



Título da Pesquisa: Utilização de fitoterápicos no manejo pré e pós - dipping durante a ordenha de bovinos de leite em diferentes períodos do ano

Palavras-chave: CCS, característica físico-química, mastite, qualidade do leite

Campus: Bambuí

Campus: Bambuí

Financiador: CNPq

Bolsista (as): Gian Carlos Nascimento (PIBIC), Flávia Helisa Miranda (PIBICJr.)

Professor Orientador: Rafael Bastos Teixeira

Área de Conhecimento: Produção Animal, Qualidade do Leite

Resumo: A inflamação das glândulas mamárias, “mastite”, é um dos fatores responsáveis pela perda da qualidade do leite. O trabalho objetivou-se avaliar o efeito de soluções fitoterápicas à base de neem (*Azadirachta indica*) como sanitizante no manejo pré e pós-dipping sobre a contagem de células somáticas (CCS) e composição físico-químicas de vacas leiteiras. O trabalho também teve o objetivo de avaliar a correlação existente entre o escore de esfíncter de teto e produção de leite com as respectivas CCS das amostras de leite das vacas em lactação. A pesquisa foi desenvolvida no setor de bovinocultura de leite do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, campus Bambuí. Utilizou-se doze vacas lactantes da raça Girolando, escolhidas conforme suas respectivas médias de produção de leite diária, distribuídos em um delineamento estatístico em blocos casualizados, sendo quatro tratamentos e três repetições. Os testes foram realizados no programa “Statistical Analysis System” 9.4., submetidos à análise de variância e teste SNK a 5% de significância. Os tratamentos utilizados foram: clorexidina 2,5%, iodo (0,33% para pré-dipping e 0,5% para pós-dipping), emulsão de óleo de neem e “solução fitoterápica” à base de óleo de neem. O uso do iodo como sanitizante pré e pós ordenha levou a uma melhor qualidade do leite, porém não significativa quando comparada a solução fitoterápica e ao óleo de neem.

INTRODUÇÃO: O leite bovino é um dos produtos mais importante no âmbito comercial e industrial do agronegócio. Com toda essa produção, beneficiamento e comercialização do leite, os padrões de qualidade vêm sendo rigorosamente aplicados para minimizar as perdas nas características essenciais do leite cru.

A inflamação das glândulas mamárias, “mastite”, ocasionada principalmente por microorganismos do gênero *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp* e *Corinebacterium sp*. é um dos fatores responsáveis pela perda de qualidade do leite. Estes agentes colonizam o canal do teto das vacas em lactação e propicia o aparecimento da mastite bovina. Segundo Zschöck (2011), a mastite provoca uma série de alterações físico-químicas no leite, dentre as quais destacamos a diminuição no extrato seco total, conseqüentemente o extrato seco desengordurado.

As células somáticas encontradas no leite são células de defesa do organismo (neutrófilos, macrófagos, linfócitos e eosinófilos) e também células epiteliais de descamação da glândula mamária. A mudança na CCS faz parte de um processo natural do mecanismo de defesa do animal e seu aumento indica presença de infecção na glândula, seja de manifestação clínica ou subclínica (ZSCHÖCK et al., 2011).

De acordo com Santos e Fonseca (2007), uma possível causa da ocorrência de casos de mastite está associado ao uso incorreto dos equipamentos de ordenha, gerando assim o que se denomina hiperqueratose. Histologicamente a hiperqueratose corresponde a um aumento da espessura e rugosidade do canal do teto, causado pelo aumento da camada granulosa e da camada córnea acompanhada, de uma infiltração perivascular de linfócitos e granulócitos (SOUSA, 2008). O aumento da espessura das camadas do epitélio constitui a resposta fisiológica do canal dos tetos ao esforço causado pela incorreta pressão do conjunto de ordenha.

Com intuito de minimizar a incidência destas infecções e conseqüentemente, reduzir a CCS, práticas de manejo de ordenha são realizadas diariamente, como por exemplo, a utilização de pré e pós-dipping. O pré-dipping consiste na desinfecção dos tetos antes da ordenha e visa reduzir o número de bactérias neste local que possam contaminar o leite. O pós-dipping é fundamental para remover a película de leite que permanece no teto após a retirada do conjunto de ordenha e auxilia na prevenção de infecções neste canal. Os produtos utilizados com mais frequência nas propriedades produtoras de leite para a desinfecção das tetas são os produtos a base de cloro, principalmente os orgânicos, e o iodo.

Neste trabalho objetivou-se avaliar o efeito de soluções fitoterápicas à base de neem (*Azadirachta indica*) como sanitizante no manejo pré e pós-dipping sobre a CCS e composição físico-químicas de vacas leiteiras. O trabalho também teve o objetivo de avaliar a correlação existente entre o escore de esfíncter de teto e produção de leite com a respectiva CCS das amostras de leite das vacas em lactação.

METODOLOGIA: O trabalho foi desenvolvido no setor de bovinocultura de leite do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, campus Bambuí e teve duração de doze semanas consecutivas, nos meses de abril a junho (outono/inverno). Durante o período experimental foram utilizadas doze vacas lactantes da raça Girolando, escolhidas conforme suas respectivas médias de produção de leite diária, distribuídas em um delineamento estatístico em blocos casualizados, sendo quatro tratamentos e três repetições. Os resultados obtidos foram analisados por meio de análise de variância e teste SNK a 5%, utilizando-se Statistical Analysis System “SAS” 9.4 (FREUND & LITTELL, 2000).

Os tratamentos utilizados no manejo pré e pós-dipping foram: clorohexidina 2,5%, iodo (0,33% pré- dipping e 0,5% pós- dipping), emulsão de óleo de neem (*Azadirachta indica*) e “solução fitoterápica” contendo emulsão de óleo de neem, extrato alcoólico de carqueja (*Baccharis trimera*), barbatimão (*Stryphnodendron adstringens*) e linhaça (*Linum usitatissimum L.*). Para uma melhor eficácia, conseqüentemente, padronização entre os tratamentos, os sanitizantes utilizados como pré e pós – dipping foram renovados a cada dois dias.

O procedimento de coleta do leite seguiu a seguinte seqüência: teste de detecção de mastite clínica, utilizando-se os primeiros jatos de leite; pré-desinfecção dos tetos com os respectivos tratamentos já mencionados; secagem dos tetos com papel toalha e coleta manual de 100mL de leite em um recipiente limpo e seco, contendo um comprimido a base de Bronopol, permitindo a conservação do leite durante o traslado. As amostras de leite foram enviadas para análise da contagem de células somáticas (CCS) e composições físico-química do leite ao Laboratório de Qualidade do Leite da EMBRAPA gado de leite – Juiz de Fora/MG com intervalo de 15 dias. Para obtenção da produção de leite diária dos animais utilizou-se de medidores de leite acoplados ao equipamento de ordenha sendo essa prática realizada duas vezes ao dia, na ordenha da manhã e da tarde.

A composição físico-químicas do leite também foi determinada por ultra-sonografia utilizando o equipamento Ekomilk Total (EON Trading & Bulteh, 2000). Visando uma melhor homogeneização, as amostras de leite foram coletadas na ordenha da tarde utilizando-se medidores de leite acoplados ao equipamento de ordenha durante as doze semanas de execução do presente estudo.

Para a avaliação do escore de hiperqueratose foram analisados 240 quartos funcionais utilizando o modelo proposto por Mein et al., (2001). Este modelo é composto por escore de esfíncter de teto podendo variar de 0 a 3, sendo: escore 0 (nenhum anel ou lesão na extremidade do teto), escore 1 (anel pequeno na extremidade do teto), escore 2 (anel moderado na extremidade do teto) e escore 3 (anel protuberante na extremidade do teto).

Com o objetivo de avaliar a correlação entre os dados de frequência de lesões de esfíncter de tetos com a CCS individual composta dos animais, utilizou-se a análise de correlação de Spearman.

RESULTADOS E DISCUSSÕES: Conforme a Tabela 1, os diferentes sanitizantes diferiram significativamente de acordo com o teste de SNK ($p > 0,05$).

Tabela 1. Avaliação da Contagem de Células Somáticas (mil/mL) entre os diferentes tratamentos e suas respectivas médias de produção de leite (Kg/dia).

Tratamentos	CCS (mil/mL)	Produção de Leite (Kg/dia)
Clorohexidina	654 ^a	16,83 ^a
Óleo de Neem	414 ^b	14,50 ^a
Solução Fitoterápica	342 ^b	17,33 ^a
Iodo	281 ^b	15,37 ^a
CV %	3,02	7,12

*médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p < 0,05$). CV = Coeficiente de variação.

Os resultados demonstram maior Contagem de Células Somáticas no grupo de animais onde se usou como sanitizante a Clorohexidina. Segundo Germano (2003), os compostos clorados, sobretudo os orgânicos, são instáveis e devem ser armazenados em ambientes escuros, bem fechados, em locais bem ventilados e de temperatura não elevada para que não haja diminuição do teor de cloro residual. Além desses fatores, o contato com a luz decompõem os produtos clorados e temperaturas elevadas provocam sua volatilização. Neste estudo, a solução sanitizante de clorohexidina utilizada no pré e pós-dipping foi mantida a temperatura ambiente e acondicionada em frasco plástico translúcido, normalmente utilizado nas salas de ordenha para realização dessas práticas. Fato este pode ter ocasionado a menor eficiência do sanitizante entre aos demais tratamentos.

O óleo de neem, a solução fitoterápica e o iodo utilizados como sanitizante pré e pós ordenha não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) para os níveis de CCS. Entretanto, o iodo utilizado como sanitizante obteve menor índice de CCS nas amostras avaliadas em relação aos demais tratamentos. Os tratamentos onde utilizou-se o óleo de neem, a solução fitoterápica e o iodo estão de acordo com os níveis de CCS preconizados pela normativa N° 62, publicada em 29 de dezembro de 2011 (Brasil, 2011) que visa números menores que 600.000 cel/ml.

Ao correlacionar-se os dados de CCS das amostras de leite das vacas com suas respectivas médias de produção de leite diária, encontrou-se uma correlação negativa de $r = - 0,05136$ ($p < 0,01$), O que dar se a entender que à medida que aumenta a CCS, ocorre redução na produção de leite. Essa diminuição na produção de leite ocorre devido ao agravamento na saúde do úbere dos animais, nas células produtoras de leite e no epitélio secretor, causadas por bactérias contagiosas presentes na glândula mamária (MAGALHÃES et al., 2006).

Os resultados das amostras avaliadas pela EMBRAPA- Juiz de Fora relativos aos diferentes tratamentos em relação aos teores percentuais de gordura, proteína, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado apresentaram diferenças significativas de acordo com o teste de SNK ($P < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2. Resultado das médias de gordura (Gor.), proteína (Pro.), lactose (Lac.), extrato seco total (E.S.T.), extrato seco desengordurado (E.S.D.) em porcentagem do leite entre os tratamentos quando utilizado as análises da EMBRAPA – Juiz de Fora.

TRATAMENTO	Gor. (%)	Pro. (%)	LAC. (%)	E. S. T. (%)	E. S. D. (%)
Clorexidina	1,11 ^b	3,18 ^d	4,16 ^b	9,13 ^b	8,02 ^d
Iodo	1,46 ^b	3,58 ^c	4,42 ^a	10,28 ^a	8,82 ^c
Óleo de Neem	1,82 ^a	4,28 ^a	4,63 ^a	11,66 ^a	9,84 ^a
Solução Fitote.	1,19 ^b	3,80 ^b	4,64 ^a	10,59 ^a	9,40 ^b
CV (%)	40,71	18,25	10,64	9,79	9,83

*medias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste SNK ($p < 0,05$). CV = Coeficiente de variação.

Os menores teores de gordura encontrados nos diferentes tratamentos (Tab. 2) ocorreram em função da coleta das amostras ocorrerem no período inicial da ordenha. Tal resultado pode ser atribuído ao fato de que, no método manual de coleta, coletou-se somente amostra da porção inicial da ordenha; logo, os percentuais de gordura do leite obtido são menores em relação aos percentuais do leite oriundos de ordenha completa. De acordo com Reis (2007), pela gordura ter menor densidade em relação à proteína e à lactose, a gordura do leite apresenta variações percentuais ao longo da ordenha, aumentando no final desta.

Em função do maior nível de CCS encontradas nas amostras de leite obtidas do grupo de animais onde se usou como sanitizante a clorhexidina, obteve-se conseqüentemente, menores médias para os teores de gordura, proteína, lactose, extrato seco total e extrato seco desengordurado. Os resultados obtidos corroboram com os encontrados por Reis (2007), onde justifica a mudança no perfil físico-químico do leite com o aumento da CCS das amostras avaliadas.

Vale a pena salientar que a redução dos valores físico-químicos como caseína, lactose e gordura compromete diretamente o rendimento industrial, principalmente em relação a fabricação de queijos, levando a uma queda de 5% na produção, além de prolongar o tempo de coagulação, firmeza do coágulo, expulsão do soro e taxa de desenvolvimento da acidez (LIMA et al., 2006).

Os resultados relativos aos diferentes tratamentos em relação aos teores percentuais de gordura, proteína, lactose, extrato seco desengordurado do leite utilizando ultra - sonografia por meio do equipamento Ekomilk Total apresentaram diferenças significativas de acordo com o teste de SNK ($P < 0,05$) (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado das médias de gordura, proteína, lactose, e extrato seco desengordurado em (%) entre os tratamentos estudados utilizando o equipamento Ekomilk Total.

TRATAMENT	GOR.(%)	PRO.(%)	LAC.(%)	E.S.D. (%)
Iodo	3,40 ^a	3,5 ^a	5,26 ^a	9,09 ^a
Clorhexidina	3,39 ^a	3,70 ^a	4,89 ^a	8,68 ^b
Solução Fitot.	4,10 ^a	3,25 ^a	5,22 ^a	9,43 ^a
Óleo de Neem	4,51 ^a	3,71 ^a	5,33 ^a	9,39 ^a

*letras minúsculas comparam médias entre grupos. Médias seguidas de pelo menos uma letra igual não diferem significativamente entre si pelo teste SNK ($p > 0,05$).

Os percentuais de gordura não diferiram significativamente entre os tratamentos estudados, tendo a melhor média o tratamento quando utilizou como pré e pós dipping o óleo de neem.

Os dados avaliados corroboram com os encontrados por Schäellibaum (2000), onde o percentual de gordura tende a diminuir com grande aumento da contagem de célula somática (CCS). Pode-se atribuir a esse fato quando utilizado o tratamento “cloroheixidina” .

Em relação a proteína total do leite não encontro-se diferença significativa entre os tratamentos avaliados. Observa-se (Tab. 3) que as médias de proteína dos tratamentos onde utilizou-se cloroheixidina e óleo de neem, foi superior mas não significativa ao teste de SNK 5%.

Os percentuais de lactose também não sofreram variações, sendo a cloroheixidina (4,89%) a menor média entre os tratamentos estudados. Fatores que rompem o equilíbrio metabólico do úbere como a mastite, podem influenciar marcadamente o conteúdo de lactose do leite (SCHMIDT, 1997).

Os percentuais de extrato seco desengordurado apontaram diferenças significativas diante o teste SNK ($p > 0,05$) (Tabela 3). As melhores médias de extrato seco desengordurado foi apresentada pelos tratamentos onde utilizou fitoterápico como sanitizante pré e pós ordenha.

A queda do extrato seco desengordurado onde se usou cloroheixidina, possivelmente foi ocasionada pela diminuição de lactose e a suposta diminuição da caseína, esse fato pode estar ligado à baixa eficiência da cloroheixidina para minimizar a incidência de mastite.

No presente estudo quando se correlacionou os dados da avaliação de escore de esfíncter de teto com as respectivas CCS houve correlação entre as categorias. Encontrou-se uma correlação positiva, porém não significativa ($p > 0,05$) de 0,045 (4,5%), esses valores corroboram com os resultados encontrados por Araujo et al. (2012), onde também não encontraram correlação do efeito das lesões de esfíncter sobre a CCS do leite entre os animais estudados.

A frequência de lesões de esfíncter dos tetos avaliados foram de 41% com escore 0, 33% com escore 1, 16% com escore 2 e 8% com escore 3. Gleeson (2004), em um experimento onde avaliou 4.148 quartos funcionais, encontrou, 46% com escore 0, 39% com escore 1 e menos de 0,5% com escore 3. Os autores também não verificaram correlações significativas entre a CCS e os escores de esfíncter dos tetos. Os autores justificam seus resultados ressaltando que os rebanhos estudados mantinham controle rigoroso do funcionamento do equipamento de ordenha, fator importante na prevenção de ocorrência de lesões de esfíncter de tetos.

A adoção de métodos alternativos para garantia da sanidade da glândula mamaria, promove a redução de custos e melhorias na qualidade do leite. O óleo de neem associado a outras plantas em soluções de pré e pós-dipping, apresentou ser uma alternativa promissora em nível de campo no monitoramento da qualidade do leite. Segundo Macebo (2002), o óleo de neem é um composto natural onde não possui uma ação residual, apresenta excelente biodisponibilidade e ação antimicrobiana associada à adequada inocuidade.

Conclusões: O trabalho apresentou resultados satisfatórios sobre as propriedades desinfetantes do óleo de neem. Os produtos fitoterápicos mostraram ser uma alternativa promissora para os produtores de leite que pretendem atender aos padrões de qualidade de leite do país. Testes mais aprofundados estão em andamento para verificar as propriedades do neem, da carqueja, do barbatimão e da linhaça, para testar novos grupos controle e conseqüentemente formular um produto fitoterápico que atinja os padrões de qualidade do leite.

A avaliação do escore de esfíncter não teve influência na contagem de células somáticas do leite nas condições estudadas. O bom funcionamento do equipamento de ordenha contribuiu para a integridade do teto, prevenindo assim, as lesões de esfíncter. A manutenção adequada da sobreordenha pode ter garantido a integridade do esfíncter dos tetos das vacas do rebanho avaliado, reduzindo o risco de colonização por patógenos causadores de mastite.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAUJO, V. M.; RANJEL, A. H. N.; MEDEIROS, H. R. MOUTINHO, D. C. M.; ALEXANDRE, M.M; BEZERRA, K. C. **Relação entre a hiperqueratose dos tetos e a ocorrência de mastite sub-clínica.** Archives of Veterinary Science. V. 17, n. 2, p. 73 – 77, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 29 de Dezembro de 2011. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Cru Refrigerado (Revogados os Anexos II e III da Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002).** Diário Oficial da União. Brasília, DF, 2011. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/sda/dipoa/in51.htm>>. Acesso em: 13 jan. 2012.

FREUND, R. J. & LITTELL, R. C. **SAS® System for Regression.** Third Edition, Copyright ©2000, SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA, ALL RIGHTS RESERVED. For additional SAS resources, visit support.sas.com/publishing.

GERMANO, P. M.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** 2ªed. São Paulo: Varela, 2003.

GLEESON, D. E.; MEANEY, W. J.; O'CALLAGHAN, E. J.; et al. **Effect of Teat Hyperkeratosis on Somatic Cell Counts of Dairy Cows.** Intern J Appl Res Vet Med, v. 2, n. 2. 2004.

LIMA, M. C.G.; SENA1, M.J.; MOTA, R.A.; MENDES, E.S.; ALMEIDA, C.C.; SILVA, R.P.P.E. **Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na Região Agreste do Estado de Pernambuco.** Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.73, n.1, p.89-95, jan./mar., 2006.

MANCIBO, F.; HILJE L.; MORA, G.A.; SALAZAR, R. **Biological activity of two Neem (Azadirachta indica A. Juss., Meliaceae) products on Hypsipyla grandella (Lepidoptera: Pyralidae) larvae.** Crop Protection, v.21, p.107-112, 2002.

MAGALHÃES, H. R.; FARO, L. E.; CARDOSO, V. L.; PAZ, C. C. P.; CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. **Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa.** R. Bras. Zootec., v.35, n.2, p.415-421, 2006.

PERES, J.R. **O leite como ferramenta do monitoramento nutricional.** In: Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul,. 2001.

SANTOS M. V. & FONSECA L. F. L. **Estratégias para Controle de Mastite e Melhoria da Qualidade do Leite.** Editora Manole, Barueri. 314p. 2007.

SCHÄELLIBAUM, M. **Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos.** In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2, 2000, Curitiba. Anais... Curitiba: CIETEP/FIEP, 2000. p.21-26.

SCHMIDT, G. H. **Biologia de lactation.** Zaragoza: Acribia, 1971. 307 p.

SOUSA, J. M. B. **A hiperqueratose do canal do teto nas explorações leiteiras portuguesas. Causas e efeitos microbiológicos.** Dissertação de Mestrado, Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. 2008.

ZSCHÖCK, M.; EL-SAYED, A.; EISSA, M.; LÄMMLER, C., CASTAÑEDAVAZQUEZ, H. **Resistencia a penicilina G y oxacilina, de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de mastitis bovina subclínica.** Veterinária México, Coyoacán, v. 42, n. 3, p. 207-217, 2011.