ocorrência da mastite nestes rebanhos, em comparação com rebanhos leiteiros especializados.

Verificou-se que 78,3% e 68,2% das amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, respectivamente, apresentaram CCS abaixo de 200.000 céls/mL (Tabela 2) indicando glândula mamária saudável e excelente qualidade do leite na maioria das amostras avaliadas. Estes resultados apresentam forte relação com as características que envolvem a rusticidade e resistência destas raças, entretanto, podem estar também associados à baixa

produtividade e ausência de exploração leiteira, visto que a mastite atinge com maior frequência animais de alta produtividade<sup>46</sup>, pela maior exposição aos agentes ambientais e infecciosos.

Considerando as características de rusticidade e resistência dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, principalmente à menor qualidade da nutrição, fatores climáticos, algumas enfermidades, parasitas e plantas tóxicas<sup>4,40,47,48,49</sup> e ausência de informações sobre a qualidade do leite produzido, julga-se interessante o contraste dos resultados obtidos neste estudo com relatos de Jorge et al.<sup>50</sup> que ao avaliarem a CCS e a qualidade do leite de búfalas Murrah no estado de São Paulo encontraram valores médios para a CCS de 63.380 céls/mL para animais sadios, enquanto Céron-Munoz et al.<sup>51</sup> observaram média de 79.000 céls/mL.

A CCS das fêmeas sadias das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro foram ainda menores que as relatadas para as búfalas, que são reconhecidamente menos suscetíveis à mastite que as vacas por apresentarem mecanismos de defesa do sistema imune diferenciados como a musculatura mais potente no ducto papilar dos tetos, bem como, a maior quantidade de fibras musculares e vasos sanguíneos que atuam como barreira mais efetiva na proteção da glândula mamária desta espécie. Além disso, a maior concentração da lactoferrina no leite, contribui para a menor incidência de mastite nestes animais<sup>52</sup>. Ciente destas informações, Medeiros et al.<sup>52</sup> sugeriram uma alteração no padrão de CCS para amostras de leite bubalino, considerando que apenas valores acima de 280.000 céls/mL seriam indicativo de mastite. Portanto, quando a quantidade de informações sobre essas raças locais brasileiras for consistente, valores específicos de CCS podem ser necessários para melhor caracterizar a sanidade da glândula mamária desses bovinos.

Além do fator genético, elementos como anatomia do úbere e dos tetos podem influenciar significativamente a resistência a mastite, causando impacto na CCS. Neste estudo foi avaliado que os animais de ambas as raças apresentaram úbere bem implantado e tetos curtos, o que pode ser associado à redução de casos de mastite, como relatado por Coban et al.<sup>53</sup> e Porcionato et al.<sup>54</sup>, e ainda ser um dos mecanismos associados à rusticidade e à resistência das raças locais brasileiras. Apesar desta relação positiva, não se descarta a utilização de manejo adequado e ordenha higiênica a fim de garantir tanto a sanidade da glândula mamária quanto a qualidade do leite, conforme preconizado por Okano et al.<sup>55</sup> que além de evidenciarem que as características anatômicas do úbere e tetos são consideradas fatores de risco para a ocorrência de mastite, verificaram que os critérios envolvendo higiene na ordenha e manejo dos animais são importantes barreiras aos agentes patogênicos.

Os percentuais de mastite para os animais das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro que apresentaram CCS acima de 200.000 céls/mL foram de, respectivamente, 21,7% e 31,8%

(Tabela 2). Apesar da CCS apresentar maior correlação com a ocorrência de mastite nos rebanhos, Viana<sup>56</sup>, Barbosa et al.<sup>57</sup> e Raimondo et al.<sup>58</sup> ressaltaram ainda que fatores como raça, idade, período de lactação, número de parições, nutrição, bem como clima e ambiente também podem influenciar na determinação deste parâmetro. Como neste estudo não foi possível avaliar esses fatores, sua relevância não pode ser adequadamente estabelecida.

Considerando que as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro são mais tolerantes às condições edafoclimáticas das regiões onde vivem<sup>41</sup>, acredita-se que a idade dos animais acompanhados neste estudo (variação de 3 a 15 anos), os diferentes estágios de lactação e número de parições, bem como a mastite possam ter influenciado na CCS presente nas amostras de leite. Esta observação encontra respaldo nas informações de Ladeira<sup>59</sup> e Cunha et al.<sup>60</sup> que sugerem maior suscetibilidade de fêmeas múltiparas à mastite em decorrência do maior número de parições e, conseqüentemente, do maior desgaste às células epiteliais e lesões no esfíncter dos tetos.

Admitindo que nos rebanhos avaliados neste estudo a elevação da CCS tenha ocorrido exclusivamente em decorrência de mastite, observou-se uma menor proporção de amostras com  $CCS > 200.000$  céls/mL quando comparadas aos rebanhos especializados, onde a mastite continua sendo a enfermidade mais frequente<sup>61-64</sup>.

Relativamente à qualidade do leite, confrontando os resultados obtidos neste estudo com os valores estabelecidos pela Instrução Normativa n° 62, observou-se que percentuais de 88,9% e 81,3% das amostras oriundas dos rebanhos da raça Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, respectivamente, estão em conformidade com o preconizado no Brasil<sup>45</sup>, que estabelece valor máximo de 500 mil céls/mL no leite<sup>45</sup>.

Diante da escassez de informações sobre a produtividade, composição e qualidade dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, os resultados obtidos neste estudo contribuem para o reconhecimento dos aspectos diferenciais que estes animais apresentam em relação aos demais rebanhos bovinos, visto o processo de adaptação das raças frente as adversidades ambientais, nutricionais e enfermidades à que estiveram submetidos ao longo dos anos. Apesar do pequeno porte e dos baixos índices de produtividade, estas raças que ainda não foram submetidas à programas de seleção genética e que, na maioria das vezes, não recebem alimentação adequada, conseguem manter a atividade reprodutiva e garantir a alimentação das crias, mesmo em condições adversas. Além disso, a produção de leite destas raças atua como item fundamental para subsistência de muitas famílias no meio rural<sup>65,66</sup>.

## 3.2. Componentes físico-químicos do leite

Os resultados referentes à composição centesimal do leite das fêmeas da raça Curraleiro Pé-Duro podem ser observados na Tabela 3.

TABELA 3 - Resultados da composição do leite em relação à CCS e à aplicação de ocitocina exógena para a raça Curraleiro Pé-Duro

Variáveis (%)	Ocitocina	CCS	N	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Gordura	não	≤200.000	159	1,14 <sup>bb</sup>	1,02	0,80	0,16	7,69
	não	>200.000	44	1,58 <sup>ab</sup>	1,30	1,18	0,33	5,36
	sim	≤200.000	18	3,26 <sup>aA</sup>	3,27	1,27	1,37	5,21
	sim	>200.000	5	3,45 <sup>aA</sup>	4,06	1,17	1,96	4,46
Proteína	não	≤200.000	159	3,74	3,74	0,57	2,31	5,49
	não	>200.000	44	3,62	3,56	0,46	2,39	4,69
	sim	≤200.000	18	3,75	3,69	0,34	3,13	4,37
	sim	>200.000	5	3,58	3,58	0,25	3,26	3,91
Lactose	não	≤200.000	159	4,70 <sup>a</sup>	4,80	0,39	2,81	5,49
	não	>200.000	44	4,20 <sup>b</sup>	4,25	0,51	3,08	5,03
	sim	≤200.000	18	4,71 <sup>a</sup>	4,69	0,15	4,39	4,94
	sim	>200.000	5	4,34 <sup>b</sup>	4,32	0,28	4,03	4,73
EST	não	≤200.000	159	10,51 <sup>ab</sup>	10,51	1,15	7,86	18,17
	não	>200.000	44	10,29 <sup>ab</sup>	10,38	1,65	7,39	15,24
	sim	≤200.000	18	12,72 <sup>aA</sup>	12,65	1,34	10,83	15,23
	sim	>200.000	5	12,37 <sup>aA</sup>	12,37	0,95	11,09	13,34
ESD	não	≤200.000	159	9,37 <sup>a</sup>	9,44	0,69	7,07	11,00
	não	>200.000	44	8,71 <sup>b</sup>	8,87	0,81	7,03	10,09
	sim	≤200.000	18	9,46 <sup>a</sup>	9,45	0,32	8,76	10,02
	sim	>200.000	5	8,92 <sup>b</sup>	8,88	0,41	8,31	9,41

Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Para o efeito mastite a diferença das médias está mostrada pelas letras minúsculas diferentes nas colunas e para o efeito ocitocina pelas letras maiúsculas.

Os resultados referentes à composição centesimal do leite das fêmeas da raça Pantaneiro podem ser observados na Tabela 4.

TABELA 4 – Resultados da composição do leite em relação à CCS para a raça Pantaneiro

Variáveis (%)	CCS	N	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Gordura	≤200.000	73	1,29 <sup>b</sup>	1,08	0,93	0,18	5,64
	>200.000	34	1,61 <sup>a</sup>	1,13	1,54	0,27	8,30
Proteína	≤200.000	73	4,23	3,66	1,37	2,75	8,97
	>200.000	34	4,57	4,26	1,38	2,88	8,76
Lactose	≤200.000	73	4,07 <sup>a</sup>	4,15	0,89	2,29	5,43
	>200.000	34	3,30 <sup>b</sup>	3,36	0,82	1,72	4,99
EST	≤200.000	73	10,55	10,31	1,84	6,39	18,77
	>200.000	34	10,44	9,80	2,35	7,75	21,03
ESD	≤200.000	73	9,26 <sup>a</sup>	9,23	1,03	6,21	13,13
	>200.000	34	8,83 <sup>b</sup>	8,57	1,01	7,40	12,73

Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem-se pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

Os valores de gordura encontrados para as duas raças foram reduzidos quando comparados com outras raças bovinas e estavam abaixo dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa n. 62<sup>45</sup>, que determina um teor mínimo de 3% para gordura no leite. Considerando que nenhum outro parâmetro avaliado teve esse comportamento, ficou claro que fator diferente do racial estava interferindo nesse resultado.

Já está bem descrito na literatura que a ausência de ordenha diária promove a ocorrência ordenha incompleta e consequente presença de leite residual na glândula mamária, levando a redução no teor de gordura nas frações coletadas, visto as propriedades físico-químicas do componente e a irregularidade na distribuição das gotículas de gordura na glândula mamária<sup>64-66</sup>.

Diante desta constatação, a hipótese da redução de gordura ter sido resultado do leite residual foi testado e, nas duas últimas colheitas, no rebanho Curraleiro Pé-Duro fez-se a aplicação de ocitocina previamente a ordenha. Esse fármaco estimula a ejeção do leite em decorrência do estímulo da contração das células mioepiteliais que envolvem os alvéolos e ductos do úbere, levando ao deslocamento do leite armazenado para a cisterna da glândula<sup>68,69</sup>.

Depois da aplicação da ocitocina nas fêmeas Curraleiro Pé-Duro observou-se um aumento no teor de gordura no leite da ordem de 2,86, ou seja, a porcentagem média de gordura das amostras passou de 1,14% para 3,26%; adequando-se aos limites determinados pela legislação vigente<sup>45</sup>.

Os resultados do teor de gordura após a aplicação de ocitocina foram ligeiramente inferiores aos relatados por Insa<sup>67</sup> e Borburema et al.<sup>68</sup>, avaliando a composição do leite de vacas Curraleiro Pé-Duro de rebanhos localizados no Nordeste Brasileiro, que encontraram percentuais para o teor de gordura de 4,3% e 3,5% em fêmeas submetidas a manejo rotineiro de ordenha.

A avaliação conjunta desses resultados permite inferir que o leite das fêmeas dos bovinos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro dos rebanhos aqui avaliados apresentam redução relativa e não absoluta do teor de gordura, em decorrência do fato de não serem submetidas à rotina de ordenha gerando consequentemente ordenha incompleta e leite residual na glândula mamária. Essa constatação é corroborada pelo relato de Dymnicki, Sosin-Bzducha e Golebiewski<sup>69</sup> que ao avaliarem a produção e a composição do leite de uma raça local polonesa, não explorada para a produção leiteira, observaram inicialmente baixa produtividade de leite e também baixo teor de gordura (0,47% a 0,58%) no leite, mas após a administração de ocitocina,

ocorreu aumento significativo na produção e principalmente no teor de gordura, que chegou a 4,14% na primeira avaliação e entre 3,39% a 3,86% no decorrer da lactação.

A mastite foi outro fator que interferiu no teor de gordura do leite, uma vez que o aumento da CCS no leite de ambas as raças avaliadas foi acompanhado por elevação do teor de gordura, provavelmente em função de alterações decorrentes da mastite no processo de síntese e secreção de componentes lácteos e consequente redução no volume de leite produzido, ou seja, o aumento da gordura não é absoluto. Resultado semelhante foi encontrado por Cunha et al.<sup>60</sup> que observaram correlação positiva entre a CCS e a porcentagem de gordura no leite de animais da raça Holandesa, encontrando valores percentuais de 3,46% a 3,61% mediante a elevação de CCS de <math><100.000\text{ céls/mL}</math> a <math>>3.000.000\text{ céls/mL}</math>.

Da mesma forma, observou-se similaridade entre os resultados encontrados neste estudo e as observações de Guo et al.<sup>70</sup>, que relataram aumentos relativos ao teor de gordura no leite de um rebanho local na China (3,64% a 3,91%) mediante a verificação de intervalos crescentes de CCS (<math>\leq 200.000\text{ céls/mL}</math> a <math>\geq 1.000.000\text{ céls/mL}</math>).

A ausência de diferença significativa na CCS mais elevada (mastite) quanto ao teor de gordura do leite das fêmeas Curraleiro Pé-Duro sob ação da ocitocina exógena, provavelmente foi decorrente da liberação do leite residual presente na glândula mamária e consequentemente maior liberação do componente lipídico no leite, não sendo perceptível alteração em decorrência da mastite, bem como em relação à intensidade variável no processo inflamatório na glândula mamária, se assemelhando às observações de Bueno et al.<sup>31</sup>, Mazal et al.<sup>71</sup>, Vianna et al.<sup>72</sup> e Cinar et al.<sup>73</sup> que observaram relação nula entre a CCS e o teor de gordura no leite.

O teor de proteínas do leite das raças avaliadas neste estudo (3,58±3,26% a 3,75 ± 3,13% - Curraleiro Pé-Duro; 4,23 ± 1,37 a 4,57 ± 1,38% - Pantaneiro) esteve superior ao limite estabelecido por Brasil<sup>45</sup>, que determina valores mínimos de 2,9% para o componente proteico e mais elevado que os valores estabelecidos por Bansal et al.<sup>74</sup> de 2,80 ± 0,37% a 3,00 ± 0,47% para rebanhos bovinos de raças locais na Alemanha e Reis et al.<sup>75</sup> para rebanhos da raça Gir que relataram valores de 3,30% a 3,65% para o teor de proteínas no leite.

A avaliação do teor de proteína no leite não apresentou diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre as CCS, bem como em relação à aplicação ou não de ocitocina exógena<sup>68,69</sup>. A elevação da CCS no leite pode refletir a ocorrência de mastite nos rebanhos, de modo que processo inflamatório na glândula mamária pode ser responsável por alterações na concentração dos componentes protéicos lácteos<sup>78,79</sup>, o que não ocorreu neste estudo. Gigante et al.<sup>78</sup> e Litwinczuk et al.<sup>79</sup> afirmaram que apesar da mastite promover a redução na síntese de proteínas,

a alteração da permeabilidade do epitélio vascular permite maior fluxo de elementos de origem sanguínea para o leite, incluindo a albumina e imunoglobulinas, justificando a estabilidade na concentração proteica total do leite em ambas as raças, nos casos de elevação da CCS.

Cunha et al.<sup>60</sup> e Reis et al.<sup>75</sup> obtiveram resultados diferentes do observados neste estudo pois relataram aumento no teor de proteínas no leite de bovinos da raça Holandesa (3,07% na glândula mamária sadia e 3,26% mastite) e Gir (3,05% na glândula mamária sadia e 3,60% mastite) acompanhado de elevação CCS, sendo as variações observadas atribuídas ao aumento na permeabilidade vascular e migração de células de origem sanguínea.

Neste estudo a aplicação da ocitocina exógena não promoveu alterações no percentual proteico do leite. Dymnicki, Sosin-Bzducha e Golebiewski<sup>69</sup> também não observaram alterações na composição proteica do leite com utilização da ocitocina exógena. Lolliver et al.<sup>68</sup> e Linhares<sup>69</sup> que também não constataram alterações no teor de proteína no leite residual, sugeriram que estes componentes sejam mais influenciados pela nutrição, fases de lactação e idade. Ainda, observaram-se semelhanças entre os resultados deste estudo e o relato de Rosenfeld<sup>67</sup> que ao analisar as características físico-químicas do leite sob retenção em proporções de 10%, 15% e 20% do total, observou redução significativa dos teores de gordura, mas não relatou a influência da retenção láctea sobre os demais componentes.

O teor de lactose nas amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro apresentaram valores de  $4,20 \pm 3,08\%$  a  $4,71 \pm 4,39\%$  e  $3,30 \pm 0,82\%$  a  $4,07 \pm 0,89\%$ , respectivamente. Quanto a variação deste componente no leite da raça Curraleiro Pé-Duro, não foram evidenciadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) no componente lácteo em consequência da aplicação da ocitocina exógena nos animais, concordando com relatos de Rosenfeld<sup>67</sup>, Lolliver et al.<sup>68</sup> e Linhares<sup>69</sup> que não indicaram alterações na concentração de lactose no leite de animais sob influencia de ocitocina exógena.

Constatou-se neste estudo, redução significativa ( $p < 0,05$ ) no teor de lactose nas amostras do leite das fêmeas das duas raças avaliadas com alta CCS ( $>200.000$  céls/mL), provavelmente resultado das alterações na capacidade de síntese e secreção dos componentes lácteos na glândula mamária durante a mastite, além da ação enzimática e microbiana sobre os elementos presentes no interior da glândula mamária<sup>80,81</sup>. Resultados semelhantes foram obtidos por Rajcevi et al.<sup>82</sup>, Bansal et al.<sup>74</sup>, Ventura et al.<sup>83</sup> e Reis et al.<sup>75</sup> ao avaliarem diferentes raças e rebanhos bovinos, detectando também correlação negativa entre a CCS e o percentual de lactose no leite.

Os sólidos totais compreendem o conteúdo de lipídeos, lactose, proteínas, além de frações nitrogenadas, açúcares e cinzas do leite. Neste estudo os valores percentuais de extrato

seco total (EST) foram para a raça Curraleiro Pé-Duro de  $10,29 \pm 1,65\%$  a  $12,72 \pm 1,34\%$  e para os Pantaneiros de  $10,44 \pm 2,35\%$  a  $10,55 \pm 1,84\%$ . Estes valores, apesar de acompanharem as variações observadas para os componentes a ele relacionado, em virtude da elevação de CCS, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. No entanto, o EST das amostras de leite dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro sob ação da ocitocina, apresentou elevação na concentração dos sólidos, provavelmente em decorrência do aumento do teor de lipídeos no leite.

O parâmetro extrato seco desengordurado (ESD) corresponde aos teores de proteína, lactose e minerais no leite, sendo observado neste estudo valores entre  $8,71 \pm 0,81\%$  a  $9,46 \pm 0,32$  para a raça Curraleiro Pé-Duro e de  $8,83 \pm 1,01\%$  a  $9,26 \pm 1,03\%$  para o Pantaneiro. Estes resultados estão em conformidade aos requisitos mínimos de 8,4% para o teor de sólidos desengordurados no leite exigidos no Brasil<sup>45</sup>. Neste estudo, o leite das fêmeas com mastite, das duas raças, apresentou valores significativamente inferiores ( $p < 0,05$ ) para o ESD, independentemente da aplicação da ocitocina exógena. Resultados semelhantes foram descritos por Reis et al.<sup>75</sup> que relataram valores de 9,20% para quartos mamários sadios e 9,06% para quartos mamários infectados.

Os resultados referentes à avaliação das propriedades físico-químicas do leite dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro estão descritos nas Tabelas 5 e 6.

TABELA 5 - Parâmetros físico-químicos do leite de acordo em relação à CCS e à aplicação de ocitocina para a raça Curraleiro Pé-Duro

Parâmetros Físico-Químicos	Ocitocina	CCS	N	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Acidez (°D)	não	≤200.000	159	16,15 <sup>a</sup>	17,00	2,60	7,00	22,00
	não	>200.000	44	14,33 <sup>b</sup>	15,00	3,76	8,00	22,00
	sim	≤200.000	18	16,83 <sup>a</sup>	17,00	1,47	15,00	20,00
	sim	>200.000	5	14,40 <sup>b</sup>	13,00	3,44	11,00	19,00
pH	não	≤200.000	159	6,78 <sup>b</sup>	6,76	0,24	6,30	8,83
	não	>200.000	44	6,91 <sup>a</sup>	6,84	0,25	6,50	7,80
	sim	≤200.000	18	6,71 <sup>b</sup>	6,72	0,07	6,62	6,83
	sim	>200.000	5	6,86 <sup>a</sup>	6,89	0,11	6,73	6,99
Condutividade (mS/cm)	não	≤200.000	159	4,70 <sup>bB</sup>	4,65	0,86	2,22	8,06
	não	>200.000	44	5,27 <sup>aB</sup>	4,99	1,08	3,14	7,99
	sim	≤200.000	18	4,06 <sup>bA</sup>	4,02	0,60	2,78	5,38
	sim	>200.000	5	4,84 <sup>aA</sup>	4,98	0,47	4,12	5,35

Teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Para o efeito mastite a diferença das médias está mostrada pelas letras minúsculas diferentes nas colunas e para o efeito ocitocina pelas letras maiúsculas.

TABELA 6 - Parâmetros físico-químicos em relação à CCS do leite das fêmeas da raça Pantaneiro

Parâmetros Físico-Químicos	CCS (cél/s/mL)	N	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Acidez (°D)	≤200.000	73	15,56 <sup>a</sup>	15,00	2,65	7,00	20,00
	>200.000	34	14,85 <sup>b</sup>	13,50	2,87	5,00	18,00
pH	≤200.000	73	6,71 <sup>b</sup>	6,63	0,22	6,26	7,30
	>200.000	34	6,83 <sup>a</sup>	6,87	0,27	6,36	7,55
Condutividade (mS/cm)	≤200.000	73	4,46 <sup>b</sup>	4,24	0,76	3,05	6,72
	>200.000	34	5,20 <sup>a</sup>	4,93	1,33	3,40	8,89

\*Médias seguidas de letras diferentes nas colunas diferem-se pelo Teste de Tukey ( $p < 0,05$ )

A avaliação da acidez titulável em amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro (Tabelas 5 e 6) esteve de acordo com os padrões exigidos no Brasil<sup>45</sup>, que estabelece valores entre 14 e 18°D. Quanto à aplicação de ocitocina, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) nos valores de acidez titulável no leite de ambas as raças, enquanto, a ocorrência de mastite promoveu a redução nos valores de acidez titulável nas raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, a partir da elevação da CCS ( $\leq 200.000$  células/mL). Estes resultados corroboram os relatos de Hamid et al.<sup>84</sup> e Yarabbi et al.<sup>85</sup>, que observaram redução nos valores da acidez titulável no leite, provavelmente em decorrência do transporte de componentes de caráter alcalino do sangue para o leite, durante o processo inflamatório na glândula mamária.

Os valores de pH observados no leite de fêmeas Curraleiro Pé-Duro variaram de  $6,71 \pm 0,07$  a  $6,91 \pm 0,25$  enquanto que para a raça Pantaneiro estiveram entre  $6,71 \pm 0,22$  e  $6,83 \pm 0,27$ . Cientes de que o padrão recomendado para o pH no leite em indivíduos sadios varia de 6,4 a 6,8<sup>86</sup>, observou-se neste estudo valores acima do limite estabelecido, sugerindo a ocorrência de mastite em ambas as raças. Estas observações corroboram os relatos de Ahmad et al.<sup>87</sup> que observaram valores de  $6,58 \pm 0,03$  para indivíduos sadios e pH de até  $7,07 \pm 0,01$  em fêmeas com mastite.

Os resultados aqui obtidos foram semelhantes aos de Schutz et al.<sup>88</sup>, Ogola et al.<sup>89</sup>, Cunha et al.<sup>60</sup> e Yarabbi et al.<sup>84</sup>, que relataram que o aumento da permeabilidade vascular durante o processo inflamatório na glândula mamária pode influenciar positivamente na passagem de substâncias de origem séricas para o leite como íons cloretos, sódio, além de proteínas como albumina e imunoglobulinas, interferindo no pH do leite.

De acordo com os resultados descritos nas Tabelas 5 e 6, os valores médios da condutividade elétrica no leite variaram de  $4,06 \pm 0,60$  mS/cm a  $5,27 \pm 1,08$  mS/cm para a raça Curraleiro Pé-Duro e para a raça Pantaneiro, valores de  $4,46 \pm 0,76$  mS/cm a  $5,20 \pm 1,33$  mS/cm.

Quanto à mastite, foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) nos valores da condutividade elétrica no leite, sendo observados maiores valores nas contagens de CCS mais elevadas, semelhante aos relatos Norberg et al.<sup>90</sup>, Ogola et al.<sup>89</sup>, Yarabbi et al.<sup>84</sup> e Antanaitis et al.<sup>91</sup> que também observaram efeito entre a elevação de CCS e a condutividade elétrica no leite, em virtude da redução na síntese de componentes, além da maior permeabilidade vascular na glândula mamária e migração de constituintes sanguíneos para o leite durante o processo inflamatório na glândula mamária, principalmente íons e minerais.

Os resultados aqui obtidos assemelham-se também aos de Zafalon et al.<sup>45</sup> onde a condutividade do leite de animais sadios variou entre 4,61 e 4,92 mS/cm, lembrando que valores superiores a este podem ser interpretados como indicação de mastite subclínica. Observou-se similaridade entre os resultados ora apresentados e as informações de Yarabbi et al.<sup>85</sup> que encontraram valores para condutividade elétrica no leite variando de 4 a 6mS/cm em CCS elevadas.

Quanto à aplicação de ocitocina na raça Curraleiro Pé-Duro, foram observados menores valores na condutividade elétrica no leite quando comparados ao grupo controle. Estas observações encontram respaldo nos relatos de Zafalon et al.<sup>45</sup> que sugerem que a condutividade elétrica no leite não deve ser interpretada isoladamente, pois fatores como teor de gordura, temperatura do leite, fase da lactação, genética e outras enfermidades podem influenciar no comportamento deste parâmetro.

Considerando que a aplicação de ocitocina nos animais da raça Curraleiro Pé-Duro influenciou de forma significativa na eliminação do leite residual resultando no aumento do teor de gordura no leite, sugere-se que este elemento possa ter influenciado na avaliação da condutividade do leite, determinando a redução dos valores quando comparado ao grupo sem ação da ocitocina exógena.

### 3.3. Detecção de resíduos de antimicrobianos no leite

Os resultados da determinação de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro pelo método Delvotest SP foram negativos. Apesar de não haver exploração leiteira nas propriedades avaliadas, bem como monitoramento da sanidade da glândula mamária e controle da mastite, os antimicrobianos foram ocasionalmente utilizados para tratamento de algumas enfermidades. Desta forma, a detecção de resíduos de antimicrobianos foi importante para monitoramento da qualidade do leite, bem como suporte para sua avaliação microbiológica.

A presença de resíduos de antimicrobianos no leite é considerada fraude, tornando o alimento como impróprio para consumo, pois além de conferir risco a saúde dos consumidores, pode ocasionar prejuízos tecnológicos para a indústria de laticínios, no processamento de queijos e outros produtos fermentados<sup>92,93</sup>. O sistema de produção dos bovinos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro caracteriza-se pela ausência deste tipo de risco associado à matéria-prima, refletindo positivamente para a possível utilização do leite para a produção de queijos artesanais, bem como outros derivados lácteos.

Apesar do país apresentar o Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes<sup>94</sup> promovendo análises anuais para monitoramento dos produtos de origem animal perante os limites máximos de resíduos permitidos, a detecção de resíduos de antimicrobianos em leite tem sido frequente, demonstrando fragilidade tanto no sistema produtivo quanto na fiscalização<sup>93</sup>. Em contrapartida, a rusticidade das raças estudadas bem como a ausência de exploração leiteira, afere menor probabilidade do uso de antimicrobianos, no tratamento das diversas enfermidades que acometem os rebanhos bovinos.

#### 3.4. Caracterização dos microrganismos presentes no leite

Os percentuais de amostras de leite sem crescimento bacteriano foram de 51,3% (116/226) e 17,7% (16/107) em amostras das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, respectivamente. Estes valores podem ser atribuídos ao número reduzido de microrganismos patogênicos e deteriorantes no leite, considerando a baixa ocorrência de casos de indicativos de mastite, bem como o limite de detecção da metodologia empregada, visto que muitos microrganismos não podem ser identificados por testes utilizados na rotina laboratorial. Fica descartada a hipótese de substâncias inibitórias no leite visto a ausência de resíduos de antimicrobianos nas amostras de leite de ambas as raças.

A ausência de crescimento bacteriano nas amostras de leite de ambas as raças, quando associada aos ensaios analíticos utilizados neste estudo, corroboram os relatos de Kuehen et al.<sup>95</sup> que diante da ausência de multiplicação microbiana durante o isolamento convencional de amostras de leite obtidas de animais possivelmente com mastite, sugeriram que as culturas negativas ao isolamento poderiam estar associadas ao baixo limite de detecção, além da ocorrência de injúrias celulares dificultando sua multiplicação nos meios de cultura.

Os microrganismos isolados e identificados nas amostras de leite do Curraleiro Pé-Duro, foram: *Staphylococcus* coagulase negativo 68/145 (46,9%), seguido por *Escherichia coli* 21/145 (14,5%), *Bacillus* spp. 20/145 (13,8%), *Staphylococcus* coagulase positivo 13/145

(9,0%), *Serratia* spp. 6/145 (4,0%), *Enterobacter* spp. 4/145 (2,8%), *Klebsiella* spp. 4/145 (2,8%), *Streptococcus* spp. 3/145 (2,0%), *Proteus* spp. 2/145 (1,4%); *Citrobacter* spp. 1/145 (0,7%), *Corynebacterium* spp. 1/145 (0,7%), *Yersinia* spp. 1/145 (0,7%) e *Shigella* spp. 1/145 (0,7%).

A partir de amostras de leite da raça Pantaneiro, verificaram-se os percentuais de isolamento em culturas puras ou associação, de 45,9% para o gênero *Bacillus* spp. (66/144), 36,8% *Staphylococcus* coagulase negativo (53/144), 11,9% *Staphylococcus* coagulase positivo (17/144) e 2,7% para *Escherichia coli* (4/144) e gênero *Streptococcus* spp. (4/144).

Diante dos agentes isolados em ambas as raças, constatou-se a maior participação de microrganismos de origem ambiental, que se apresentam como agentes oportunistas, capazes de colonizar normalmente a pele e a glândula mamária. Neste estudo foi possível constatar a predominância de espécies pertencentes ao grupo *Staphylococcus* coagulase negativo sobre os demais microrganismos, perfazendo percentuais de 46,9% do total de microrganismos isolados, para os animais da raça Curraleiro Pé-Duro e frequência de 36,8% para a raça Pantaneiro. Estes microrganismos são frequentemente isolados em casos de mastite subclínica, porém são normalmente encontrados nos tecidos mamários e ambiente<sup>96,97</sup>.

Os resultados encontrados neste estudo encontraram similaridades nos relatos de Mello et al.<sup>64</sup> que também constataram maior frequência de isolamento do gênero *Staphylococcus* em amostras de leite com a presença das espécies *Staphylococcus* coagulase negativo, seguidos de *Staphylococcus* coagulase positivo.

Os microrganismos do gênero *Bacillus* foram identificados em casos de mastite subclínica em ambas as raças, entretanto observou-se maior participação do gênero como provável causador de mastite na raça Pantaneira (45,9%), enquanto o percentual de isolamento do agente em 13,8% das amostras de leite da raça Curraleiro Pé-Duro pode indicar a presença do microrganismo na forma comensal da pele e canal do teto<sup>98,99</sup>.

O gênero *Bacillus* pode ser frequentemente isolado em amostras de leite, podendo muitas vezes não apresentar importância na cadeia epidemiológica da mastite bovina por ser um microrganismo encontrado facilmente no ambiente, e sua presença ser indicativo de contaminação no momento da colheita de amostras pela capacidade de colonização dos tetos<sup>100-102</sup>. Entretanto, o microrganismo deve ser considerado como causador da infecção intramamária quando o isolamento bacteriano apontar crescimento único de colônias do gênero, aliada à altas contagens de células somáticas, como evidenciado neste estudo.

Quanto a presença de *Escherichia coli* na epidemiologia da mastite bovina, observou-se uma diferença no percentual de isolamento nos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e

Pantaneiro, com a identificação do agente em 14,5% (21/145) e 2,7% (4/144), respectivamente. Este microrganismo é considerado o patógeno de origem ambiental mais prevalente na mastite bovina na forma clínica, promovendo a ocorrência de casos agudos decorrentes de um quadro toxigênico<sup>103-105</sup>. Esta espécie compõe parte da microbiota do trato intestinal de animais e homem, sendo encontrada naturalmente no solo visto a eliminação de fezes no ambiente, por parte dos reservatórios.

O isolamento de *E. coli* neste estudo pode ser explicado pela permanência dos animais em ambientes ricos em matéria orgânica, solo e poeira, facilitando a invasão e colonização da glândula mamária. Além disso, há de se considerar a participação do microrganismo como comensal da pele e canal dos tetos, sem promover a infecção<sup>100,103</sup>.

Considerando o envolvimento de espécies de *Staphylococcus* coagulase positivo na mastite bovina, o *S. aureus* vem sendo caracterizado como um dos mais prevalentes patógenos, tendo como reservatórios primários os seres humanos e os animais<sup>106-109</sup>. Neste estudo foram verificados percentuais de isolamento de 9% (13/145) e 11,9% (17/144) para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, sendo que em apenas um isolado foi obtido a partir da ocorrência de mastite clínica na raça Curraleiro Pé-Duro.

Costa et al.<sup>103</sup> sugerem que a colonização da pele dos tetos por *Staphylococcus aureus* exerce forte influência sobre as infecções intramamárias. Entretanto, observou-se neste estudo uma menor participação do agente como comensal da pele ou causador de mastite em ambas as raças, possivelmente pela reduzida exploração leiteira dos rebanhos, o que dificulta a transmissão dos microrganismos na forma contagiosa, bem como a possível resistência dos animais admitindo-se um eficiente mecanismo de resposta contra patógenos.

Quanto à presença do gênero *Streptococcus* nas amostras de leite, observou-se uma pequena participação dos microrganismos nas amostras de leite, sendo identificados percentuais de 2,0% (3/145) e 2,7% (4/144) para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, respectivamente. Estes resultados diferem dos relatos de Nagahata et al.<sup>110</sup> e Souza et al.<sup>100</sup> que observaram a participação de *Streptococcus* spp. em 4,0% e 6,0% das amostras positivas para mastite bovina.

Ainda em relação aos patógenos Gram-positivos, observou-se a presença de *Corynebacterium* spp. em apenas 0,7% (1/145) amostras da raça Curraleiro Pé-Duro. Estes relatos estão de acordo com observações de Costa<sup>103</sup> que relatou a presença do agente em 0,7% (3/306 amostras). O envolvimento deste gênero em ambos os estudos, corrobora a natureza secundária do agente, visto a capacidade de habitar normalmente o canal do teto, sem promover a infecção<sup>64, 103,111</sup>.

A presença de patógenos de origem ambiental, além da *E. coli* verificou-se neste estudo o isolamento de 4% de *Serratia* spp. (4/145), *Enterobacter* spp. e *Klebsiella* spp. com um percentual de 2,8% (4/145), 1,4% *Proteus* spp. (2/145) e a presença de *Yersinia* spp. e *Shigella* spp. em 0,7% (1/145) das amostras de leite da raça Curraleiro Pé-Duro. Estes resultados diferem-se dos relatos de Pagno et al.<sup>112</sup> que identificaram percentuais mais elevados aos microrganismos envolvidos na mastite bovina no estado do Paraná, sendo 4,78% para *E. coli* (203/4248), 2,59% *Serratia* spp. (110/4248) e 0,12% *Proteus* spp. (5/4248). Os diferentes percentuais de isolamento para os gêneros bacterianos em ambos os estudos podem ser em decorrência da microbiota presente no ambiente, manejo adotado para os animais, além do envolvimento dos microrganismos como causadores de mastite ou simples comensais da pele e canal do teto.

Na Tabela 7 está descrito a participação de diferentes microrganismos em relação à contagem de células somáticas. As maiores frequências de isolamento de microrganismos ocorreram no intervalo de  $CCS \leq 100.000$  céls/mL, totalizando um percentual de 61,4% e 57,6% para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.

Apesar do limite de 200.000 céls/mL ser o mais indicado para o monitoramento de mastite nos rebanhos, a avaliação do intervalo de  $CCS \leq 100.000$  céls/mL foi utilizada para indicar a relação entre a baixa celularidade observada nas amostras de leite de ambas as raças associada ao isolamento de diferentes gêneros bacterianos no leite. A partir desta observação, acredita-se que os microrganismos isolados a partir destas amostras provavelmente não estivessem promovendo infecção na glândula mamária, atuando apenas como microbiota comensal de pele e cisterna do teto, ou então que estivessem envolvidos no processo inflamatório da glândula mamária, porém, provocando pequenas alterações diante da CCS reduzida nestes casos.

Os mecanismos de resistência e rusticidade atribuídos às raças locais brasileiras assim como o menor impacto dos microrganismos na glândula mamária podem ser relacionados aos padrões de resposta imunológica das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro que de acordo com relatos de Juliano<sup>40</sup> atuam de forma homogênea e linear, se diferenciando de outras raças bovinas mestiças que apresentam muitas vezes uma distribuição irregular sobre os mecanismos de resposta imunológica.

TABELA 7 – Frequência de isolados bacterianos em relação aos intervalos de contagem de células somáticas, em amostras de leite da raça Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro

<b>Bovino Curraleiro Pé-Duro</b>																
<b>Intervalos CCS</b>	<b>N° amostras</b>	<b>Total isolados</b>	<b>%</b>	<b>SCP</b>	<b>SCN</b>	<b>ECO</b>	<b>ENT</b>	<b>STRE</b>	<b>PROT</b>	<b>SHI</b>	<b>BAC</b>	<b>KLE</b>	<b>COR</b>	<b>SER</b>	<b>YER</b>	<b>CIT</b>
≤100.000	155	89	61,4	6	45	9	4	2	1	1	13	3	1	3	-	1
101.000-200.000	22	8	5,5	1	4	1	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-
201.000-500.000	24	12	8,3	3	7	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
501.000-750.000	7	7	4,8	-	4	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-
751.000-1.000.000	6	10	6,9	2	4	2	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-
>1.000.000	12	19	13,1	1	4	8	-	1	-	-	4	-	-	1	-	-
<b>Total</b>	<b>226</b>	<b>145</b>	<b>100</b>	<b>13</b>	<b>68</b>	<b>21</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>20</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>Bovino Pantaneiro</b>																
<b>Intervalos CCS</b>	<b>N° amostras</b>	<b>Total isolados</b>	<b>%</b>	<b>SCP</b>	<b>SCN</b>	<b>ECO</b>	<b>ENT</b>	<b>STRE</b>	<b>PROT</b>	<b>SHI</b>	<b>BAC</b>	<b>KLE</b>	<b>COR</b>	<b>SER</b>	<b>YER</b>	<b>CIT</b>
≤100.000	63	83	57,6	11	29	3	-	3	-	-	37	-	-	-	-	-
101.000-200.000	10	8	5,6	-	3	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-
201.000-500.000	14	20	13,9	1	10	-	-	1	-	-	8	-	-	-	-	-
501.000-750.000	6	11	7,6	2	4	-	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-
751.000-1.000.000	7	8	5,6	1	2	1	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-
>1.000.000	7	14	9,7	2	5	-	-	-	-	-	7	-	-	-	-	-
<b>Total</b>	<b>107</b>	<b>144</b>	<b>100</b>	<b>17</b>	<b>53</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>66</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>

SCP= *Staphylococcus* coagulase positivo; SCN= *Staphylococcus* coagulase negativo; ENT= *Enterobacter* spp.; STRE= *Streptococcus* spp.; PROT= *Proteus* spp.; SHI= *Shigella* spp.; BAC= *Bacillus* spp.; KLE= *Klebsiella* spp.; COR= *Corynebacterium* spp.; SER= *Serratia* spp.; YER= *Yersinia* spp.; CITR= *Citrobacter* spp.

Considerando o isolamento dos microrganismos em amostras de leite de ambas as raças, seria oportuno indicar a possibilidade de ocorrência de casos de mastite mesmo com valores reduzidos na CCS<sup>113</sup>, uma vez que a patogenidade e a resposta do animal variam com os microrganismos envolvidos no processo inflamatório na glândula mamária. Segundo De Vliegher<sup>114</sup> algumas espécies de *Staphylococcus* coagulase positivo apresentam a capacidade de induzir mastite de forma branda e promover impacto reduzido sobre a produção de leite, assim como Harmon<sup>34</sup> e Santos<sup>44</sup> relataram sobre o impacto dos diferentes microrganismos sobre a CCS, atribuindo aos patógenos principais como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, estreptococos ambientais e coliformes, um aumento significativo nos valores de CCS, enquanto, a presença de patógenos secundários como *Corynebacterium bovis* e *Staphylococcus* spp. na glândula mamária, geraram menor resposta inflamatória e conseqüentemente menor impacto na CCS.

O percentual de isolamento de microrganismos foi de 5,5% e 5,6% para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro nos intervalos de CCS entre 101.000 e 200.000 céls/mL. Considerando os microrganismos isolados neste intervalo de CCS, observou-se semelhança entre os resultados aqui apresentados e os de Djabri et al.<sup>42</sup> que observaram o maior envolvimento de patógenos secundários em amostras de leite com CCS de 110.000 céls/mL.

Uma vez que o uso do limite de CCS acima de 200.000 céls/mL auxilia na identificação de quartos mamários infectados, sugere-se que os microrganismos identificados em 33,1% e 36,8% das amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro possam estar envolvidos no processo inflamatório da glândula mamária, visto que as células somáticas compreendem as células epiteliais secretoras, células de descamação e principalmente leucócitos que migram do sangue para a glândula mamária em resposta à infecção, variando de forma proporcional à gravidade da infecção<sup>115</sup>.

Autores como Heinrichs et al.<sup>116</sup>, Olechnowicz e Jakowski<sup>117</sup> e Archer et al.<sup>118</sup> estabeleceram que além da presença dos microrganismos na glândula mamária, outros fatores podem interferir de forma significativa na CCS como genética, período de lactação, número de parições, condições fisiológicas, fatores ambientais e nutricionais. Estas informações associadas à ausência de relatos na literatura sobre a sanidade da glândula mamária dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, limitam a percepção sobre o impacto dos microrganismos na glândula e a provável ocorrência de mastite, pois além dos fatores citados anteriormente, faz-se necessário considerar os aspectos de rusticidade e resistência já atribuídos de forma satisfatória às raças locais brasileiras sobre diversas enfermidades, plantas tóxicas, ambiência e restrição alimentar<sup>4,40,47-49</sup>.

#### 4. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que o leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro apresenta qualidade que se assemelha às raças de aptidão leiteira no que se refere à composição centesimal; sob o ponto de vista da legislação vigente para a CCS, o leite de ambas as raças apresenta valores que atendem os limites preconizados pela IN nº62; a ocorrência de mastite é baixa nos rebanhos com destaque ao maior envolvimento de patógenos de origem ambiental.

#### Referências

1. Bianchini E, McManus C, Lucci CM, Fernandes MCB, Prescott E, Mariante AS, Egito AA. Características corporais associadas com a adaptação ao calor em bovinos naturalizados brasileiros. *Pesq Agropec Bras*[online]. 2006; 41(9):1443-8 [citado em 2015 Mar 12]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/%0D/pab/v41n9/a14v41n9.pdf>.
2. Fioravanti MCS, Juliano RS, Costa GL, Abud LJ, Cardoso VS, Carpio MG, C MFO. Conservación del bovino Curraleiro: cuantificación del censo y caracterización de los criadores. *Anim Genet Resour.* [online]. 2011; 48: 109-16 [citado em 2015 Mai 15]. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-i2200t/i2200t13.pdf>
3. Marques Junior HR, Juliano RS, Abdo Y. Bovino Pantaneiro: retrospectiva histórica e fomento à raça. *Unbral Fronteiras* [online]. 2012; 42: 71-86 [citado em 2015 Mai 3]. Disponível em: <http://unbral.nuvem.ufrgs.br/base/items/show/2169>.
4. Salles PA, Medeiros GR, Costa RG, Ramos CTC, Borburema JBA, Rocha MJO, Rocha LL, Mathias W. Programa de conservação e melhoramento de uma raça bovina Brasileira: Curraleiro Pé-Duro. *AICA.* 2011;1:453-6. Disponível em: [www.insa.gov.br/wp-content/uploads/2013/.../Documento-técnico\\_5.pdf](http://www.insa.gov.br/wp-content/uploads/2013/.../Documento-técnico_5.pdf).
5. Pires RML, Alvarez RH, Amaral JB, Monteiro FM, Melo AJF, Trevisol E, Lara MAC. Caracterização citogenética das raças bovinas Caracu, Junqueira, Pantaneira e Patuá. *B Industr Anim* [online]. 2014; 71 (4): 332-40 [citado em 2015 Mai 15]. Disponível em: <http://www.iz.sp.gov.br/pdfsbia/1418131335.pdf>
6. Fioravanti MCS, Neiva ACGR, Moura MI, Oliveira e Costa MF, Monteiro EP, Monteiro EP, Sereno JRB. Kalungas e Curraleiro Pé-Duro: O resgate de uma tradição. *Revista UFG* [online]. 2012. 13 (13): 100-12 [citado em 2015 Mar 11]. Disponível em: [http://www.proec.ufg.br/revista\\_ufg/dezembro2012/arquivos\\_pdf/12.pdf](http://www.proec.ufg.br/revista_ufg/dezembro2012/arquivos_pdf/12.pdf).
7. Félix GA, Piovezan U, Juliano RS, Silva MC, Fioravanti MCS. Potencial de uso de raças bovinas locais brasileiras: Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro. *Enciclopédia Biosfera* [online].

2013;9(16):1715 [citado em 2015 Feb 22]. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/enciclop/2013a/agrarias/potencial%20de%20uso.pdf>.

8. Perkins NR, Kelton DF, Hand KJ, MacNaughton G, Berke O, Leslie KE. An analysis of the relationship between bulk tank milk quality and wash water quality on dairy farms in Ontario, Canada. *J Dairy Sci.* [online]. 2009; 92(8):3714-22 [citado em 2015 Abr 16]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19620653](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19620653)

9. Ye A. Functional properties of milk protein concentrates: Emulsifying properties, adsorption and stability of emulsions. *Int Dairy J* [online]. 2011; 21:14-20 [citado em 2015 Mar 16]. Disponível em: [www.sciencedirect.com/.../pii/S0958694610001883](http://www.sciencedirect.com/.../pii/S0958694610001883).

10. Laevens H, Deluyker H, Schukken YH, De Meulemeester L, Vandermeersch R, De Muêlenaere E, De Kruif A. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1997; 80(12):3219-26.

11. Clare DA, Swaisgood HE. Bioactive milk peptides: A prospectus. *J Dairy Sci.* 2000; 83(6):1187-95.

12. Popescu A, Angel, E. Analysis of milk quality and its importance for milk processors. *Lucrări Științifice Zootehnie Și Biotehnologi.* [online]. 2009; 42(1): 501-3 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: [www.researchgate.net/.../26684326](http://www.researchgate.net/.../26684326) An analysis of.

13. Koskinen, M. Analytical specificity and sensitivity of a real-time polymerase chain reaction assay for identification of bovine mastitis pathogens. *J Dairy Sci* [online]. 2009; 92(3): 952-9 [citado em 2015 Mar 29]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Analytical%20specificity%20and%20sensitivity%20of%20a%20realtime%20polymerase%20chain%20reaction%20assay%20for%20identification%20of%20bovine%20mastitis%20pathogens>.

14. Barlow, J. Mastitis Therapy and Antimicrobial Susceptibility: a Multispecies Review with a Focus on Antibiotic Treatment of Mastitis in Dairy Cattle. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* [online]. 2011; 16(4):383- 407 [citado 2015 Mar 25]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Therapy%20and%20Antimicrobial%20Susceptibility:%20a%20Multispecies%20Review%20with%20a%20Focus%20on%20Antibiotic%20Treatment%20of%20Mastitis%20in%20Dairy%20Cattle>.

15. Santos MV, Tomazi T, Gonçalves JL. Novas estratégias para o tratamento da mastite bovina. *Rev Vet Zootec* [online]. 2011; 18(4):131-7 [citado em 2015 Mar 15]. Disponível em: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/viewFile/440/334>.

16. Keefe G. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2012; 28 (2): 203-13 [citado em 2015 Mai 19]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22664203>.

17. Tozzetti DS, Bataier MBN, Alemida LR. Prevenção, controle e tratamento das mastites bovinas: revisão de literatura. *Rev Cient. Eletron. Med. Vet.* [online]. 2008; 6(10):1-7. [citado em 2015 Mai 22]. Disponível em: [faef.revista.inf.br/.../YFbjMNRGCotOL73\\_2013-5-28-15-25-40.pdf](http://faef.revista.inf.br/.../YFbjMNRGCotOL73_2013-5-28-15-25-40.pdf).

18. Thompson-Crispi K, Atalla H, Miglior F, Mallard BA. Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics. *Front Immunol.* [online]. 2014;5:493 [citado em 2015 Abr 01]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25339959>.
19. Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tinofsky L, Gonzales RN. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res.* [online]. 2003; 34:579-96 [citado em 2015 Mar 15]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14556696](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14556696).
20. Rhoda DA, Pantoja JCF. Using mastitis records and somatic cell count data. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* [online]. 2012; 28(2):347-61 [citado em 2015 Mai 29]. Disponível em: doi: [10.1016/j.cvfa.2012.03.012](https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.012).
21. Kamal RM, Bayoumi, M. A., Abd El Aal, S. F. A. Correlation between some direct and indirect tests for screen detection of subclinical mastitis. *IFRJ* [online]. 2014; 21(3):1249-54 [citado em 2015 Abr 22]. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(03\)%202014/59%20IFRJ%2021%20\(03\)%202014%20Abd%20El%20648.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(03)%202014/59%20IFRJ%2021%20(03)%202014%20Abd%20El%20648.pdf).
22. Reyher, KK, Haine D, Dohoo IR, Revie CW. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens-A systematic review and meta-analysis. *J Dairy Sci.* [online]. 2012; 95(11):6483-502 [citado em 2015 Jun 12]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22981582>.
23. Deb R, Kumar A, Chakraborty SM, Verma K, Tiwari R, Dharma K, Singh U, Kumar S. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: A review. *Pakistan J Biol Sci.* [online]. 2013; 16: 1653-61 [citado em 2015 Set 19]. Disponível em: <http://scialert.net/fulltext/?doi=pjbs.2013.1653.1661>.
24. Harmon RJ. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci.* 1994; 77(7):2103-12.
25. Barkema HW, Schukken YH, Lam TJGM, Beiboer ML, Benedictus G, Brand A. management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci.* 1999; 82 (8); 1643-54.
26. Brito MAVP, Brito JRF. Diagnóstico microbiológico da mastite. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, 1999. 16p. (Embrapa Gado Leite. Circular Técnica, 55). Disponível em: [www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/7670/5443](http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/download/7670/5443).
27. Dias RVC. Principais métodos de diagnóstico e controle da mastite bovina. *Acta Veterinária Brasileira* [online]. 2007; 1(1):23-7 [citado em 2015 Mai 15]. Disponível em: [periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/download/.../95](http://periodicos.ufersa.edu.br/revistas/index.php/acta/article/download/.../95).
28. Coentrão CM, Souza GM, Brito JRF, Brito MAVP, Lilenbaum W. Fatores de risco para mastite subclínica em vacas leiteiras. *Arq Bras Med Vet Zootec* [online]. 2008; 60(2): 283-8 [citado em 2015 Jun 12]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v60n2/a01v60n2.pdf>

29. Raimondo RFS, Miyashiro SI, Birgel Jr EHB. Influência da fase de lactação nas proteínas do soro lácteo de vacas Jersey. Anais 8º Congresso Brasileiro de Buiatria; 2009; Belo Horizonte. Ciênc Anim Bras. (Supl.1); 2009. p.732.
30. Pradié J, Moraes CR, Gonçalves M, Vilanova MS, Correa GF, Lauz OG, Osório MTM, Schmid V. Somatic Cell Count and California Mastitis Test as a Diagnostic Tool for Subclinical Mastitis in Ewes. Acta Sci Vet [online]. 2012; 40(2):1038 [citado em 2015 Mai 22]. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/actavet/40-2/PUB%201038.pdf>.
31. Bueno VFF, Mesquita AJ, Soares NE, Oliveira NA, Oliveira JP, Neves RB, Mansur JRG, Thomaz LW. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. Cienc. Rural [online] 2005; 35(4): 848-54 [citado em 2015 Mai 04]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v35n4/a16v35n4.pdf>.
32. Schalm OW, Noorlander BS. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J Am Vet Med Assoc. 1957; 30(5):199-204.
33. Schalm OW, Carroll EJ, Jain NC. Bovine mastitis. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971.360p.
34. Harmon RJ, Eberhart RJ, Jasper D.E. et al. Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.
35. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº. 68, de 12 de dezembro de 2006. “Métodos Analíticos Oficiais físico-químicos, para controle de leite e produtos lácteos”. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=17472>.
36. Zafalon LF, Nader Filho A, Oliveira JV, Resende FD. Comportamento da condutividade elétrica e do conteúdo de cloretos como métodos auxiliares de diagnóstico da mamite subclínica bovina. Pesq Vet Bras. 2005; 25 (3): 150-63.
37. Oliver SP, González RN, Hogan JS, Jayarao BM, Owens WE. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4 ed. Verona, WI: National Mastitis Council. 2004. 47p.
38. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn JRWC. Diagnóstico microbiológico. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 1488p.
39. Hennart SL, Faragher J. Validation of the Delvotest SP NT DA. Performance tested method 011101. J AOAC Int. [online] 2012; 95(1):252-60 [citado em 2015 Jun 22]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22468368>.
40. Juliano RS. Aspectos sanitários e imunológicos de bovinos da raça curraleiro. [tese]. 2006. Universidade Federal de Goiás. 107p.
41. Cardoso CC. Tolerância ao calor em bovinos das raças Curraleira Pé Duro, Pantaneira e Nelore utilizando imagens termográficas [monografia]. 2013. Universidade de Brasília. 38p.

42. Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet Res* [online]. 2002; 33(4):335-57 [citado em 2015 Mai 2]. Disponível em: [http://www.vetresarchive.org/file/Vet.Res.\\_09284249\\_2002\\_33\\_4/Vet.Res.\\_0928-4249\\_2002\\_33\\_4\\_ART0001.pdf](http://www.vetresarchive.org/file/Vet.Res._09284249_2002_33_4/Vet.Res._0928-4249_2002_33_4_ART0001.pdf).
43. Pyorala S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res.* [online]. 2003; 34(5):565-78 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14556695>.
44. Santos MV. O uso da CCS em diferentes países. In: Mesquisa AJ, Durr JW, Coelho KO. *Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil*. Goiânia: Talento, 2006, v.1, p. 181-97. Disponível em: <http://www.radar-tecnico/qualidade-do-leite/o-uso-da-ccs-em-diferentes-paises-parte-1-32730n.aspx>.
45. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62 de 29 dezembro de 2011. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de dez. de 2011, Seção 1, p.6-11.
46. Beloti V, Ribeiro Júnior JC, Tamanini R, Yamada AK, Silva LC, Shecaira CL, Novaes DG, Silva FF, Giombelli CJ, Mantovani FD, Silva MR. Qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado produzido no município de Sapopema/PR. *Rev Cient Elet Med Vet.* [online]. 2011; 9(16):1-5 [citado em 2015 Mai 02]. Disponível em: [http://faef.revista.inf.br/imagens\\_arquivos/arquivos\\_destaque/gvRfHOQjI5PmOHd\\_2013-6-25-16-55-49.pdf](http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/gvRfHOQjI5PmOHd_2013-6-25-16-55-49.pdf).
47. Paiva Neto MA. Estudo da incidência e localização de carrapatos (*Boophilus microplus*) em bovinos nelore, holandês e curraleiro no Distrito Federal. Circular técnica, Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular técnica, 34). Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CENARGEN/28289/1/ct034.pdf>.
48. Santin API. Perfil Sanitário de bovinos da raça Curraleiro frente a enfermidades de importância econômica. [tese]. 2008. Universidade Federal de Goiás. 78f.
49. Serodio JJ. Resistência das raças bovinas Nelore, Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro a intoxicação experimental por *Palicourea marcgravii* A. St. Hil. [dissertação]. 2013. Universidade Federal de Goiás. 101f.
50. Jorge AM, Andrighetto C, Strazza MRB. Correlation between the California Mastitis Test (CMT) and Somatic Cells Count on milk from Murrah buffalo cows. *R Bras Zootec.* 2005;34(6):2039-45.
51. Cerón-Muñoz M, Tonhati H, Duarte J. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J Dairy Sci.* [online]. 2002; 85(1):2885-9 [citado em 2015 Jun 15]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12487456](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12487456).
52. Medeiros ES, Barbosa SBP, Jatobá RB, Azevedo SS, Pinheiro Junior JW, Saukas TN, Albuquerque PPF, Mota RA. Perfil da contagem de células somáticas na infecção

intramamária em búfalas na Região Nordeste do Brasil. *Pesq Vet Bras.* [online]. 2011;31(3):219-23 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-736X2011000300006&lng=en&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2011000300006&lng=en&tlng=pt).

53. Coban O, Sabuncuoglu N, Tuzemen N. A study on relationships between somatic cell count (SCC) and some udder traits in dairy cows. *J Anim Vet Adv.* [online]. 2009; 8(1):134-8 [citado em 2015 Jun 22]. Disponível em: [www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=javaa.2009.134.138](http://www.medwelljournals.com/fulltext/?doi=javaa.2009.134.138).

54. Porcionato MAF, Soares WVB, Reis CBM, Cortinhas CS, Mestieri L, Santos MV. Milk flow, teat morphology and subclinical mastitis prevalence in Gir cows. *Pesq Agrop Bras.* [online]. 2010; 45(12):1507-12 [citado em 2015 Set 17]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100204X2010001200023&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100204X2010001200023&lng=en&tlng=en). 10.1590/S0100-204X2010001200023.

55. Okano WKJC, Bogado ALG, Negri Filho LC, Bronkhorst DE, Borges MHF, Barca Junior FA, Diniz MS, Santana EHW, Silva CB. Relationship between Shape of Teat and Teat Tip and Somatic Cell Count (SCC) in Dairy Cows. *Acta Scient Vet.* 2015;43(1276):1-6.

56. Viana LC. Duração das infecções naturais por estafilococos coagulase negativos e contagem de células somáticas em vacas primíparas. [Dissertação]. 2000. Universidade Estadual de Londrina.

57. Barbosa JG, Gonzaga Neto S, Queiroga RCRE, Medeiros NA, Pereira VO, Costa TP, Lima JSB. Características físico-químicas e sensoriais do leite de vacas Sindi suplementadas em pastagem. *Rev Bras Saúde Prod An.* [online]. 2010; 11 (2): 362-370. [citado em 2015 Jul 25]. Disponível em: <http://www.rbspa.ufba.br>.

58. Raimondo RFS, Miyashiro SI, Mori CS, Birgel Júnior. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. *Pesq Vet Bras* [online]. 2013; 33(1):19-25 [citado em 2015 Abr 11]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/pvb/v33n1/22.pdf>.

59. Ladeira SRL. Mastite. In: Riet-Correa F, Schild AL, Méndez MDC. *Doenças de Ruminantes e Equinos.* 1998. Ed. Universitária/UFPel, Pelotas. p.261-264.

60. Cunha, R.P.L., Molina, L.R., Carvalho, A.U., Facury Filho, E.J., Ferreira, P.M., & Gentilini, M.B. (2008). Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. *Arq Bras Med Vet Zoot.* [online]. 2008; 60(1):19-24 [citado em 2015 Ago 10]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S010209352008000100003&lng=en&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010209352008000100003&lng=en&tlng=pt). 10.1590/S0102-09352008000100003.

61. Ruegg PL, Pantoja JCF. Understanding and using somatic cell counts to improve milk quality. *Ir J Agric Food Res.* [online]. 2013; 52: 101–117 [citado em 23 jun 2015]. Disponível em: [http://www.teagasc.ie/research/journalarchives/vol52no2/ijafr\\_43\\_13.pdf](http://www.teagasc.ie/research/journalarchives/vol52no2/ijafr_43_13.pdf)

62. Zafalon LF, Nader Filho A, Oliveira JV. Mastite subclínica causada por *Staphylococcus aureus*: custo-benefício da antibioticoterapia de vacas em lactação. *Arq. Bras. Med. Vet.*

Zootec.[online].2007;59(1):577-85 [citado em 2015 Mai 19]. Disponível em: [www.ufrgs.br/actavet/43/PUB%201276.pdf](http://www.ufrgs.br/actavet/43/PUB%201276.pdf).

63. Abera M, Habte T, Aragaw K, Asmare K, Sheferaw D. Major causes of mastitis and associated risk factors in smallholder dairy farms in and around Hawassa, Southern Ethiopia. *Trop Anim Health Prod.* [online]. 2012; 44(6):1175-9 [citado em 2015 Jun 13]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22231019](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22231019).

64. Mello PL, Agostinis RO, Barzon EM, Colombo R B, Silva AV, Martins LA. Prevalência da mastite subclínica e associação dos agentes etiológicos com a contagem de células somáticas de vacas leiteiras da região Sudoeste do Paraná. *Vet e Zootec.*[online]. 2012;19(4): 513-21 [citado em 2015 Jul 11]. Disponível em: [www.vetzootec.com/pubmed/related/12831175](http://www.vetzootec.com/pubmed/related/12831175).

65. Jardim JG QC, Pacheco A, Lima GRS. Melhoramento genético visando a resistência a mastite em bovinos leiteiros. *Arch Zootec.*[online]. 2014;63(2):199-219 [citado em Mai 29]. Disponível em: [www.uco.es/organiza/servicios/.../az/.../articulo.php?](http://www.uco.es/organiza/servicios/.../az/.../articulo.php?).

66. Saab AB, Zamprogna TO, Lucas TM, Martini KC, Mello PL, Silva AV, Martins LA. Prevalência e etiologia da mastite bovina na região de Nova Tebas, Paraná. *Semina: Cienc Agrar.* [online]. 2014; 35(2):835-44 [citado em 2015 Abr 22]. Disponível em: [www.researchgate.net/.../274655384](http://www.researchgate.net/.../274655384) Prevalencia e eti.

67. Insa. Estado atual de conservação da raça bovina Curraleiro Pé-Duro na região Nordeste Brasileira. Instituto Nacional do Semiárido. Campina Grande: INSA/MCTI, 2007. Documentos Técnicos/Instituto Nacional do Semiárido).

68. Borburema JB, Silva AS, Medeiros GR, Lima WC, Santos ED, Pinto TF, Costa RG. Produção de leite de vacas da raça Pé-Duro. Associação Brasileira de Zootecnia; 2008; João Pessoa, Brasil. João Pessoa: ABZ; 2008. p.1-3.

69. Dymnicki E, Sosin-Bzducha E, Gołębiewski M. Effects of calf separation and injection of oxytocin on milk performance and milk composition of the Polish Red cows. *Archiv Tierzucht.* 2013; 56 (88): 882-891.

70. Guo JZ, Liu XL, Xu AJ, Xia Z. Relationship of Somatic Cell Count with Milk Yield and Composition in Chinese Holstein Population. *Agric Sci China.* [online]. 2010; 9(10): 1492-6 [citado em Ago 17]. Disponível em: [www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1671292709602431](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1671292709602431).

71. Mazal G, Vianna PCB, Santos MV, Gigante ML. Effect of somatic cell count on Prato cheese composition. *J Dairy Sci.* 2007; 90(1): 630-6.

72. Vianna PCB, Mazal G, Santos MV, Bolini HMA, Gigante ML. Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with diferente levels of somatic cells. *J Dairy Sci.* 2008; 91(1):1743-50.

73. Cinar M, Serbester U, Ceyhan A, Gorgulu M. Effect of Somatic Cell Count on Milk Yield and Composition of First and Second Lactation Dairy Cows. *IJAS.* 2015; 14(1):1-5

[citado em 2015 Jun 02]. Disponível em: <http://www.aspajournal.it/index.php/ijas/article/view/ijas.2015.3646/2801>.

74. Bansal BK, Hamann J, Grabowski NT, Singh KB. Variation in the composition of selected milk fraction samples from healthy and mastitic quarters, and its significance for mastitis diagnosis. *J Dairy Res.* 2005;72(2):144-52.
75. Reis CBM, Barreiro JR, Mestieri L, Porcionato MAF, Santos MV. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. *Vet Research.* [online]. 2013; 9(1):67-69 [citado em 2015 Mai 22]. Disponível em: [www.biomedcentral.com/1746-6148/9/67](http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/67).
76. Ontsouka CE, Bruckmaier RM, Blum JW. Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk. *J Dairy Sci.* 2003; 86: 2005-11.
77. Bruckmaier RM, Wellnitz O. Induction of milk ejection and milk removal in different production systems. *J Anim Sci.* 2008; 86(13 Suppl):15-20.
78. Gigante ML, Costa MR. Influência das células somáticas nas propriedades tecnológicas do leite e derivados. III Congresso Brasileiro de Qualidade do leite; 2009; Recife, Brasil. CCS Gráfica e Editora, 2008. Disponível em: <http://cbql.com.br/biblioteca/cbql3/IIICBQL161.pdf>
79. Litwinczuk Z, Krol J, Barłowska J. Changes of protein content and its fractions in bovine milk from different cow breeds subject to somatic cell count. *J Dairy Sci.* [online]. 94(2): 684-91 [citado em 2015 Mai 25]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21257037](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21257037).
80. Auld MJ, Hubble IB. Effects of mastites on raw milk and dairy products. *The Australian J Dairy Tech.* 1998; 53(1): 28-36.
81. Machado PF, Pereira AR, Sarries GA. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Rev Bra Zootec.* 2000; 29(6):1883- 6.
82. Rajcevic M, Potocnik K, Levstek J. Correlations between somatic cells count and milk composition with regard to the season. *Agric. Conspec. Sci.* 2003; 68(1):221-6.
83. Ventura RV, Leme TARP, Mendonça LC, Dias MS, Amorim MA. Contagem de células somáticas e seus efeitos nos constituintes do leite. In: II Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. Goiânia. Anais...Goiânia: 2006. p.187-189.
84. Hamid IMB, Shuipe ES, El Zubeir IEM, Saad AZ, El Owni OAO. Influence of *Staphylococcus aureus* mastitis on milk composition of different dairy breeds of cattle in Khartoum State, Sudan. *World's Vet J.* [online]. 2012; 2(2)13-6 [citado em Set 19]. Disponível em: [http://wvj.scienceline.com/attachments/article/13/World's%20Vet.%20J.%202\(2\)%2013-16,%202012.pdf](http://wvj.scienceline.com/attachments/article/13/World's%20Vet.%20J.%202(2)%2013-16,%202012.pdf)
85. Yarabbi H, Mortazavi A, Mehraban M, Sepehri N. Effect of Somatic Cells on the physic-chemical and microbial properties of raw milk different seasons. *Int J Anim*

Sci.[online]. 2014; 4(1):1-5 [citado em Mai 12]. Disponível em: [http://www.ijpaes.com/admin/php/uploads/628\\_pdf.pdf](http://www.ijpaes.com/admin/php/uploads/628_pdf.pdf).

86. Paula FP, Cardoso CE, Rangel MAC. Análise físico-química do leite cru refrigerado proveniente das propriedades leiteiras da região Sul Fluminense. Rev Elet TECCEN. [online]. 2010; 3(4):7-18 [citado em 2015 Mai]. Disponível em: [http://www.uss.br/pages/revistas/revistateccen/V3N42010/pdf/001\\_Analise\\_Fisico\\_quimica.pdf](http://www.uss.br/pages/revistas/revistateccen/V3N42010/pdf/001_Analise_Fisico_quimica.pdf).

87. Ahmad T, Bilal MQ, Ullah S, Muhammad G. Effect of severity of mastitis on pH and specific gravity of buffalo milk. Pak J Agri Sci. [online]. 2005; 42(3):64-7 [citado em Abr 16]. Disponível em: [http://www.researchgate.net/publication/266879455\\_Effect\\_of\\_severity\\_of\\_mastitis\\_on\\_pH\\_and\\_specific\\_gravity\\_of\\_buffalo\\_milk](http://www.researchgate.net/publication/266879455_Effect_of_severity_of_mastitis_on_pH_and_specific_gravity_of_buffalo_milk)

88. Schultz MM, Hansen LB, Steuernagel GR. Variation of milk, fat, protein and somatic cells for dairy cattle. J. Dairy Sci. 1990. 73(1):484-93.

89. Ogola H, Shitandi A, Nanua, J. Effect of mastitis on raw milk compositional quality. J Vet Sci. 2007; 8(3): 237-42.

90. Norberg E. Electrical conductivity of milk as phenotypic and genetic indicator of bovine mastitis: A review. Livestock Prod Sci. [online]. 2005.; 96(2-3):129-39 [citado em Mai 15]. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301622604002994>.

91. Antanaitis R, Zilaitis V, Juozaitiene V, Palunbinskas G, Kucinskas AS, Beliavska-Alekisjune. Efficient diagnostics and treatment of bovine mastitis according to herd management parameters. Vet Med Zoot [online]. 2015; 69(91):1-10 [citado em Mai 26]. Disponível em: <http://vetzoo.lva.lt/data/vols/2015/69/pdf/antanaitis.pdf>

92. Martin JGP. Resíduos de antimicrobianos em leite-uma revisão. Seg. Alim. Nutri. [online]. 2011; 18(2): 80-87. [citado em 23 jun 2015]. Disponível em: [http://www.unicamp.br/nepa/publicacoes/san/2011/XVIII\\_2/docs/residuos-deantimicrobianos-em-leite-uma-revisao.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/publicacoes/san/2011/XVIII_2/docs/residuos-deantimicrobianos-em-leite-uma-revisao.pdf).

93. Souza LA, Coelho KO, Neves RBS, Melo CS, Bueno CP. Fatores determinantes e ocorrência de resíduos de antibióticos em leite cru. Vet. e Zootec. 2013; 20(2 Supl 1): 40-41.

94. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº. 42, de 20 de dezembro de 1999. Dispõe sobre a Alteração do Plano Nacional de Controle de Resíduos em Produtos de Origem Animal - PNCR e os Programas de Controle de Resíduos em Carne - PCRC, Mel – PCRM, Leite – PCRL e Pescado – PCRP. Diário Oficial da União, Brasília, 22 dez. 1999. Seção 1, p. 213. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=16717>.

95. Kuehn JS, Gorden PJ, Munro D, Rong R, Dong Q, Plummer PJ, Wang C, Phillips GJ. Bacterial community profiling of milk samples as a means to understand culture-negative bovine clinical mastitis. PLoS ONE. 2013; 8(4): e61959.doi:10.1371/journal.pone.0061959

96. Taponen S, Pyörälä S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis: not so different from *Staphylococcus aureus*. Vet. Microbiol. 2009;134:29-36.
97. Vanderhaeghen W, Piepers S, Leroy F, Van Coillie E, Haesebrouck F, De Vliegher S. Identification, typing, ecology and epidemiology of coagulase negative staphylococci associated with ruminants. Vet J. 2015;203(1):44-51. doi: [10.1016/j.tvjl.2014.11.001](https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.11.001).
98. Fragkou IA, Mavrogianni VS, Cripps PJ, Gougoulis DA, Fthenakis GC. The bacterial flora in the teat duct of ewes can protect against and can cause mastitis. Vet Res. 2007;38(4):525-45.
99. Costa LB, Rajala-Schultz PJ, Hoet A, Seo KS, Fogt K, Moon BS. Genetic relatedness and virulence factors of bovine *Staphylococcus aureus* isolated from teat skin and milk. Journal of Dairy Science. 2014;97(11):6907-16.
100. 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. Arq Bras Med Vet Zootec. [online].2009;61(5):1015-20.[citado em 22 maio 2015]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000500001&script](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-09352009000500001&script).
101. Reis SR, Silva N, Brescia MV. Antibioticoterapia para controle da mastite subclínica de vacas em lactação. Arq Bras Med Vet Zootec. 2003; 55(6): 651-658.
102. Silva, T.F. Correlação entre o crescimento bacteriano em placa com a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT) de leite proveniente de vacas com mastite subclínica do norte e noroeste fluminense. [Dissertação]. Campos dos Goytacazes: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro; 2007.
103. Costa AC. Mastite subclínica: patógenos isolados e respectiva sensibilidade antimicrobiana, variação da contagem de células somáticas e fatores de risco [Dissertação]. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia – EVZ/UFG; 2010.
104. Schroeder JW. Mastitis control programs bovine mastitis and milking management pub. NDSU. 2012. Disponível em: [https://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/dairy/as112\\_9.pdf](https://www.ag.ndsu.edu/pubs/ansci/dairy/as112_9.pdf).
105. Flores AMPC, Melo CB. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. Rev. Bras. Med. Vet.2015;37(1):65-72.
106. Andrade MA, Dias Filho FC, Mesquita AJ, Rocha PT. Sensibilidade in vitro de *Staphylococcus aureus* isolados de amostras de leite de vacas com mastite subclínica. Cienci Anim Bras. 2000; 1(1):53- 57.
107. Schlegelová J, Dendis M, Benedík J, Babák V, Rysánek D. *Staphylococcus aureus* isolates from dairy cows and humans on a farm differ in coagulase genotype. Vet Microbiol. 2003; 92(4):327-34.

- 108.Ferreira LM, Nader Filho A, Oliveira E, Zafalon LF, Souza V. Variabilidade fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isolados em casos de mastite subclínica bovina. Cienc Rural. 2006; 36: 1228- 1234.
- 109.Botaro BG, Cortinhas CS, Dibbern AG, e Silva LF, Benites NR, Santos MV. *Staphylococcus aureus* intramammary infection affects milk yield and SCC of dairy cows. Trop Anim Health Prod. 2015; 47(1):61-6. DOI: 10.1007/s11250-014-0683-5. Epub 2014 Oct 16.
- 110.Nagahata H, Ito H, Maruta H, Nishikawa Y, Susukino H, Matsuki S, Higuchi H, Okuhira T, Anri A. Controlling highly prevalent *Staphylococcus aureus* mastitis from the dairy farm. J Vet Med Sci. 2009; 69(9):893-98.
- 111.Philpot NW, Nickerson SC. Vencendo a luta contra a mastite. Piracicaba: Westfalia Surge/Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002. 192p.
- 112.Pagno KCA, Jesuz ER, Carneiro MGB, Barbosa TC, Pagno JT, Barros Filho IR. Isolamento de agentes causadores da mastite bovina na região dos campos gerais, estado do Paraná. Vet. e Zootec. [online]. 2013; 20(2 Supl 1): 208-209 [citado em 2 jun 2015]. Disponível em: <http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/viewFile/707/456>.
- 113.Schwarz, D., U. S. Diesterbeck, K. Failing, S. König, K. Brügemann, M. Zschöck, W. Wolter, and C.-P. Czerny. Somatic cell counts and bacteriological status in quarter foremilk samples of cows in Hesse, Germany - A longitudinal study. J. Dairy Sci. 2010; 93:5716-28.
- 114.De Vliegher, S., H. Laevens, H. W. Barkema, I. Dohoo, H. Stryhn, G. Opsomer, and A. de Kruif. Management practices and heifer characteristics associated with early lactation somatic cell counts of dairy heifers in Belgium. J. Dairy Sci. 2004; 87:937-947.
- 115.Norman HD, Lombard JE, Wright JR, Koprak CA, Rodriguez JM, Miller RH. Consequence of alternative standards for bulk tank somatic cell count of dairy herds in the United States. J Dairy Sci. [online]. 2011; 94(1):6243-56 [citado em Mai 26]. Disponível em: [https://aipl.arsusda.gov/publish/jds/2011/94\\_6243.pdf](https://aipl.arsusda.gov/publish/jds/2011/94_6243.pdf).
- 116.Heinrichs AJ, Costello SS, Jones CM. Control of heifer mastitis by nutrition. Vet. Microbiol. [online]. 2009;134:172-6 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18947943](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18947943).
- 117.Olechnowicz J, Jaaskowski JM. Somatic cells count in cow's bulk tank milk. J Vet Med Sci. [online]. 2012; 74(6):681-6 [citado em Mai 12]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22230979](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22230979).
- 118.Archer SC, McCoy F, Wapenaar W, Green MJ. Association between somatic cell count early in the first lactation and the longevity of Irish dairy cows. J Dairy Sci.[online]. 2013;96(1): 2939-50 [citado em 2015 Mai 9]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23522676](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23522676).

## CAPÍTULO 3 - PROTEINOGRAMA DO SORO LÁCTEO DE BOVINOS CURRALEIRO PÉ-DURO E PANTANEIRO

### Resumo

As proteínas e peptídeos do leite constituem ingredientes muito valorizados pelas propriedades nutritivas, tecnológicas e biológicas, que podem fornecer informações clínicas úteis, visto as propriedades antimicrobianas, defesa imunológica, determinação do grau de severidade e recuperação das enfermidades inflamatórias ou infecciosas bem como pode auxiliar no monitoramento dos animais. Objetivou-se neste estudo a identificação e quantificação das principais proteínas presentes no soro do leite de raças locais brasileiras e o impacto da mastite sobre estes componentes. Foram avaliadas 226 amostras de leite de bovinos da raça Curraleiro Pé-Duro e 107 amostras de bovinos Pantaneiro localizados nos estados de Goiás e Mato Grosso do Sul. O proteinograma foi realizado pela técnica de eletroforese microfluídica *Lab-on-a-chip* por meio do equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer nas dependências do Laboratório Multiusuário do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. A partir do fracionamento eletroforético do soro lácteo foi possível estabelecer valores para a concentração, peso molecular e tempo de migração das principais proteínas, sendo  $\alpha$ -lactoalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina, imunoglobulina G cadeia leve e pesada, albumina e lactoferrina. A elevação na contagem de células somáticas, indicativo de mastite, influenciou no proteinograma do leite de forma significativa com a elevação na concentração das frações albumina, imunoglobulina G e lactoferrina. Embora os valores tenham sido menores, observou-se comportamento semelhante das frações proteicas das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro às raças de aptidão leiteira. Os resultados obtidos por este estudo auxiliaram na caracterização inicial das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro estabelecendo valores referenciais para proteína total do soro lácteo e frações proteicas no leite de indivíduos sadios e com mastite.

**Palavras-chave:** eletroforese, leite, mastite, proteínas.

### Abstract

#### Whey protein profile of Curraleiro Pe-Duro and Pantaneiro bovines

Proteins and milk peptides are highly valued ingredients due to nutritious, technological and biological properties, which can provide useful clinical information, as the antimicrobial properties, immune defense, determining the degree of severity and recovery of inflammatory or infectious diseases and can assist in monitoring of animals. The objective of this study was the identification and quantification of the major proteins present in the whey of Brazilian local breeds, and the impact of mastitis on these components. We evaluated 226 milk samples of Curraleiro Pé-Duro breed and 107 samples of Pantaneiro breed, from herds located in the states of Goiás and Mato Grosso do Sul. The protein profile was performed by Lab-on-a-chip microfluidic electrophoresis through Agilent 2100 Bioanalyzer in the Multi-User Laboratory premises of the Tropical Institute of Pathology and Public Health at the Federal University of Goiás. From the electrophoretic fractionation of whey, it was possible to establish values for concentration, molecular weight and

migration time of the main proteins, and  $\alpha$ -lactalbumin,  $\beta$ -lactoglobulin, immunoglobulin G light and heavy chains, albumin, and lactoferrin. The increase in somatic cell count indicative of mastitis, influenced significantly in the milk protein concentrations with the increase in the concentration of the fractions of albumin, immunoglobulin G, and lactoferrin. Although the values were lower, there was similar behavior of protein fractions of the breeds Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro. The results of this study helped in the initial characterization of Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro breeds and in establishing reference values for total protein of whey and milk protein fractions of healthy individuals and animals with mastitis.

Key-words: electrophoresis, milk, mastitis, protein.

## 1. Introdução

O leite caracteriza-se como uma emulsão natural, secretada pelas glândulas mamárias de mamíferos. Possui elevado valor nutricional, por conter em sua composição uma variedade de substâncias como proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais<sup>1</sup>. A síntese do leite ocorre a partir de nutrientes levados a glândula mamária pelo sangue. A maioria das proteínas, são sintetizadas nas células secretoras alveolares, durante a galactopoiese, enquanto uma pequena parcela é de origem plasmática, sendo transferida ao leite por meio de filtração<sup>2,3</sup>.

Considerando a complexidade envolvida na síntese láctea observa-se que, fatores genéticos, sanidade dos animais, período de lactação, alimentação, mudanças climáticas, manejo de ordenha e enfermidades como a mastite, podem alterar significativamente a concentração dos constituintes do leite<sup>3,4</sup>.

As proteínas presentes neste alimento representam de 3% a 4% dos sólidos totais, sendo subdivididas entre proteínas do soro e caseínas, com percentuais de 20% e 80% do total de proteínas lácteas<sup>5-7</sup>.

As proteínas do soro são representadas por um grupo diversificado de moléculas, compreendendo frações maiores como  $\alpha$ -lactalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, e também por pequenas concentrações de proteínas derivadas do sangue, como albumina, imunoglobulinas, lactoperoxidase, lisozima e lactoferrina<sup>6,8</sup>. Este grupo de proteínas é formado por moléculas individualizadas, com importantes propriedades funcionais como solubilidade em ampla faixa de pH, força iônica, capacidade de geleificação, emulsificação e formação de espuma, além do valor nutritivo e propriedades fisiológicas. Entretanto, são moléculas menos resistentes ao processamento térmico, sofrendo desnaturação em faixas de temperatura acima de 70°C<sup>9</sup>.

A caseína é formada por quatro tipos de proteínas com propriedades funcionais e proporções diferenciadas:  $\alpha$ 1- caseína (38%),  $\alpha$ 2- caseína (10%),  $\beta$ - caseína (34%) e  $\kappa$ - caseína (15%), atuando na formação de emulsões, espuma e géis<sup>5,7,10,11</sup>.

As proteínas e peptídeos do leite constituem ingredientes muito valorizados pelas propriedades nutritivas (fonte de aminoácidos para a síntese de proteínas e energia), tecnológicas (aplicações sensoriais e funcionais) e biológicas, que podem fornecer informações clínicas úteis, visto a secreção de hormônios, propriedades antimicrobianas, defesa imunológica, diagnóstico precoce, determinação do grau de severidade e recuperação das enfermidades inflamatórias ou infecciosas bem como pode auxiliar no monitoramento dos animais<sup>7,12-17</sup>.

A composição proteica do leite pode ser determinada pela reação de eletroforese, que consiste na migração e separação de moléculas ionizadas em virtude do tamanho e forma das proteínas. Um dos métodos mais utilizados para a identificação das proteínas lácteas é a técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida contendo dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE)<sup>18,19</sup>. Este método apresenta uma ótima capacidade de fracionamento eletroforético possibilitando a visualização de baixas concentrações proteicas e a quantificação de diferentes elementos<sup>14,20</sup>.

Visando o aprimoramento de ensaios laboratoriais, foi desenvolvido um sistema de eletroforese microfluídica baseada em *microchip*, capaz de analisar proteínas, DNA e RNA, apresentando mais vantagens quando comparado aos métodos tradicionais: ampla faixa de detecção de peso molecular (5 a 250kDa), consumo reduzido de reagentes e amostras (concentração de proteínas de pg/ $\mu$ L a ng/ $\mu$ L), ensaio automatizado gerando resultados eletronicamente sob a forma de gel e eletroferograma<sup>21-23</sup>.

Diante da importância do tema e a escassez de informações sobre proteinograma do soro lácteo de raças locais naturalizadas, buscou-se com este estudo descrever o perfil eletroforético desta classe de proteínas das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro de animais saudáveis e com mastite.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Colheita de amostras**

No presente estudo foram analisadas 333 amostras de leite cru obtidas de rebanhos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, no período compreendido entre janeiro

de 2013 e maio de 2014. Para a colheita de amostras, preconizou-se inicialmente a inspeção da glândula mamária e a realização dos testes da caneca telada e o CMT nos primeiros jatos de leite.

As amostras de leite colhidas em frascos esterilizados e sem conservantes foram acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável, mantidas refrigeradas, máximo 7°C, durante o transporte até o Laboratório Multiusuário do Centro de Pesquisa de Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás por um prazo máximo de 48 horas.

Os procedimentos realizados durante o manejo dos bovinos e as colheitas das amostras atenderam as normas éticas e princípios de bem-estar animal preconizados pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

## 2.2. Ensaio analítico

O proteinograma do soro lácteo foi determinado por fracionamento e quantificação das proteínas, utilizando-se a técnica de eletroforese microfluídica *lab-on-a-chip*<sup>23</sup> no equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha).

Para a realização deste ensaio foram utilizadas as dependências do Laboratório Multiusuário de Biotecnologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás – IPTSP/UFG.

O soro lácteo foi obtido por meio da coagulação do leite pela adição de 10% de solução de renina<sup>24</sup>. As alíquotas foram incubadas em banho-maria a 37°C por 30 minutos e centrifugadas durante 30 minutos a 3.700 rpm. Após a centrifugação, procedeu-se a separação do soro em *ependorfs* de 1,5mL sendo congelados à -23°C, até o momento da realização da eletroforese microfluídica.

Após o descongelamento das amostras, realizou-se a quantificação relativa das proteínas do soro, utilizando-se um espectrofotômetro NanoDrop® 2000/2000c - Thermo Scientific, com absorvância a 280nm.

Considerando a faixa qualitativa do método *Lab-on-a-chip* que varia de 6 a 4.000ng/ µL indicada pelo fabricante, 200 µL de amostra foram diluídas em 400 µL de água

Milli-Q, visando ajustar as concentrações das amostras à faixa qualitativa indicada para o equipamento. Após a realização das diluições, todas as amostras foram avaliadas novamente quanto à concentração proteica.

Para o controle da reação, foram utilizados padrões elaborados com proteínas purificadas (albumina,  $\alpha$ -lactalbumina bovina,  $\beta$ -lactoglobulina, lactoferrina, caseína e imunoglobulina G) (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA).

O ensaio analítico utilizado para a separação de proteínas do soro lácteo foi a eletroforese microfluídica em *microchip* (*Lab-on-a-chip*) do sistema Agilent 2100 Bionalyzer, utilizando o kit *Protein 80* (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha), que permite a separação de proteínas de 5 a 80 kDa.

Para o preparo da solução de gel-matriz (*Gel-Dye mix*) e solução descolorante (*Destaining solution*), os reagentes foram deixados sob temperatura ambiente por 30 minutos, em local protegido de luz.

A solução de gel-matriz (*Gel-Dye mix*) foi homogeneizada em vórtex por 10 segundos, sendo centrifugada por 5 segundos. O conteúdo (650  $\mu$ L) foi transferido para um tubo com filtro, presente no reagente comercial, e centrifugado a 2.500g por 15 minutos.

Após a filtração, foi adicionado ao filtrado 25  $\mu$ L da solução corante (*Dye concentrate*), sendo homogeneizados em vórtex por 15 segundos. A solução foi identificada e armazenada à 4°C, protegida da luz, tendo validade por até quatro semanas após o seu preparo.

A solução descolorante (*Destaining solution*) foi preparada com a transferência da solução de gel-matriz para um tubo coletor com filtro, seguida de centrifugação a 2.500 g por 15 minutos. Os reagentes foram protegidos da luz e armazenados a 4°C.

A solução desnaturante foi realizada com a adição de 1,0  $\mu$ L de  $\beta$ -mercaptoetanol à 28,6  $\mu$ L ao tampão (*Protein 80 Sample Buffer*), sendo o volume suficiente para um *microchip* (total de 10 amostras). Após a homogeneização da mistura em vórtex, procedeu-se a centrifugação por 5 segundos.

Foram pipetados quatro microlitros de cada amostra e dois microlitros da solução desnaturante em um tubo de volume 0,5mL. Separadamente, foi pipetado seis microlitros do marcador de peso molecular (*Ladder*) em um tubo plástico de 0,5mL. Posteriormente, os tubos foram aquecidos a 95°C por cinco minutos em um termociclador (Bio-rad) e arrefecidas em gelo por três minutos.

Os tubos foram centrifugados por 15 segundos e posteriormente, adicionou-se 84  $\mu\text{L}$  de água Milli-Q às amostras e ao marcador de peso molecular. Os tubos foram centrifugados por 5 segundos e mantidos em gelo até o momento da pipetagem no *microchip*.

A distribuição dos reagentes e das amostras no *microchip* foi orientada pela indicação alfanumérica presente nos *microchips* (Figura 1).

Inicialmente, pipetou-se 12  $\mu\text{L}$  da solução de gel matriz (*Gel-Dye mix*) no poço identificado como G1. Em seguida, o *microchip* foi colocado em um suporte (*Microchip Priming Station*) para aplicação de pressão de ar com o auxílio de uma seringa, para auxiliar na distribuição do gel pelos canalículos do *microchip*. Os outros poços identificados como G2, G3 e G4 foram preenchidos em seguida, com 12  $\mu\text{L}$  da solução de gel matriz (*Gel-Dye mix*).

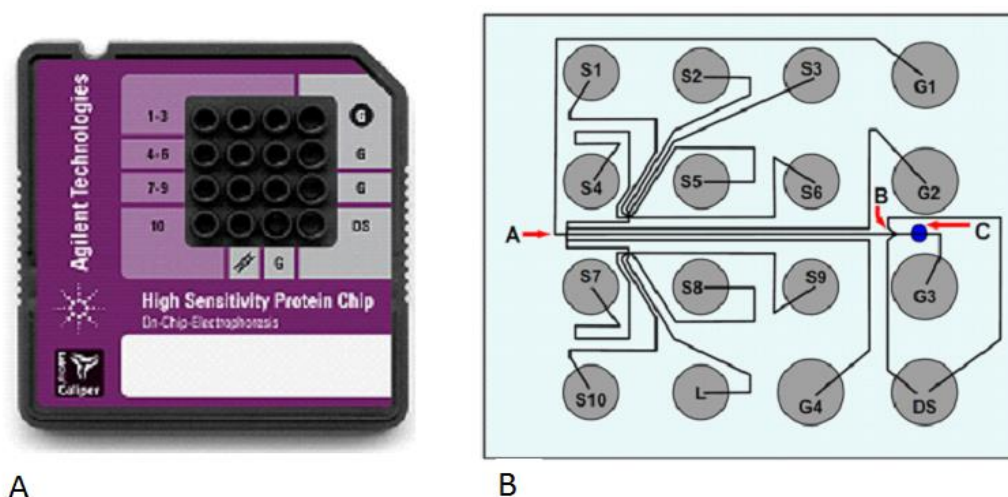


FIGURA 1 – (A) *Microchip* para eletroforese microfluídica (Agilent 2100- Bioanalyzer), com capacidade de análise para 10 amostras. (B). Representação esquemática dos poços e canais de um *microchip* da tecnologia “Lab-on-a-chip” para análise de proteínas. Poços G1 a G4 – adição do gel/ corante matriz; DS - solução de descolorante; S1 a S10 – amostras de leite; L – Ladder. As setas destacadas indicam: A - canal de separação, B- Posição de descoloração e C- Posição da janela de detecção.

FONTE: Adaptado de Anema<sup>21</sup>.

O volume de 12  $\mu\text{L}$  da solução descolorante (*Destaining solution*) foi adicionado ao poço identificado como DS. Em seguida, 6  $\mu\text{L}$  de cada amostra foi pipetado nos poços identificados como S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8, S9, S10. No poço L, foi pipetado 6  $\mu\text{L}$  do marcador de peso molecular (*Ladder*).

As reações tiveram padrões conhecidos por meio da corrida de proteínas purificadas: albumina,  $\alpha$ -lactalbumina bovina,  $\beta$ -lactoglobulina, lactoferrina, caseína e imunoglobulina G (Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA) (Figura 2).

Após o preenchimento dos poços, o *microchip* foi colocado no aparelho (Agilent 2100 Bioanalyzer). A programação da corrida contendo informações como tipo de análise, *kit* utilizado e amostras foram realizadas no *software* do equipamento (*2100 Expert Software*), com tempo aproximado para a corrida eletroforética em torno de 30 minutos.

A identificação das proteínas foi determinada pela migração no gel, sendo observado o peso molecular, a similaridade com as proteínas purificadas e a área de picos formados no gel (Figura 3) e no eletroferograma (Figura 4), produzidos através da fluorescência das proteínas e dos marcadores de peso molecular. Os picos obtidos pela eletroforese foram gerados automaticamente e captados pelo *software*. Após o término da análise, o *microchip* utilizado foi removido, descartado e os eletrodos foram higienizados através da adição de 350  $\mu$ L de água Milli-Q no sistema *electrode cleaner*.

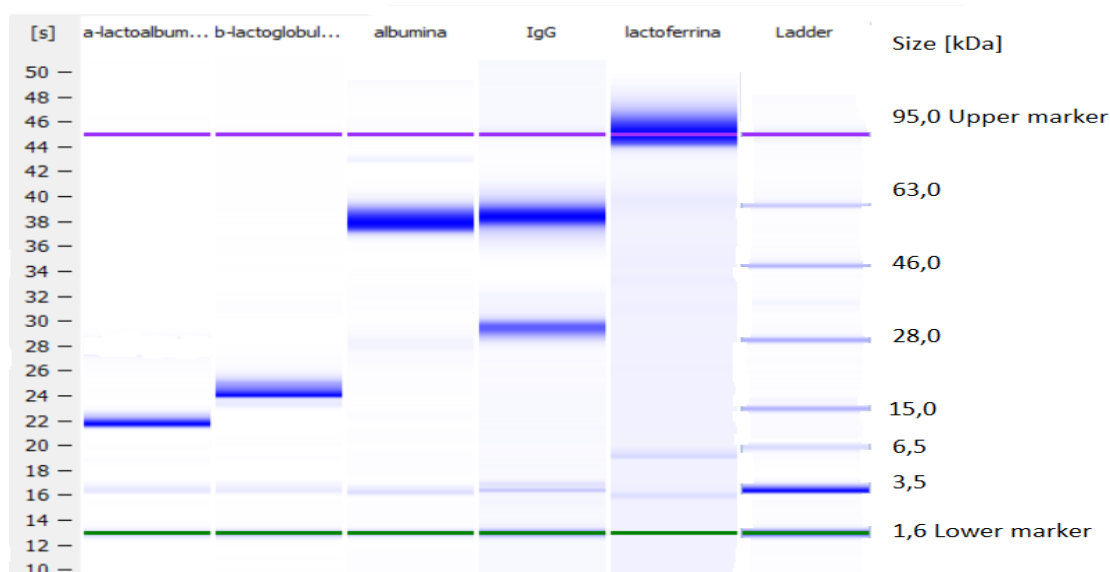


FIGURA 2 - Representação da corrida eletroforética em equipamento Agilent 2100 Bioanalyzer, demonstrando as massas moleculares das proteínas purificadas, padrão de peso molecular da reação (ladder) e tempo de migração (segundos).

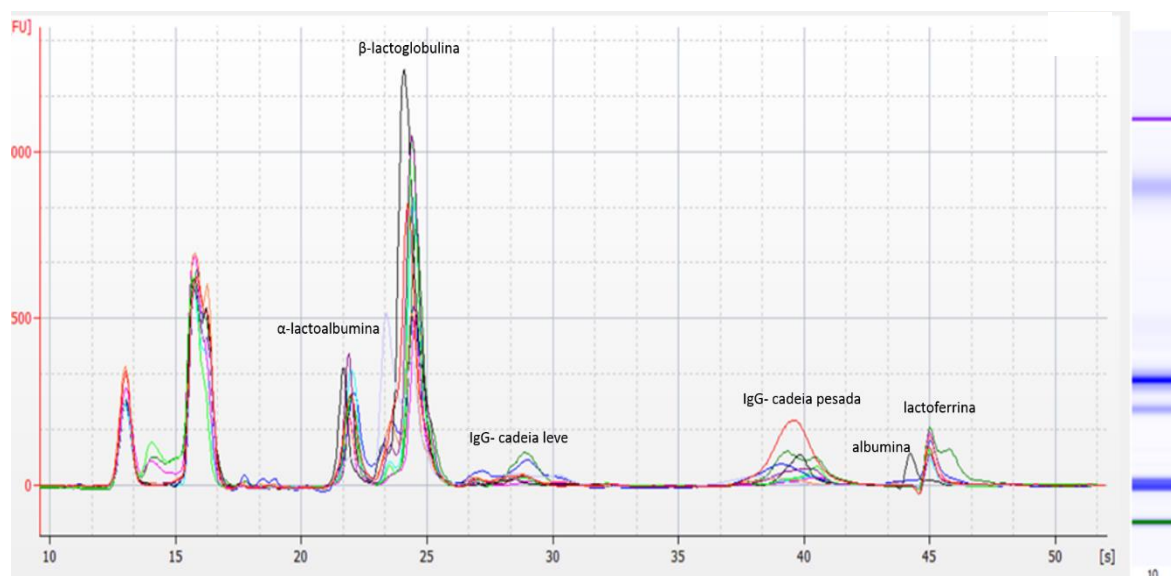


FIGURA 3 - Eletroferograma e correspondência aos pesos moleculares das frações proteicas e do tempo de migração a partir de amostras de leite. Representação da corrida eletroforética em gel.

### 2.3. Análise estatística

Após a captação das informações pelo Agilent 2100 Expert *Software*–Bionalyzer (Version B.02.08 SI648 Demo version) (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemanha), os dados foram avaliados pela estatística descritiva. A análise de variância (ANOVA) com dois fatores fixos foi utilizada para avaliar as modificações das frações proteicas em relação a CCS, seguida do teste *post hoc* HSD de Tukey para a identificação das diferenças específicas nas variáveis seguindo o critério de significância estatística estabelecido ( $p < 0,05$ ).

## 3. Resultados e discussão

Os dados apresentados na Tabela 1 referem-se ao fracionamento das proteínas presentes no soro do leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.

TABELA 1 - Resultados das proteínas do soro lácteo das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, estimadas pelo método *lab-on-a-chip*

Proteínas do soro lácteo	Raça Curraleiro Pé-Duro		Raça Pantaneiro		Peso molecular estimado <i>Lab-on-a-chip</i> * (kDa)	Peso molecular estimado SDS** (kDa)
	Massa molecular (KDa)	Tempo de Migração (s)	Massa molecular (Kda)	Tempo de Migração (s)		
$\alpha$ -lactoalbumina	12,4 $\pm$ 0,8	22,5 $\pm$ 1,1	12,2 $\pm$ 0,6	22,0 $\pm$ 0,9	12	14,1
$\beta$ -lactoglobulina - Pico 1	16,2 $\pm$ 1,0	24,0 $\pm$ 1,0	15,5 $\pm$ 0,9	23,3 $\pm$ 1,1	-	-
$\beta$ -lactoglobulina - Pico 2	18,4 $\pm$ 1,1	25,1 $\pm$ 1,3	18,1 $\pm$ 0,8	24,6 $\pm$ 1,7	18	18,3
IgG - cadeia leve	29,5 $\pm$ 1,4	30,1 $\pm$ 2,8	29,6 $\pm$ 1,1	29,6 $\pm$ 2,2	26	32
IgG- cadeia pesada	53,7 $\pm$ 13,4	36,5 $\pm$ 4,4	57,9 $\pm$ 7,8	36,8 $\pm$ 3,5	54	60
Albumina	68,1 $\pm$ 2,8	40,6 $\pm$ 1,6	67,2 $\pm$ 3,0	39,9 $\pm$ 1,5	63	69
Lactoferrina	87,8 $\pm$ 4,0	43,7 $\pm$ 1,1	87,3 $\pm$ 5,5	43,1 $\pm$ 1,5	87	89

\* Anema<sup>21</sup>

\*\* Farrell et al.<sup>25</sup>

Considerando os resultados apresentados, verificou-se que o emprego da tecnologia *lab-on-a-chip* permitiu a identificação e quantificação de cinco proteínas no soro lácteo das raças locais brasileiras, de forma automatizada, a partir da massa molecular (kDa) e o tempo de migração (segundos) em gel<sup>21</sup>, seguindo o mesmo padrão das raças convencionais, quanto aos percentuais identificados das referidas frações.

As pequenas variações observadas entre os resultados aqui apresentados e o relato de Farrell et al.<sup>25</sup>, ocorreram em função da avaliação de diferentes raças bovinas, bem como a sensibilidade das metodologias utilizadas para a identificação das proteínas presentes no soro lácteo de forma manual ou automatizada, como a eletroforese em gel de poliacrilamida em presença de SDS-PAGE, Ureia-PAGE e Native-PAGE, eletroforese capilar, cromatografia e proteômica<sup>21,26-30</sup>.

Quanto a proteína à  $\beta$ -lactoglobulina, sugere-se que a presença de dois picos sejam correspondentes às variantes genéticas da fração proteica  $\beta$ -lactoglobulina, descritas pelas letras A, B, C, D e E. Segundo Sgarbieri<sup>31</sup> e Stipp et al.<sup>32</sup> estas variantes estão associadas ao polimorfismo da proteína, em regiões identificadas dos aminoácidos e que podem designar o melhor uso industrial, influenciando nas propriedades tecnológicas do leite, já que esta proteína tem capacidade de emulsificação, geleificação, formação de espuma e agregação de sabor e aroma<sup>6,33,34</sup>.

As concentrações das proteínas acima identificadas estão descritas na Tabela 2.

TABELA 2 - Concentrações das principais proteínas do soro lácteo (ng/μL) na raça Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro em relação à CCS

<b>Bovino Curraleiro Pé-Duro</b>							
Variáveis (ng/μL)	CCS (cél/s/mL)	N	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Concentração total	<200.000	177	2.861,5	2.781,8	1.124,75	1.013,3	3.897,8
	>200.000	49	2.781,75	2847	884,92	1.012,8	3.957,9
α-lactoalbumina	<200.000	177	508,81	5.32,1	225,55	165,9	892,3
	>200.000	49	486,20	497,6	265,27	320,9	996,3
β-lactoglobulina Pico1	<200.000	177	264,71	89,5	548,1	118,6	2.568,1
	>200.000	49	262,12	86,3	443,14	113,8	2.136,8
β-lactoglobulina Pico2	<200.000	177	1.802,44	1.832,4	1.060,00	224,9	2.789,6
	>200.000	49	1.787,03	1.881,5	738,68	249,6	2.627,23
IgG Cadeia leve	<200.000	177	68,20 <sup>b</sup>	45,63	68,27	43,8	225,4
	>200.000	49	132,92 <sup>a</sup>	119,5	89,24	68,5	613,2
IgG Cadeia pesada	<200.000	177	28,85 <sup>b</sup>	16,9	53,85	22,8	140,8
	>200.000	49	73,13 <sup>a</sup>	51,3	76,68	29,7	265,1
Albumina	<200.000	177	104,16 <sup>b</sup>	94,1	125,60	41,4	471,5
	>200.000	49	242,96 <sup>a</sup>	198	208,53	92,4	746,7
Lactoferrina	<200.000	177	42,06 <sup>b</sup>	13,55	86,03	0,3	127,87
	>200.000	49	120,63 <sup>a</sup>	98,4	129,53	22,5	299,6
<b>Bovino Pantaneiro</b>							
Variáveis (ng/μL)	CCS (cél/s/mL)	N	Média	Mediana	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo
Concentração total	<200.000	73	2.856,90	3.031,20	920,14	1.036,10	3.988,90
	>200.000	34	2.769,38	2.666,59	922,18	1.056,10	3.972,40
α-lactoalbumina	<200.000	73	514,93	533,30	220,83	166,90	991,30
	>200.000	34	507,90	477,55	293,73	114,92	1.591,80
β-lactoglobulina Pico1	<200.000	73	105,81	84,17	229,11	9,60	181,50
	>200.000	34	89,12	74,86	84,62	3,70	193,30
β-lactoglobulina Pico2	<200.000	73	1.584,95	1.554,35	675,03	24,60	2.728,90
	>200.000	34	1.542,30	1.503,60	621,80	274,40	2.603,20
IgG Cadeia leve	<200.000	73	153,38 <sup>b</sup>	169,70	110,13	71,70	397,30
	>200.000	34	274,16 <sup>a</sup>	194,05	178,38	92,30	811,54
IgG Cadeia pesada	<200.000	73	72,30 <sup>b</sup>	66,18	234,88	21,20	356,90
	>200.000	34	133,04 <sup>a</sup>	255,60	385,28	50,80	632,00
Albumina	<200.000	73	284,97 <sup>b</sup>	213,40	228,01	67,80	780,56
	>200.000	34	406,34 <sup>a</sup>	342,30	339,46	91,40	1.083,60
Lactoferrina	<200.000	73	95,88 <sup>b</sup>	47,15	106,10	1,00	201,10
	>200.000	34	186,93 <sup>a</sup>	120,20	90,51	31,10	353,20

\*Médias seguidas de letras diferentes nas colunas se diferem pelo Teste de Tukey (p<0,05)

QUADRO 1 - Concentrações das frações proteicas presentes no soro lácteo em diferentes estudos

Variáveis		Literatura					
		Kalorey et al. <sup>35</sup>	Farrell et al. <sup>25</sup>	Sant'ana <sup>20</sup>	Anema <sup>21</sup>	Raimondo et al. <sup>36</sup>	Sobczuk-Szul et al. <sup>37</sup>
Proteínas do soro	GM	Sahiwal x Jersey	Bovino	Gir	Holandes	Jersey	Holandes
Concentração Total	SAD	1,04 ± 0,24 g/dL		1.142,65 ± 362,90 mg/dL		569,0-713mg/dL	
	MAS	2,74 ± 0,29 g/dL		1.565,77 ± 901,63 mg/dL			
α-lactoalbumina	SAD		0,6-1,7 g/L	144,72 ± 30,96 mg/dL	810 ± 40 ng/μL	117,0-157,0 mg/dL	
	MAS			157,39 ± 60,17 mg/dL			
β-lactoglobulina	SAD		2-4g/L	601,14 ± 147,33 mg/dL	4.000 ± 200 ng/μL	207,0-256 mg/dL	
	MAS			596,64 ± 137,28 mg/dL			
IgG	SAD	3,00 ± 0,36 mg/mL	0,3-0,7g/L	165,580 ± 135,26 mg/dL		59,0-95,0mg/dL cadeia leve	
	SAD	6,76 ± 0,59 mg/mL		365,61 ± 479,79 mg/dL		38,0-51,0mg/dL cadeia pesada	
Albumina	SAD		0,4g/L	72,96 ± 30,85 mg/dL		24,0-34,0mg/dL	
	MAS			154,28 ± 124,15 mg/dL			
Lactoferrina	SAD		0,02-0,1 g/L	64,47 ± 29,33 mg/dL		36,0-49,0mg/dL	149,16 μg/mL
	MAS			121,43 ± 97,28 mg/dL			212,69 μg/mL

Legenda:

GM= Glândula mamária

SAD= sadia; MAS= mastite

Apesar da existência de informações sobre os aspectos produtivos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, ainda são escassas as informações referentes as características sanitárias da glândula mamária e composição do leite destas raças; valores referenciais para as duas raças não foram encontrados. Por esta razão, os resultados de proteinograma lácteo de outras raças bovinas foram utilizados para nortear a interpretação dos resultados obtidos com as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.

Os valores encontrados para a concentração total de proteínas no soro lácteo de fêmeas saudáveis e com mastite, das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro (Tabela 2), foram inferiores aos resultados encontrados por Kalorey et al.<sup>35</sup> e Sant'ana<sup>20</sup>, na avaliação de rebanhos das raças Jersey e Gir.

Na comparação entre amostras de leite obtidas de animais sem mastite, sugere-se que a variação entre os valores encontrados neste estudo e os resultados da literatura (Quadro 1), pode ter sido decorrente das diferentes metodologias aplicadas na separação do soro lácteo, fracionamento e identificação eletroforética das proteínas, mas também pode ter relação com a raça avaliada, idade, estágio de lactação, ambiente, manejo, enfermidades não relacionadas à glândula mamária, com os aspectos nutricionais e com os índices de produção. Dessauge et al.<sup>38</sup> relatam o efeito da alimentação sobre a produção de leite e os componentes lácteos.

Neste estudo optou-se pela separação do soro lácteo por coagulação enzimática e apesar de Anema<sup>21</sup> ter utilizado a mesma tecnologia deste estudo, *lab-on-a-chip*, sugere-se que além das características dos rebanhos avaliados, o método de separação do soro lácteo<sup>25,39</sup> pode ter contribuído para as menores concentrações encontradas neste estudo.

Desta forma, os menores valores observados nas amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro quando comparados à outras raças, tanto para a concentração total de proteínas quanto às principais frações proteicas identificadas podem estar relacionadas ao baixo perfil produtivo dos animais face a ausência de especialização para a produção leiteira e manejo para ordenha. Vale registrar que animais das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro estão associados à tração, havendo menor preocupação com a alimentação e suplementação para produção de leite ou carne. Gonçalves et al.<sup>40</sup> relacionaram ainda a influência da idade sobre as concentrações de proteínas séricas de bovinos de outra raça e aptidão do animal.

Apesar das menores concentrações de proteínas no soro lácteo das fêmeas bovinas deste estudo, o valor de proteína total no leite enquadrou-se aos parâmetros exigidos

pela legislação brasileira<sup>41</sup> que estabelece um teor mínimo de 2,9% para as proteínas no leite, atendendo as exigências de qualidade para o leite voltado à produção nacional.

Levando-se em consideração o impacto da mastite sobre a síntese proteica, observou-se que a concentração de proteínas totais do soro lácteo dos rebanhos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro não sofreu alteração com a elevação de CCS no leite, diferente dos resultados obtidos por Sant'ana<sup>20</sup> e Kalorey et al.<sup>35</sup> que relataram aumento na concentração de proteína no soro lácteo de animais com maiores CCS. A ausência de elevação na concentração de proteína no soro lácteo das fêmeas com mastite deste estudo pode ter sido resultado da redução na síntese dos componentes lácteos, acompanhado do aumento da permeabilidade vascular na glândula mamária, o que permite a migração de proteínas sanguíneas do soro sanguíneo para o úbere, mantendo estável os valores de proteína do leite<sup>42</sup>.

A  $\alpha$ -lactoalbumina do leite dos animais deste estudo apresentou menor concentração, quando comparada às raças produtoras de leite<sup>21,43</sup>. Esse peptídeo do soro lácteo tem ação na biossíntese da lactose na glândula mamária, determinando maior estabilidade ao calor e conferindo ação antimicrobiana contra bactérias patogênicas<sup>2,6,25,43,44</sup>. Neste estudo, não foram observadas diferenças significativas ( $p > 0,05$ ) entre os animais saudáveis e com mastite, corroborando os resultados de Sant'ana<sup>20</sup> que observou concentrações semelhantes da  $\alpha$ -lactoalbumina no leite saudável e mastítico.

A  $\beta$ -lactoglobulina do leite dos animais deste estudo apresentou menor concentração, quando comparada a raças produtoras de leite<sup>20,21,36,43</sup>. Essa fração proteica apresenta funções biológicas<sup>44</sup> e propriedades funcionais de utilidade na indústria de alimentos<sup>31,32</sup>, indicando a necessidade de mais estudos direcionados para as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, considerando sua potencialidade para geração de produtos com indicação geográfica, a exemplo do que acontece com raças autóctones europeias<sup>45</sup>.

Apesar deste estudo, não ter por objetivo a identificação de microrganismos que compõem o grupo de bactérias lácticas, acredita-se que o perfil de proteínas séricas no leite e sangue, possa ter relação com tal estrutura genética destas raças. Oldenbroek<sup>46</sup> discorreu sobre itens que justificam o estudo de raças autóctones e dentre eles, citou que a oportunidade de investigação direcionada à qualidade de produtos e saúde de raças criadas em sistemas extensivos é prioritário. Os resultados para os picos de  $\beta$ -lactoglobulina podem indicar que há componente genético para propriedades tecnológicas desconhecidas e pelos resultados identificados em outro capítulo deste estudo, é possível associar fatores inibidores para microrganismos indesejáveis e maior atuação daqueles que são denominados como de uso

industrial. Desta forma, suspeita-se que exista associação entre o perfil de  $\beta$ -lactoglobulina identificado e a ação de bactérias lácticas, o que potencializa a intenção de uso deste tipo de leite como culturas *starters*.

Ao avaliar conjuntamente os dois picos da  $\beta$ -lactoglobulina, os valores obtidos para a raça Curraleiro Pé-Duro ficam muito próximos daqueles relatados por Farrell et al.<sup>25</sup> e Raimondo et al.<sup>36</sup>, reforçando a necessidade de mais estudos com as raças bovinas brasileiras objetivando as propriedades tecnológicas do leite desses animais.

Em relação à mastite e os valores observados para a  $\beta$ -lactoglobulina, sugere-se que, o mesmo efeito observado sobre a concentração total das proteínas do soro lácteo, pode ser estendido às concentrações das proteínas  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina, que apesar de uma discreta redução nos casos de mastite não apresentaram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). Estas observações se assemelham as descrições de Sant'ana<sup>20</sup> onde apesar das diferenças entre os valores para as proteínas em questão, não foram observadas alterações significativas entre os grupos de animais sadios e doentes.

A imunoglobulina G do leite dos animais deste estudo apresentou menor concentração, quando comparada a raças produtoras de leite<sup>20,25,35,36</sup>. Essa imunoglobulina apresenta função biológica de proteção à glândula mamária frente à microrganismos causadores de mastite, atuando como antioxidante e contribuindo para a imunidade passiva<sup>2,6,26,47</sup>.

Considerando o impacto da mastite sobre as proteínas presentes no soro lácteo, foi observado neste estudo aumento significativo ( $p < 0,05$ ) na concentração de imunoglobulinas G de cadeia leve e pesada, nas raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, corroborando os resultados de Kalorey et al.<sup>35</sup> e Santana 2004. A mastite promove a elevação da CCS e da concentração de imunoglobulinas, em resposta a inflamação/infecção local no úbere<sup>2,47</sup>.

Os resultados observados neste estudo se assemelham também às observações de Amaral et al.<sup>48</sup> que verificaram o aumento na concentração de imunoglobulina G acompanhando a elevação da CCS. Os autores sugeriram ainda o envolvimento de patógenos primários de mastite em amostras de leite com maiores concentrações de imunoglobulinas, quando comparados a quadros infecciosos na glândula mamária por patógenos considerados secundários ou quartos mamários negativos ao isolamento bacteriano convencional, que podem apresentar concentrações de albumina e imunoglobulinas menos expressivos. Estas observações sustentadas por Amaral et al.<sup>48</sup> podem de certa forma auxiliar na compreensão sobre os valores encontrados neste estudo e os relatados na literatura (Quadro 1), visto que

a maioria dos microrganismos isolados nos casos de mastite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro podem ser caracterizados como secundários e de origem ambiental, como discutidos no capítulo anterior.

Sugere-se que as variações observadas quanto à concentração de imunoglobulinas no soro lácteo, sejam decorrentes da mastite, entretanto, fatores como período de lactação, número de lactações, produção de leite, composição do leite (teor de sólidos totais) ou pela concentração de IgG no soro, podem interferir em menor grau nos níveis de imunoglobulinas G no leite. Estas observações encontram respaldo nos relatos de Liu et al.<sup>49</sup> onde constataram forte correlação entre a concentração de IgG no soro lácteo e o número de lactações dos rebanhos avaliados, bem como ao estágio de lactação, produção diária e o teor de proteínas no leite.

As concentrações de albumina nas amostras de leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro foram inferiores as relatadas por Farrell et al.<sup>25</sup>. Os valores da raça Pantaneiro apresentaram-se no intervalo proposto por Raimondo et al.<sup>36</sup>, para a concentração de albumina no soro lácteo de animais sadios. Sugere-se que as variações observadas entre os estudos sejam decorrentes das características intrínsecas das raças, pois de acordo com relatos de Barini<sup>50</sup> e Borges<sup>51</sup> os valores médios de albumina no soro sanguíneo de bovinos Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro foram inferiores aos observados para bovinos das raças Nelore, Gir, Holandês. Girolando e *Toros de Lidia*.

A concentração da albumina foi significativamente maior ( $p < 0,05$ ) no leite com maiores CCS, em ambas as raças. Estes valores diferem dos observados por Sant'ana<sup>20</sup>, ao descrever a concentração de albumina no soro lácteo em animais sadios e com mastite, entretanto, notou-se a similaridade entre a elevação de CCS e a concentração de albumina em ambos os estudos, indicando que a presença de albumina sérica no leite tem forte relação com aumento na permeabilidade vascular da glândula mamária durante o processo inflamatório, e a passagem de componentes sanguíneos para o leite<sup>52</sup>.

Haraguchi et al.<sup>2</sup>, Poppi et al.<sup>6</sup> e Raimondo et al.<sup>36</sup> complementaram ainda que apesar da mastite promover aumentos significativos na concentração de albumina no soro lácteo, outros fatores também interferem na elevação deste peptídeo, como as fases de lactação.

A concentração de lactoferrina no soro lácteo de bovinos sadios das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, foram semelhantes às relatadas por de Farrell et al.<sup>25</sup> Hagiwara et al.<sup>53</sup> e Cheng et al.<sup>54</sup> para outras raças de bovinos leiteiro e inferiores aos relatados por Raimondo et al.<sup>36</sup> e Sobczuk-Szul et al.<sup>37</sup>.

As concentrações de lactoferrina foram significativamente maiores ( $p < 0,05$ ) nas fêmeas com mastite, nas duas raças aqui avaliadas. Vale destacar que a elevação da lactoferrina nas CCS mais elevadas tem relação com o efeito bactericida atribuído a esta proteína, considerando sua capacidade de sequestro do ferro nas células alveolares da glândula mamária, impedindo desta forma sua captação para o metabolismo bacteriano<sup>6,31,38</sup>. Diante destas observações, Cheng et al.<sup>54</sup> e Giacinti et al.<sup>55</sup> sugeriram que a lactoferrina poderia funcionar como indicador de processos inflamatórios da glândula mamária em rebanhos leiteiros de bovinos e bubalinos. Salienta-se que outros fatores, como fase da lactação, número de parições, nível de produção também podem interferir com suas concentrações<sup>36,55,56</sup>.

Considerando a total ausência de informações na literatura sobre o perfil protéico do leite dos bovinos das raças locais brasileiras Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, este estudo gerou os primeiros dados, que deverão auxiliar na composição dos valores referenciais do proteinograma lácteo para essas raças, tanto para os animais sadios, como para aqueles com mastite.

#### 4. Conclusões

A técnica de eletroforese microfluídica *Lab-on-a-chip* é adequada para a identificação e quantificação da  $\alpha$ -lactoalbumina,  $\beta$ -lactoglobulina, imunoglobulina G, albumina e lactoferrina. Leite com contagens superiores à 200.000 céls/mL provoca o aumento na concentração de imunoglobulina G, albumina e lactoferrina. Embora os valores obtidos neste estudo tenham sido menores, o comportamento das frações proteicas se assemelha às raças de aptidão leiteira.

#### Referências

1. Hsieh CC, Hernandez-Ledesma B, Fernandez-Tome S, Weinborn V, Barile D, de Moura Bell JM. Milk proteins, peptides, and oligosaccharides: effects against the 21st century disorders. *Biomed Res Int*. [online]. 2015; 2015 (146840): 1-16 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: <http://www.hindawi.com/journals/bmri/2015/146840/cta/>.
2. Haraguchi FK, Abreu WC, Paula H. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. *Rev Nutr* [online].

- 2006; 19(4):479-488 [citado em 2015 Jun 15]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732006000400007&script](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732006000400007&script).
3. Machado AS, Lima MLM, Godoy MM, Silva IA, Buso WHD, Araújo EP. Fatores determinantes do fluxo sanguíneo e nutriente para a glândula mamária bovina. *Pubvet*. [online]. 2011; 5(21):1131 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: <http://pubvet.com.br/artigo/1721/p-styletext-align-justify-aligncenterstrongfatores-determinantes-do-fluxo-sanguiacuteneo-e-nutriente-para-a-glacircndula-mamaacuteria-bovinastrongp>.
  4. Rocha TG, Franciosi C, Nociti RP, Silva PC, Sampaio AAM, Fagliari JJ. Eletroferograma das proteínas do soro lácteo de vacas canchim primíparas e pluríparas. *Ciênc. Anim. Bras.* [online] 2009; (Supl.1), 220-23 [citado em 2015 Mai 16]. Disponível em: [www.vet.ufg.br](http://www.vet.ufg.br)
  5. Oliveira DS, Timm CD. Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida. *RPCV*. [online]. 2007; 102(561-562):17-2 [citado em 22 jun 2015]. Disponível em: [http://www.fmv.utl.pt/spcv/edicao/6\\_2007/17-22.htm](http://www.fmv.utl.pt/spcv/edicao/6_2007/17-22.htm).
  6. Poppi FA, Costa MR, Rensisc CMVB, Sivierid K. Soro de Leite e Suas Proteínas: Composição e Atividade Funcional. *Cient Ciênc Biol Saúde* [online]. 2010;12(2):31-7 [citado em 2015 Abr 05]. Disponível em: [www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/biologicas/article/.../1299](http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/biologicas/article/.../1299).
  7. Vargas DP, Nornberg JL, Ritt LA, Sheibler RB, Rizzo FA, Milani MP. Potencialidades funcionais e nutracêuticas das proteínas do leite bovino. *REGET* [online]. 2014; 18(5):25-35 [citado em 2015 Jul 5]. Disponível em: [cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/reget/article/.../pdf](http://cascavel.ufsm.br/revistas/ojs-2.2.2/index.php/reget/article/.../pdf).
  8. Pescuma M, Hebert EM, Mozzi F, Valdez GF. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*. 2010;141(1-2):73-81.
  9. Wijayanti HB, Bansal N, Deeth HC. Stability of Whey Proteins during Thermal Processing: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* [online]. 2014; 13(6):1-5 [citado em 2015 Jun 29]. Disponível em: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1541-4337.12110/epdf>
  10. Fox PF, Guinee TP, Cogan TM, McSweeney PLH. *Fundamentals of cheese science*. New York: Aspen, 2000. p.25-78.
  11. Haque E, Chand R. Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins. *Eur Food Res Technol*. 2008; 227(1):7-15.
  12. Smolenski, G., S. Haines, F. Y. Kwan, J. Bond, V. Farr, S. R. Davis, K. Stelwagen, and T. T. Wheeler. Characterisation of host defence proteins in milk using a proteomics approach. *J. Proteome Res* [online]. 2007. 6:207–15 [citado em 2015 Mai 19]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17203965](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17203965).
  13. Stelwagen K, Carpenter E, Haigh B, Hodgkinson A, Wheeler TT. Immune components of bovine colostrum and milk. *J Anim Sci* [online]. 2009; 87(Suppl. 1):3-9 [citado em

- 2015 Mai 29]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18952725](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18952725). doi:[10.2527/jas.2008-1377](https://doi.org/10.2527/jas.2008-1377).
14. Juliano RS, Fioravanti MCS, Fagliari JJ, Silva PC, Silva LAF. Proteinograma sérico de bovinos da raça Curraleiro. *Arq Bras Med Vet Zootec* [online] 2009; 61 (3): 533-38 [citado em 2015 Abr 28]. Disponível em: [www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n3/02.pdf](http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v61n3/02.pdf).
  15. Oliveira ENA, Santos DC, Oliveira AS, Sousa FC. Composição físico-química de leite em diferentes fases de lactação. *Rev. Acad. Ciênc. Agrar. Ambient* [online] 2010; 8 (4):409-15 [citado em 2015 Mai 28]. Disponível em: [www2.pucpr.br/reol/index.php/ACADEMICA?dd1=4512&dd99](http://www2.pucpr.br/reol/index.php/ACADEMICA?dd1=4512&dd99).
  16. Nagpal R, Behare P, Rana R, Kumar A, Kumar M, Arora S, Morotta F, Jain S, Yadav H. Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: an update. *Food & Function* [online]. 2011;2(1):18-27 [citado em 2015 Jun 11]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c0fo00016g> PMID :21773582
  17. Wheeler TT, Smolenski GA, Harris DP, Gupta SK, Haigh BJ, Broadhurst MK, Molenaar AJ, Stelwagen K. Host-defence-related proteins in cows' milk. *Animal*. [online]. 2012;6(3):415-22 [citado em 2015 Mai 11]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22436220](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22436220). doi: [10.1017/S1751731111002151](https://doi.org/10.1017/S1751731111002151)
  18. Fagliari JJ, Silva SL. Hemograma e proteinograma plasmático de equinos hígidos acometidos por abdômen agudo, antes e após laparotomia. *Arq Bras Med Vet Zootec* [online] 2002; 54 (6): 559-86 [citado em 11 maio 2015]. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-0935200200060001](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-0935200200060001).
  19. Ibeagha-Awemu EM, Ibeagha AE, Messier S, Zhao X. Proteomics, genomics, and pathway analyses of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* infected milk whey reveal molecular pathways and networks involved in mastitis. *J Proteome Res.* [online]. 2010; 9 (9): 4604-19 [citado em 2015 Jun 13]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20704270](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20704270).
  20. Sant´ana VAC. Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade. [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo; 2004.
  21. Anema S. G. The use of ‘‘Lab-on-a-chip’’ microfluidic SDS electrophoresis technology for the separation and quantification of milk proteins. *Int Dairy J.*[online]. 2009; 19:198–204 [citado em 2015 Abr 11]. Disponível em: [www.sciencedirect.com/.../pii/S0958694608002045](http://www.sciencedirect.com/.../pii/S0958694608002045).
  22. Nguyen T, Kwak S, Karpowicz SJ. Re-use of commercial microfluidics chips for DNA, RNA, and protein electrophoresis. *Biotechniques.* [online]. 2014;57(5):267-71 [citado em 2015 Jun 11]. Disponível em: [www.biotechniques.com](http://www.biotechniques.com).
  23. Wu D, Qin J, Lin B. Electrophoretic separations on microfluidic chips. *J Chromatogr* [online]. 2008;1184:542-59 [citado em 2015 Abr 11]. Disponível em: [www.sciencedirect.com/.../pii/S0021967307021061](http://www.sciencedirect.com/.../pii/S0021967307021061).

24. Sant'ana VAC, Birgel EH. Obtenção do soro lácteo para o fracionamento das proteínas por eletroforese em gel de poliacrilamida. Congresso Latinoamericano de Buiatria. Congresso Brasileiro de Buiatria. Congresso Nordeste de Buiatria. Salvador, Brasil. Salvador: Associação Brasileira de Buiatria, 2003. p.31.
25. Farrell HM, Jr., Jimenez-Flores R, Bleck GT, Brown EM, Butler JE, Creamer LK, et al. Nomenclature of the proteins of cows' milk-sixth revision. *J Dairy Sci* [online]. 2004; 87(6):1641-74 [citado em 2015 Abr 10]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15453478](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15453478).
26. Pardo MF, Natalucci CL. Electrophoretic analysis (Tricine-SDS-PAGE) of bovine caseins. *Acta Farm Bonaerense* [online]. 2002; 21(1):57-60 [citado em 2015 Abr 15]. Disponível em: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/1/LAJOP\\_21\\_1\\_2\\_1\\_773LCH4\\_215.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/1/LAJOP_21_1_2_1_773LCH4_215.pdf).
27. Magalhães MA. Determinação de fraude de leite com soro de leite pela análise de CMP e Pseudo-CMP por cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa com detecção por espectrometria de massa. [dissertação]. Universidade Federal de Viçosa - MG, 2008.
28. Niero R, Malheiros A. Métodos de separação e identificação de princípios ativos naturais. V Simpósio Iberoamericano de Plantas Mediciniais, Itajaí, out, 2010.
29. Nitsche R. Milk protein analysis with the Agilent 2100 Bioanalyzer and the Agilent Protein 80 kit. Publication Number 5990-8125EN. Published in USA, 2011. Disponível em: [www.agilent.com/cs/library/.../5990-8125EN.pdf](http://www.agilent.com/cs/library/.../5990-8125EN.pdf).
30. Li X, Ding XZ, Wan YL, Liu YM, Du GZ. Comparative proteomic changes of differentially expressed whey proteins in clinical mastitis and healthy yak cows. *Genet Mol Res* [online]. 2014;13(3):6593-601 [citado em 2015 Jun 25]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25177940](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25177940).
31. Sgarbieri VC. Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. *Braz. J Food Technol* [online]. 2005; 8(1): 43-56 [citado em 2015 Mai 2]. Disponível em: [moodle.stoa.usp.br/mod/resource/view.php?id=38848](http://moodle.stoa.usp.br/mod/resource/view.php?id=38848).
32. Stipp AT, Bignardi PR, Poli-Frederico RC, Silvieri K, Costa MR. Polimorfismos genéticos da kappa-caseína e da beta-lactoglobulina e produção de leite em bovinos. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* [online]. 2013; 65(1):275-280 [citado em 2015 Mai 26]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102).
33. Botelho M, Valente-Mesquita VL, Oliveira, KMG. Pressure denaturation of  $\beta$ -lactoglobulin. Different stabilities of isoforms A and B, and an investigation of the Tenford transition. *Eur. J. Biochem.* 2000; 267:2235-41.
34. Alomirah HF, Alli I. Separation and characterization of  $\beta$ -lactoglobulin and  $\alpha$ -lactalbumin from whey and whey protein preparations. *Int Dairy J.* 2004;14: 411-419.
35. Kalorey DR, Kurkure NV, Nigot NK, Patil MP, Pathak VP. Effect of subclinical mastitis on milk of cross bred sahiwal  $\times$  Jersey cows: A biochemical study. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* [online]. 2001; 14(3): 382-3 [citado em 2015 Ago 02]. Disponível em:

<http://ajas.info/upload/pdf/14-58.pdf>.

36. Raimondo RFS, Miyashiro SI, Mori CS, Birgel Júnior EH. Proteínas do soro lácteo de vacas da raça Jersey durante a lactação. *Pesq Vet Bras.* [online]. 2013; 33(1):119-125. [citada em 2015 Mai 2]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100).
37. Sobczuk-Szul M, Wielgosz-Groth Z, Nogalski Z, Pogorzelska-Przybyłek P. Changes in the content of whey proteins during lactation in cows milk with a different somatic cells count. *Veterinarija ir Zootechnika (Vet Med Zootec)* [online]. 2014;65(87):79-84 [citado em 2015 Ago 2]. Disponível em: <http://vetzoo.lva.lt/data/vols/2014/65/pdf/sobczuk.pdf>.
38. Dessauge F, Lollivier V, Ponchon B, Bruckmaier R, Finot L, Wiant S, Cutulic G, Dischauer C, Barbeau S, Boutinaud NY. Effects of nutrient restriction on mammary cell turnover and mammary gland remodeling in lactating dairy cows. *J Dairy Sci* [online]. 2011; 94(1):4623-35 [citado em 2015 Ago 02]. Disponível em: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21854935](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21854935).
39. Costa FF, Brito MAVP, Furtado MAM, Martins MF, Oliveira MAL, Barra PMC, Garrido LA, Santos ASO. Microfluidic chip electrophoresis investigation of major milk proteins: study of buffer effects and quantitative approaching. *Anal. Methods.* [online]. 2014; 6(1):1666-73 [citado em 2015 Mai 12]. Disponível em: <http://pubs.rsc.org/en/Content/ArticleLanding/2014/AY/c3ay41706a/div/Abstract>.
40. Gonçalves RC, Paes PRO, Almeida CT, Fontequê JH, Lopes RS, Kuchembuck MRG, Crocci AJ. Influência da idade e sexo sobre o hemograma, proteínas séricas totais, albumina e globulina de bovinos sadios da raça Guzará (*Bos indicus*). *Vet Not* [online]. 2001; 7 (1): 61-8 [citado em 2015 Jul 11]. Disponível em: [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title)
41. Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 62 de 29 dezembro de 2011. Regulamento técnico de identidade e qualidade do leite. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de dez. de 2011, Seção 1, p.6-11.
42. Gigante ML, Costa MR. Influência das células somáticas nas propriedades tecnológicas do leite e derivados. III Congresso Brasileiro de Qualidade do leite; 2009; Recife, Brasil. CCS Gráfica e Editora, 2008. Disponível em: <http://cbql.com.br/biblioteca/cbql3/IIICBQL161.pdf>.
43. Markus R, Olivier B, Haan EHF. Whey protein rich in  $\alpha$ -lactalbumin increases the ratio of plasma tryptophan to the sum of the other large neutral amino acids and improves cognitive performance in stress-vulnerable subjects. *Am J Clin Nutr.* 2002;75:1051-6.
44. Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr.* 2003;77(6):1537-43.
45. Verrier E, Tixier-Boichard M, Bernigaud R, Naves M. Conservation and value of local livestock breeds: usefulness of niche products and/or adaptation to specific environments.

- Agri [online]. 2005;36:21-31 [citado em 2015 Set 20]. Disponível em: [www.fao.org/docrep/008/a0070t/a0070t07.htm](http://www.fao.org/docrep/008/a0070t/a0070t07.htm)
46. Oldenbroek JK. Genebanks and the conservation of farm animal genetic resources. *Inst Anim Sci Health*.1999. Disponível em: <http://www.slu.se/PageFiles/46263/CRUre17.pdf>.
47. Fernandes S, Siqueira ER, Domingues PD, Pilan GJG. Efeitos da nutrição, idade a desmama e mastite sobre a qualidade do colostro e leite de ovelhas. *Vet. Zootec*. [online]. 2013;20(4): 615-23 [citado em 2015 Set 10]. Disponível em: [www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/download/343/494](http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz/article/download/343/494).
48. Amaral JB, Charles TP, Paiva e Brito MAVP. Detecção de soroalbuminas e imunoglobulinas no leite bovino como indicadores de mastite subclínica. *Cienc Rural* [online]. 1995; 25 (1):93-7 [citado em 2015 Set 17]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v25n1/a18v25n1.pdf>.
49. Liu GL, Wang JQ, Bu DP, Cheng JB, Zhang CG, Wei HY, et al. Factors affecting the transfer of immunoglobulin G1 into the milk of Holstein cows. *Vet J*. 2009;182(1):79-85.
50. Barini AC. Bioquímica sérica de bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça Curraleiro de diferentes idades. [Dissertação]. 2007. Universidade Federal de Goiás.
51. Borges AC. Componentes sanguíneos de bovinos (*Bos taurus*) sadios da raça Pantaneira, em diferentes faixas etárias, criados extensivamente. [Dissertação]. 2008. Universidade Federal de Goiás.
52. Silva EB FM, Silva LAF, Araújo EG, Menezes LB, Miguel MP, Vieira D. Leukocyte characteristic, albumin/globulin relation, plasmatic protein and fibrinogen of bovines of the Nelore race confined and grazing. *Cienc Rural*. [online]. 2008;38(8):2191-6 [citado em 2015 Jun 19]. Disponível em: [www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782008000800016&script](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-84782008000800016&script).
53. Hagiwara S, Kawai K, Anri A, Nagahata H. Lactoferrin concentrations in milk from normal and subclinical mastitic cows. *J Vet Med Sci*. 2003;65(3):319-23.
54. Cheng JB, Wang JQ, Bu DP, Liu GL, Zhang CG, Wei HY, et al. Factors affecting the lactoferrin concentration in bovine milk. *J Dairy Sci*. 2008;91(3):970-6.
55. Giacinti G BL, Ronchi B, Bernabucci U. Lactoferrin concentration in buffalo milk. *Ital J Anim Sci*. [online]. 2013;12(1):1-23 [citado em 2015 Jun 11]. Disponível em: <http://www.aspajournal.it/index.php/ijas/article/view/ijas.2013.e23>.
56. Liu G ZC, Wang J, Bu D, Zingyun Z, Zhao S, Li S. Canonical correlation of milk immunoglobulins, lactoferrin concentration and Dairy Herd Improvement data of Chinese Holstein cows. *Livestock Sci*. [online]. 2010;128 (1–3):197–200 [citado em 2015 Jul 10]. Disponível em: [www.sciencedirect.com/.../pii/S1871141309003722](http://www.sciencedirect.com/.../pii/S1871141309003722).

## CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Estudar e investigar as potencialidades das raças bovinas Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro pode ser compreendido como ato de investir em conservação, documentação, registro e valorização econômica do que é próprio do Brasil, em atenção aos recursos genéticos locais e às populações envolvidas.

Tão grande quanto o interesse pela exploração de leite, ou carne ou mesmo pelo emprego dos animais em atividades de tração, é o desejo de desvendar o que era marginalizado, o que era tido como de menor valor. Pelo linguajar rotineiro, raças como Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro já carregam em si adjetivos desfavoráveis, que não se enquadravam na classificação de gado de elite ou de gado de regiões apropriadas, não eram considerados para produção de alimentos.

No entanto, estes animais abrigam potencialidades invisíveis aos olhos e às mentes convencionais. Bastava o mais difícil: acreditar e investigar. Acreditando, foi possível ver a expressão de raças aos diferentes *habitats* e manejos, menos apropriados à produção leiteira, mas passíveis de exploração ao recurso genético que representam. Por acreditar foi possível avaliar a glândula mamária de fêmeas consideradas somente mães e com baixa produção de alimento para a cria. Acreditando, houve o registro da raça junto ao MAPA.

Por acreditar, sem objetivar o enfado da expressão, identificou-se que o leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro tem características divergentes das demais raças habilitadas à produção leiteira, mas não piores, ressaltando a diversidade para composição física, química e biológica desta matéria-prima.

Conhecer, detalhar e conservar a biodiversidade é responsabilidade mundial, preconizada pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Por consequência, inicialmente registrar e divulgar as características raciais quanto ao leite produzido em condições naturais, por animais não submetidos aos preceitos intensivistas é vital e predispõe a colaborar para a produção de alimentos do mundo.

De acordo com os resultados encontrados neste estudo, foi possível caracterizar as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro quanto à sanidade da glândula mamária e aos aspectos que envolvem a qualidade do leite produzido. Apesar da aptidão mista das raças, a produção leiteira ainda é pouco explorada, entretanto, acredita-se que melhorias no manejo e alimentação destes animais possam influenciar significativamente na produção e qualidade

do leite em ambas as raças, ampliando o uso do leite para além dos animais recém-nascidos e sim para as famílias.

A partir da avaliação da sanidade da glândula mamária foi possível identificar a ocorrência de casos de mastite na forma clínica e subclínica, com envolvimento predominante de microrganismos de origem ambiental, o que era esperado para as propriedades onde não havia exploração leiteira. Salienta-se que as raças sugerem diferenciação para os padrões nacionais de classificação de mastite, no que tange aos indicadores, o que permite supor mais resistência da glândula mamária.

Verifica-se desta forma, a necessidade de acompanhamento dos animais de ambas as raças no manejo diário de ordenha para observação do nível de produtividade, além dos critérios anatômicos, fisiológicos e imunológicos que envolvem a sanidade da glândula mamária e qualidade do leite a fim de estabelecer o comportamento que as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro apresentam frente à ordenha diária e os microrganismos ambientais e contagiosos.

A adoção de estratégias simples no monitoramento, controle e prevenção da mastite nos rebanhos como os testes da caneca telada, CMT e os procedimentos de obtenção higiênica do leite devem ser difundidos às populações que utilizam as raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro como subsistência ou geração de renda, sendo fundamental para a garantia de inocuidade ao leite e também para seu aproveitamento artesanal ou como iniciadores de culturas em cunho industrial. A investigação contínua destes parâmetros permite relacionar o estado sanitário do rebanho, a higiene dos processos e o perfil natural do leite estudado.

O emprego da eletroforese microfluídica permitiu o reconhecimento das frações proteicas do soro lácteo obtendo características quanto ao peso molecular, concentração e tempo de migração das proteínas no soro. Foi possível observar o efeito da mastite sobre o processo de síntese e secreção de leite, com a elevação de constituintes de origem sanguínea no leite como albumina, imunoglobulina G e lactoferrina, consequência do aumento da permeabilidade vascular na glândula mamária durante o processo inflamatório.

Cabe ressaltar que as observações deste estudo não buscaram estabelecer parâmetros para as raças avaliadas e sim evidenciaram características até então desconhecidas para estes rebanhos.

Diante disso, verifica-se a necessidade de mais informações e estudos sobre os aspectos ligados à produtividade e qualidade do leite, na tentativa de esclarecer as particularidades das raças, quanto adaptação, resistência e rendimento, bem como quanto ao perfil das bactérias naturalmente presentes no leite e que podem caracterizar grupos

bacterianos capazes de inibir microrganismos patogênicos e deteriorantes, bem como podem aumentar a resistência da glândula à doença.

O quesito composição da microbiota do leite destas raças é outro parâmetro de valor a ser considerado no âmbito de recursos genéticos e de ecossistemas diversos para uso biotecnológico, tanto para alimentos de origem animal, quanto para o beneficiamento de alimentos de origem vegetal. A pesquisa dos microrganismos de desejáveis, selecionados no leite das duas raças, deve ser o próximo passo.

Não menos importante, cabe reforçar que a valorização das raças carrega em si outro fator de cunho social, de forma explícita a valorização dos indivíduos que convivem com os animais: tratadores, peões, proprietários, técnicos e pesquisadores. A caracterização, neste caso, positiva, faz com que todos os agentes envolvidos sejam impulsionados à transformação, uma vez que há a sinalização de que algo melhor pode vir em um futuro próximo, se houver empenho, trabalho, conhecimento e dedicação.

O leite destas raças, a partir das constatações feitas por este estudo, deixará de ser denominado como “leite de pedra” e passará a ser conhecido como leite produzido por gado Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, com possíveis benefícios à produção de subprodutos e, quem sabe, corroborando aos anseios dos que acreditam, possa ser um excelente recurso para produção, maturação e conservação de queijos, por exemplo, considerando suas características físico-químicas e os prováveis microrganismos naturalmente presentes no interior da glândula que denotou qualidade.

## **ANEXOS**

TABELA 1- Composição centesimal do leite de fêmeas Curraleiro Pé-Duro, sob ação de ocitocina ou não nas colheitas de amostras 12 e 13

Colheita de amostras	Ocitocina													
	Ordenha sem aplicação							Ordenha com aplicação						
	Animal	Gordura	Proteína	Lactose	EST	ESD	CCS	Animal	Gordura	Proteína	Lactose	EST	ESD	CCS
12	8	0,7	3,51	4,74	9,9	9,2	15.000	1	3,58	3,69	4,94	13,2	9,62	6.000
	14	1,17	3,05	4,26	9,46	8,29	14.000	12	4,42	3,76	4,66	13,86	9,44	28.000
	23	1,25	3,67	4,84	10,7	9,45	53.000	22	4,34	3,58	4,32	13,22	8,88	1.237.000
	24	0,48	3,57	4,92	9,89	9,41	7.000	54	3,27	3,59	4,9	12,74	9,47	6.000
	25	0,85	3,87	4,83	10,47	9,62	57.000	62	5,21	4,33	4,67	15,23	10,02	30.000
	28	1,75	3,79	4,98	11,49	9,74	12.000	95	4,7	3,13	4,92	13,78	9,08	11.000
	33	0,68	3,6	5,00	10,19	9,51	3.000	100	4,22	3,63	4,83	13,68	9,46	25.000
	34	0,73	3,27	4,79	9,72	8,99	232.000	266	4,46	3,73	4,14	13,34	8,88	965.000
	35	1,71	3,84	4,04	10,55	8,84	609.000							
	40	0,58	3,91	4,78	10,21	9,63	3.000							
	42	0,63	3,47	4,54	9,58	8,95	631.000							
	44	1,98	3,3	4,21	10,45	8,47	263.000							
	46	0,71	3,42	4,79	9,85	9,14	10.000							
	47	0,95	3,79	5,00	10,66	9,71	150.000							
	48	0,59	3,57	5,07	10,14	9,55	1.000							
	65	1,08	3,76	4,54	10,32	9,24	127.000							
	68	1,79	4,07	4,58	11,41	9,62	128.000							
91	0,97	3,54	3,54	9	8,03	1.270.000								
111	1,38	3,69	4,78	10,81	9,43	35.000								
154	0,74	3,08	4,61	9,36	8,62	202.000								
	<b>Média</b>	<b>1,04</b>	<b>3,59</b>	<b>4,64</b>	<b>10,21</b>	<b>9,17</b>	<b>191100</b>	<b>Média</b>	<b>4,28</b>	<b>3,68</b>	<b>4,67</b>	<b>13,63</b>	<b>9,36</b>	<b>288500</b>
13	14	0,45	3,45	4,89	9,71	9,26	16.000	16	3,27	3,59	4,68	12,56	9,29	23.000
	22	2,01	3,92	4,11	11,04	9,03	891.000	24	2,53	3,57	4,7	11,8	9,27	29.000
	54	2,17	3,88	4,8	11,83	9,66	17.000	25	5,06	3,79	4,83	14,67	9,61	12.000
	71	0,84	3,26	3,75	8,81	7,97	1.399.000	34	1,96	3,43	4,73	11,09	9,13	241.000
	90	0,93	4,07	4,66	10,59	9,66	19.000	39	2,41	3,91	4,5	11,82	9,41	426.000
								40	1,37	4,3	4,6	11,23	9,86	5.000
								42	1,44	3,72	4,71	10,83	9,39	123.000
								46	2,1	3,55	4,66	11,29	9,19	111.000
								48	3,96	3,9	4,85	13,74	9,78	12.000
								68	4,47	4,09	4,39	13,97	9,5	71.000
							78	2,22	3,6	4,56	11,37	9,15	129.000	
							96	4,06	3,26	4,03	12,37	8,31	513.000	
							153	1,46	4,37	4,67	11,46	10	9.000	
							154	2,54	3,21	4,53	11,3	8,76	193.000	
							252	2,84	3,69	4,75	12,27	9,43	74.000	
	<b>Média</b>	<b>1,28</b>	<b>3,72</b>	<b>4,44</b>	<b>10,40</b>	<b>9,12</b>	<b>468.400</b>	<b>Média</b>	<b>2,78</b>	<b>3,73</b>	<b>4,61</b>	<b>12,12</b>	<b>9,34</b>	<b>131.400</b>
*	<b>Total</b>	<b>1,08</b>	<b>3,61</b>	<b>4,60</b>	<b>10,25</b>	<b>9,16</b>	<b>246.560</b>	<b>Total</b>	<b>3,30</b>	<b>3,71</b>	<b>4,63</b>	<b>12,64</b>	<b>9,34</b>	<b>186.043</b>

QUADRO 1- CCS dos animais da raça Curraleiro Pé-Duro durante as colheitas de amostras realizadas no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2014

Animal	Colheita	CCS	Animal	Colheita	CCS	Animal	Colheita	CCS
1	1	302.000	25	5	11.000	41	1	5.000
	2	1.223.000		6	28.000		2	9.000
	3	787.000		11	1.000		3	34.000
	4	62.000		12	53.000	4	4.000	
	5	48.000	26	2	212.000	5	4.000	
	9	65.000		4	12.000	6	4.000	
	10	30.000		5	25.000	42	10	9.000
	11	55.000	6	4.000	11		2.000	
	12	6.000	8	83.000	12		631.000	
2	2	48.000		12	7.000		13	123.000
	4	3.000		13	29.000	43	1	14.000
	6	4.000	27	4	5.000		2	5.000
3	4	205.000		11	4.000		3	4.000
	4	10		2.617.000	12	57.000	4	10.000
6		1	10.000		13	12.000	5	7.000
	3	4.000	28	7	69.000	6	9.000	
	4	4.000		29	5	660.000	44	2
	5	28.000	6		4.188.000	12	263.000	
	6	27.000	9		266.000	45	9	23.000
	10	170.000	11		30.000	46	4	12.000
	11	11.000	12		12.000	6	274.000	
	8	9	8.000		30	4	165.000	12
11		80.000	5	193.000		13	111.000	
12		15.000	6	193.000		47	9	105.000
9	6	10.000	31	11	2.000		11	9.000
10	2	245.000	32	3	63.000		12	150.000
12	9	33.000		4	293.000	48	10	2.000
	11	17.000		5	359.000		11	1.000
	12	28.000		6	226.000		12	1.000
14	11	1.534.000		7	39.000	13	12.000	
	12	14.000	33	8	199.000	51	2	123.000
	13	16.000		1	880.000	52	6	5.000
16	3	29.000			3	132.000	53	7
	11	33.000		12	3.000	54	1	102.000
	13	23.000	34	10	145.000		6	3.000
18	9	24.000		12	232.000		10	22.000
	19	2		22.000	13	241.000	11	2.000
20	2	26.000	36	9	71.000	12	6.000	
	3	11.000	38	9	37.000	13	17.000	
	4	51.000	39	13	426.000	55	9	1.033.000
	5	9.000	40	1	54.000	56	9	174.000
	6	5.000		3	29.000	58	3	91.000
	7	6.000		8	21.000	6	3.000	
	9	24.000		9	28.000	9	91.000	
22	12	1.237.000		10	11.000	62	9	65.000
	13	891.000		11	2.000		12	30.000
23	9	26.000		12	3.000	63	2	59.000
24	12	609.000		13	5.000		10	23.000

QUADRO 1- CCS dos animais da raça Curraleiro Pé-Duro durante as colheitas de amostras realizadas no período de janeiro de 2013 a janeiro de 2014 (continuação)

<b>Animal</b>	<b>Colheita</b>	<b>CCS</b>	<b>Animal</b>	<b>Colheita</b>	<b>CCS</b>	
<b>65</b>	1	21.000	<b>99</b>	8	319.000	
	9	31.000		<b>100</b>	12	25.000
	10	508.000		<b>101</b>	10	242.000
	12	127.000			11	9.000
<b>68</b>	9	84.000	<b>107</b>	10	684.000	
	11	5.000	<b>111</b>	12	35.000	
	12	128.000	<b>123</b>	10	11.000	
	13	71.000	<b>153</b>	10	723.000	
<b>71</b>	1	44.000		13	9.000	
	13	4.399.000	<b>154</b>	10	90.000	
<b>72</b>	9	37.000			11	31.000
	<b>73</b>	1		2.105.000		12
2		739.000			13	193.000
<b>74</b>	1	3.741.000	<b>162</b>	2	44.000	
<b>75</b>	6	8.000			11	85.000
<b>78</b>	6	4.000	<b>171</b>	10	12.000	
	7	20.000	<b>174</b>	7	273.000	
	13	129.000	<b>174</b>	8	848.000	
<b>79</b>	1	30.000	<b>235</b>	10	7.000	
<b>82</b>	3	4.069.000			11	11.000
	10	26.000	<b>251</b>	4	80.000	
<b>84</b>	7	6.000			6	11.000
	8	62.000	<b>252</b>	13	74.000	
<b>85</b>	6	6.000	<b>259</b>	7	627.000	
	7	3.000			10	464.000
	10	146.000			11	455.000
<b>89</b>	8	48.000		8	71.000	
	10	365.000	<b>260</b>	10	13.000	
<b>90</b>	13	19.000	<b>260</b>	11	2.548.000	
<b>91</b>	12	1.270.000	<b>263</b>	9	26.000	
<b>95</b>	7	8.000			10	115.000
	12	11.000			11	8.000
<b>96</b>	6	27.000	<b>266</b>	2	960.000	
	13	513.000			12	965.000
<b>97</b>	7	1.000	<b>268</b>	7	11.000	
	8	17.000	<b>282</b>	10	305.000	
<b>98</b>	1	237.000	<b>283</b>	7	100.000	
	3	28.000			8	8.000
	4	10.000	<b>293</b>	5	13.000	
	5	19.000				
	6	39.000				
	7	5.000				
	8	8.000				

QUADRO 2- CCS dos animais da raça Pantaneiro durante as colheitas de amostras realizadas no período de novembro de 2013 a maio de 2014

<b>Animal</b>	<b>Colheita</b>	<b>CCS</b>	<b>Animal</b>	<b>Colheita</b>	<b>CCS</b>	<b>Animal</b>	<b>Colheita</b>	<b>CCS</b>
<b>955</b>	2	762.000	<b>1878</b>	2	1.000	<b>9372</b>	2	3.000
	3	21.000		3	29.000		3	24.000
<b>981</b>	2	351.000	<b>1904</b>	3	44.000	<b>9373</b>	2	70.000
	3	3.000		<b>1932</b>	2		122.000	3
<b>1074</b>	2	1.585.000	<b>1933</b>	1	130.000	<b>9539</b>	2	1.300.000
	3	3.000		<b>1934</b>	1		11.000	3
<b>1097</b>	2	128.000		2	5.000	<b>9518</b>	2	4.000
	3	6.000		3	4.000		3	14.000
<b>1140</b>	3	3.000	<b>2004</b>	2	579.000	<b>9573</b>	2	2.912.000
<b>1156</b>	1	793.000	<b>2153</b>	2	656.000		3	47.000
	2	307.000	<b>2167</b>	2	3.000	<b>9582</b>	2	344.000
	3	77.000	<b>7630</b>	2	550.000		3	239.000
<b>1178</b>	2	1.000		3	973.000	<b>9611</b>	2	3.000
	3	2.000	<b>7639</b>	1	243.000		3	416.000
<b>1204</b>	2	876.000		2	3.855.000	<b>9634</b>	3	3.585.000
	3	103.000		3	3.218.000	<b>9839</b>	2	13.000
<b>1351</b>	1	12.000	<b>8056</b>	1	389.000	<b>9840</b>	3	21.000
	3	667.000		2	2.000	<b>9844</b>	2	5.000
<b>1623</b>	2	5.000		3	316.000		3	3.000
	3	26.000	<b>8060</b>	2	3.000	<b>9846</b>	2	81.000
<b>1679</b>	2	198.000		3	677.000	<b>9848</b>	2	39.000
<b>1681</b>	1	445.000	<b>8104</b>	3	3.000	<b>9901</b>	1	157.000
	2	218.000	<b>8237</b>	1	93.000		3	3.000
	3	218.000		2	3.000		2	34.000
<b>1685</b>	2	162.000		3	49.000	<b>9903</b>	3	11.000
	3	12.000	<b>8879</b>	2	278.000		2	3.000
<b>1686</b>	2	868.000		3	189.000	<b>9904</b>	1	62.000
<b>1687</b>	1	41.000	<b>8925</b>	1	176.000		3	10.000
	2	132.000		2	3.515.000		2	894.000
	3	18.000			3	9.000	<b>9948</b>	2
<b>1707</b>	2	1.000		2	7.000	<b>9963</b>	2	3.000
<b>1709</b>	2	11.000	<b>9171</b>	1	3.000			
<b>1710</b>	1	10.000		2	821.000			
	2	210.000		3	88.000			
	3	52.000	<b>9191</b>	3	3.000			
<b>1763</b>	1	17.000	<b>9322</b>	2	1.000			
	2	464.000		3	21.000			
	3	717.000	<b>9323</b>	3	38.000			