



LEITES NÃO COMERCIALIZÁVEIS

**Caracterização, tratamento químico e inserção
em programas alimentares de vitelos**

José Miguel Domingos Silvestre

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Doutor Fernando Baltazar dos Santos Ortega

Co-orientadora: Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito

Júri:

Presidente: Doutor José Pedro da Costa Cardoso Lemos, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutor Rui José Branquinho de Bessa, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Fernando Baltazar dos Santos Ortega, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor António Pedro Louro Martins, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Lisboa, 2009



LEITES NÃO COMERCIALIZÁVEIS

**Caracterização, tratamento químico e inserção
em programas alimentares de vitelos**

José Miguel Domingos Silvestre

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Doutor Fernando Baltazar dos Santos Ortega

Co-orientadora: Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito

Júri:

Presidente: Doutor José Pedro da Costa Cardoso Lemos, Professor Associado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa.

Vogais: Doutor Rui José Branquinho de Bessa, Professor Auxiliar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor Fernando Baltazar dos Santos Ortega, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutora Maria Luísa Lopes de Castro e Brito, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Doutor António Pedro Louro Martins, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa;

Lisboa, 2009

*“Com Empenho, Dedicção e
Boa Vontade Tudo se Faz”*

Agradecimentos

Para a realização deste trabalho, contei com a ajuda e/ou apoio de várias pessoas, onde cada uma contribui à sua maneira, querendo por isso expressar o meu total sentimento de gratidão nomeadamente:

- Ao Professor Fernando Ortega, pela ajuda, mas principalmente pela confiança depositada na realização deste trabalho, assim como pelos reparos em certos pontos do mesmo;

- À Professora Luísa Brito, pela ajuda, apoio/incentivo e alguma paciência, constantes durante todo o trabalho;

- Ao Sr. Alexandre Arriaga e Cunha, pelo incentivo e pela disponibilidade de recursos humanos, assim como a disponibilidade dos elementos que permitiram a realização deste trabalho. Quero também agradecer a transmissão de algum do seu conhecimento;

- Ao Engenheiro António Castanheira, pelo apoio financeiro, orientação na minha valorização técnica e pelo reconhecimento de todo o meu trabalho;

- Ao Professor Bengala Freire, à Professora Luísa Falcão e Professor Pedro Louro pela ajuda e esclarecimento de dúvidas;

- Aos Professores George Stilwell e ao Professor Saraiva Lima, pela ajuda na avaliação dos parâmetros dos vitelos, assim como pela disponibilidade cedida;

- À Aurora Félix, ao Justino Rodrigues, ao Nuno Martins, à Sandra Querido e ao Francisco Afonso e restantes colegas pela ajuda;

- À futura Mestre em engenharia alimentar Ana Carla Silva pela ajuda e apoio a nível do laboratório;

- À D. Helena e à D. Manuela pela ajuda na preparação do material de laboratório utilizado, assim como pela simpatia cedida;

- Ao António Nabais e Ana Gabriela, futuros Mestres em engenharia alimentar, pela ajuda;

- Ao Jorge Anjos, à Alexandra Carreira, à Paula Cabrita, ao André Barata e ao António Lourenço, Doutores e doutorandos do laboratório de microbiologia por me esclarecerem certas dúvidas ocorridas durante o trabalho;

- À Engenheira Paula Ventura e à empresa Tecadi, pelo patrocínio da maioria das substâncias químicas utilizadas;
- À Engenheira Adelina da Alip, pela disponibilidade no envio de resultados analíticos;
- Ao Doutor Manuel Dargent Figueiredo, pela transmissão de alguns dos seus conhecimentos;
- Ao Engenheiro Pádua e à Engenheira Madalena Miguel, da Saprogal, pela ajuda e transmissão de alguns dos seus conhecimentos;
- Às estagiárias que também estiveram na exploração, nomeadamente à Isaura e à Susana, pela ajuda na pesagem de alguns animais;
- À minha família, pelo apoio na concretização deste trabalho;
- À Sandra Morais, à Carina Santos, à Inês Oliveira e à Rita Mendes, pela ajuda e “discussões” constantes durante todos os anos que frequentei este Instituto;
- À minha “Maria”, futura médica veterinária Ana Figueiredo, pela ajuda, apoio e paciência.

Assim dedico este trabalho a todos os que me ajudaram, assim com a todos os que o valorizaram, em que espero ter agradecido a todos. Desejo também a maior sorte àqueles que referi, assim como aos meus colegas de curso.

A todos um MUITO OBRIGADO.

Resumo

Os leites não comercializáveis são tomados como uma alternativa para a alimentação dos vitelos, tanto do ponto de vista económico, como nutricional e ambiental. Podem no entanto, apresentar problemas, como por exemplo a presença de microrganismos patogénicos. Neste estudo, amostras de leite não comercializável foram analisadas, relativamente à composição nutricional, à concentração microbiológica, de células somáticas e ao pH. Foram testados três níveis de acidificação destes leites (pH 4,5; 5,0 e 5,5) com ácidos orgânicos comerciais (láctico, propiónico, fórmico, e mistura de propiónico e fórmico). Foram também testadas as adições H_2O_2 a 130V (0,14; 0,28; 0,42 e 0,5% v/v), seguidas da adição da catalase. Os melhores resultados foram obtidos através da acidificação do leite a pH=5, com ácido propiónico a 1% (v/v). Este foi então utilizado para acidificar o leite não comercializável ($T < 23^\circ C$) e incluído no programa alimentar dos vitelos. Resultados de caracterização e de alimentação dos vitelos mostram que os leites não comercializáveis constituem uma boa fonte alimentar, contudo apresenta contagens bacterianas muito elevadas. O tratamento por acidificação torna-se inviável em estações de alimentação automática, devido à redução tempo de vida-útil, ocorrendo também rejeição total do leite por parte de alguns vitelos, factores que implicaram aumentos de mão-de-obra.

Palavras-chave: leites não comercializáveis, mastites, vitelos, tratamento químico contagem de células somáticas, valor nutricional.

Abstract

Nonsaleable milk in dairy farms is potentially an economical and nutritious source of feed for neonatal calves but it can have problems, like bacterial counts (most of them pathogens). In this study, nonsaleable whole milk samples were collected and evaluated for nutrient composition, microbiological composition, somatic cell counts, and pH. Under laboratory conditions three levels of pH (5.5; 5.0 and 4.5) for commercial organic acids (lactic, propionic, formic and a mixture of propionic and formic), four percentage levels of inclusion for hydrogen peroxide at 130V (0.14; 0.28; 0.42 and 0.5%) with catalase were evaluated. The chemical that shows best results with these milks were the propionic acid. Finally propionic acid at 1 % (v/v), with milk with temperatures above the 23 °C, was included in first trial in feeding programs for crossbred dairy calves. In second trial the same number of calves was fed with milk replacer. In the two trials health problems and mortality were evaluated. The acid treatment was not available at automatic calf feeders, because that reduces the life-time of the equipment (more maintenance) and some calves have rejected totally this milk that increases the labor.

Keywords: nonsaleable milk, mastitis, calves, chemical treatment, somatic cells counts, nutritional value.

Extended abstract

Nonsaleable whole milk in dairy farms is potentially an economical, nutritious source of feed for neonatal calves but it can have serious problems, like bacterial counts (most of them pathogens) and significant levels of antibiotics. Many calf-rearing operations that utilize this milk have no refrigerated system in place to preserve it. The purpose of this investigation was to evaluate the quality of nonsaleable whole milk from dairy farms being used to feed neonatal calves using a set of standard milk quality monitors, use a lot of chemicals, choosing the best one (who have no problems of casein precipitation) and nonsaleable milk were compared with milk replacer milk in feeding programs for calves, at automatic calf feeders. In this study, nonsaleable whole milk samples were collected and evaluated for nutrient composition, Microbiological composition, somatic cell counts, and pH. Milk quality assessments were not uniform. Bacterial counts and pH provided relatively useful information to assess milk quality. Nutrient compositions not differ mostly, reinforcing the nutrient quality of these milks.

Under laboratory conditions three levels of pH (5.5; 5.0 and 4.5) for commercial organic acids (lactic, propionic, formic and a mixture of propionic and formic), four percentage levels of inclusion for hydrogen peroxide at 130V (0.14; 0.28; 0.42 and 0.5%) with catalase and three percentage levels for neutral electrolyzed water (2.14; 4.28 and 5.78) were evaluated. The chemical that shows best results with these milks were the propionic acid.

Finally propionic acid at 1 % (v/v) at a pH nearly 5.0, with milk with temperatures above the 23 °C, was included in first trial for crossbred dairy calves. In second trial the same number of calves was fed with milk replacer. In the two trials health problems and mortality were evaluated.

The acid treatment was not available at automatic calf feeders, because that reduces the life-time of the equipment and that increases the labor. These treatment have too some health problems, because some calves have rejected totally this milk.

Índice

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. Leites não comercializáveis	5
2.1.1. Colostro e leites de transição	5
2.1.2. Leites mastíticos	7
2.1.2.1. Mastite	7
2.1.2.2. Microrganismos causadores de mastites	9
2.1.2.3. Detecção de mastites	11
2.1.2.4. Alterações ao nível das características do leite	13
2.1.3. Leites não comercializáveis	15
2.2. Tratamento químico de leites	18
2.2.1. Tratamento por acidificação	18
2.2.2. Tratamento com peróxido de hidrogénio	22
2.2.3. Outros tratamentos	25
2.3. Alimentação de vitelos com leites não comercializáveis	27
2.3.1 Leites sem tratamento	27
2.3.2. Leites com resíduos de antibióticos	27
2.3.3. Leites não comercializáveis acidificados	28
2.3.3.1. Ácido propiónico	28
2.3.3.2. Ácido Fórmico.....	30
2.3.3.3. Ácido láctico	30
2.4. Algumas considerações acerca da alimentação de vitelos em estações automáticas	31
3. MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 Materiais	33
3.1.1. Caracterização da manada	33
3.1.2. Caracterização dos vitelos utilizados nos ensaios de alimentação	33
3.1.3. Caracterização do vitleiro e da estação de alimentação automática	33

3.1.4. Amostras de leite não comercializável	34
3.1.5. Leite de substituição e alimento composto completo	34
3.1.6. Meios de cultura e soluções utilizadas	36
3.1.6.1. Meio de cultura PCA – Plate Count Agar	36
3.1.6.2. Solução de Ringer	36
3.1.6.3. Meio de cultura para Bolores e Leveduras (GYP)	36
3.1.6.4. Meio de cultura CHROMagar Listeria	37
3.1.7. Produtos químicos adicionados ao leite não comercializável.	37
3.2. Métodos	40
3.2.1. Caracterização microbiológica do leite	40
3.2.1.1. Contagem de germes totais a 30 °C	40
3.2.1.2. Contagem de bolores e leveduras	40
3.2.1.3. Contagem de Listeria monocytogenes	40
3.2.2. Contagem de células somáticas no leite	40
3.2.3. Caracterização físico-química do leite	41
3.2.3.1. Determinação dos valores de pH	41
3.2.3.2. Tratamento químico e avaliação da formação de precipitados	41
3.2.3.3. Composição analítica	42
3.2.3.4. Pesquisa de resíduos de antibióticos	42
3.2.4. Ensaio de campo	43
3.2.4.1. Períodos avaliados	43
3.2.4.2. Determinação do peso dos vitelos e determinação de ingestões	43
3.2.4.3. Avaliação do estado de saúde dos vitelos	43
3.2.4.4. Classificação das fezes dos vitelos	43
3.2.4.3. Atribuição de scores	44
3.2.5. Interpretação e análise estatística dos resultados	44
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Caracterização dos leites não comercializáveis	45
4.2. Tratamento químico de leites não comercializáveis	49
4.2.1. Tratamento com ácidos orgânicos	49
4.2.2. Tratamento com peróxido de hidrogénio	51
4.2.3. Tratamento com água electrolisada	53
4.3. Alimentação de vitelos com leite não comercializável tratado quimicamente	54
4.3.1. Leite não comercializável tratado com ácido propiónico	54

4.3.2. Parâmetros zootécnicos avaliados	55
4.3.2.1. Pesos aos 0 dias, 14 dias, 30 dias e 45 dias	58
4.3.2.2. Consumo total de leite e em função do peso vivo	58
4.3.2.3. Consumo total estimado de concentrado e em função do peso vivo	60
4.3.2.4. Consumo total de matéria seca e em função do peso vivo	62
4.3.2.5. Consumo total de energia proveniente do leite e em função do peso vivo	64
4.3.2.6. Consumo total de energia proveniente do concentrado e em função do peso vivo	66
4.3.2.7. Consumo total de energia e em função do peso vivo	66
4.3.2.8. Consumo total de proteína proveniente do leite e em função do peso vivo	68
4.3.2.9. Consumo total de proteína proveniente do concentrado e em função do peso vivo	70
4.3.2.10. Consumo total de proteína e em função do peso vivo	70
4.3.2.11. Mortalidade	73
4.3.3. Avaliação do estado de saúde	74
4.3.4. Caracterização do excreta fecal dos vitelos	76
CONCLUSÕES	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
ANEXOS	88
Anexo I. Viteleiro	88
Anexo II. Estação de alimentação automática	89
Anexo III. Ficha de controlo do estado de saúde dos vitelos	90
Anexo IV. Ficha de controlo do excreta fecal	91
Anexo V. Anti-diarreico utilizado	92
Anexo VI. Comparação de custos entre leite comercializável e leite de substituição como alimento líquido de vitelos (adaptado de Jones <i>et al.</i>, 2007)	93
Anexo VI. Comparação de custos entre leite comercializável e leite de substituição como alimento líquido de vitelos (adaptado de Jones <i>et al.</i>, 2007)	93

Lista de Quadros

Quadro 1. Composição do leite por lactação de vacas do projecto <i>crossbreeding</i> (305 dias com duas ordenhas)	2
Quadro 2. Composição do colostro e leite de transição.....	5
Quadro 3. Composição mineral e vitamínica do colostro e leite de transição	6
Quadro 4. Efeito na mortalidade dos vitelos do intervalo desde o nascimento até à primeira refeição de colostro.	7
Quadro 5. Tipos de Mastite.....	8
Quadro 6. Vários microrganismos envolvidos em infecções intra-mamárias e suas características.....	10
Quadro 7. CCS actual e métodos alternativos para detecção de mastite.	12
Quadro 8. Alterações na composição do leite associadas a valores elevados de CCS.	14
Quadro 9. Efeito do tipo de microrganismo e do estado clínico, na composição do leite	15
Quadro 10. Características nutricionais dos leites não comercializáveis	16
Quadro 11. Caracterização microbiológica dos leites não comercializáveis	17
Quadro 12. Valores de pH óptimo de crescimento, intervalos e perda de actividade de alguns microrganismos em condições laboratoriais.	19
Quadro 13. Alguns tratamentos acidificantes efectuados anteriormente	19
Quadro 14. Características e composição do colostro, leite de substituição e leite cru após acidificação com 0,23% de ácido fórmico.....	21
Quadro 15. Concentrações de H ₂ O ₂ tolerados por alguns microrganismos.....	23
Quadro 16. Tempos requeridos para a completa inactivação de alguns microrganismos em função da concentração de H ₂ O ₂	24
Quadro 17. Performance dos vitelos alimentados com leite cru, colostro fermentado e colostro acidificado com ácido propionico a 1%.....	29
Quadro 18. Performance dos vitelos alimentados com leite cru, colostro fermentado e colostro acidificado com ácido fórmico a 0,3 %.....	30
Quadro 19. Performance dos vitelos alimentados com colostro congelado, colostro fermentado e colostro acidificado com ácido láctico a 1 %	31
Quadro 20. Composição analítica do leite de substituição.	35
Quadro 21. Composição analítica do alimento composto completo	35
Quadro 22. Composição do meio de cultura PCA	36
Quadro 23. Composição e características da solução de Ringer	36
Quadro 24. Composição do meio GYP (Glucose – Yeast – Peptone).....	36
Quadro 25. Composição do meio de cultura CHROMagar	37
Quadro 26. Especificações técnicas dos produtos químicos utilizados	38
Quadro 27. Sistema de atribuição de scores relativos a estado de saúde e avaliação fecal	44
Quadro 28. Caracterização microbiológica de leite comercializável (leite de tanque)	45
Quadro 29. Caracterização microbiológica de colostro e leites de transição.....	45
Quadro 30. Caracterização microbiológica de leites provenientes de vacas mastíticas	46
Quadro 31. Caracterização microbiológica de leites não comercializáveis	46
Quadro 32. Caracterização do leite de substituição usado após reconstituição	46
Quadro 33. Resultado de pesquisa de antibióticos (Delvotest)	47
Quadro 34. Valores de pH dos diferentes tipos de leite.....	47
Quadro 35. Composição analítica dos leites	48

Quadro 36. Composição analítica dos leites não comercializáveis	48
Quadro 37. Tratamento químico por adição de ácidos orgânicos a diferentes valores de pH.....	49
Quadro 38. Custos de tratamento acidificante e quantidades (ml/50l de LnC)	50
Quadro 39. Tratamento químico com peróxido de hidrogénio com vários níveis de inclusão	51
Quadro 40. Custos de tratamento com peróxido de hidrogénio e quantidades (ml/50l de LnC)	52
Quadro 41. Tratamento químico com Probiolac-qua (água electrolisada)	53
Quadro 42. Avaliação do tratamento químico no leite não comercializável com ácido propiónico a 1 % (v/v)	54
Quadro 43. Parâmetros zootécnicos avaliados nos dois períodos	56
Quadro 44. Teste de efeitos fixos relativos aos pesos dos vitelos que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	58
Quadro 45. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de leite que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	59
Quadro 46. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total de leite.	59
Quadro 47. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de concentrado que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	60
Quadro 48. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total de concentrado.	61
Quadro 49. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de matéria seca que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	62
Quadro 50. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total de matéria seca.	63
Quadro 51. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de energia proveniente do leite que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	65
Quadro 52. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total energia proveniente do leite.	65
Quadro 53. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de energia proveniente do concentrado que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	66
Quadro 54. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de energia que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	67
Quadro 55. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total energia.	67
Quadro 56. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de proteína proveniente do leite que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	69
Quadro 57. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total proteína provenientes do leite.	69
Quadro 58. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de proteína proveniente do concentrado que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	70
Quadro 59. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo total de proteína que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.	71
Quadro 60. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total proteína.	71

Quadro 61. Mortalidade dos vitelos e possíveis causas	73
Quadro 62. Teste de efeitos fixos relativos ao estado de saúde dos vitelos que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância	74
Quadro 63. Médias dos mínimos quadrados \pm erro ($X \pm EP$) padrão relativas aos parâmetros do estado de saúde dos vitelos	74
Quadro 64. Teste de efeitos fixos relativos ao excreta fecal que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância	76
Quadro 65. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas aos parâmetros do excreta fecal.....	76

Lista de figuras

Figura 1. Evolução do preço de mercado do leite cru a nível mundial.....	1
Figura 2. Evolução do preço de mercado (€/ton) do soro de leite em pó a nível europeu	3
Figura 3. Representação esquemática do desenvolvimento da mastite no úbere infectado	9
Figura 4. Contagens bacterianas de leites utilizados na alimentação de vitelos	17
Figura 5. Tipos de resultados da pesquisa de antibioticos	42
Figura 6. Modo de pesagem dos animais.	43
Figura 7. Rede de malha fina usada como filtro de precipitados	55
Figura 8. Precipitados no copo de distribuição.	55
Figura 9. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo de concentrado aos 14 dias e em função do peso vivo.	61
Figura 10. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo de MS aos 14 dias.....	63
Figura 11. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo total de matéria seca aos 30 dias	64
Figura 12. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo de energia aos 30 dias	68
Figura 13. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo total de proteína aos 14 dias.	72
Figura 14. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo total de proteína aos 30 dias	72
Figura 15. Efeito Sexo*Tipo de leite ao nível dos índices de atitude.....	75
Figura 16. Efeito Sexo*Período ao nível dos índices de desidratação.....	75
Figura 15. Efeito Sexo*Tipo de leite ao nível dos índices de atitude.....	75
Figura 18. Efeito Período*Tipo de leite na caracterização do excreta fecal.....	77
Figura 19. Representação esquemática do viteleiro	88

Lista de abreviaturas

AEN – água electrolisada neutra

ASB – albumina de soro bovina

CBO – Carência Bioquímica de Oxigénio

CCS – Contagem de células somáticas

CECS – Contagem electrónica de células somáticas

E. coli – *Escherichia coli*

GYP – Glucose, Yeast e Peptone

H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio

Ig – Imunoglobulina

IRMC – Incidência relativa de mastites clínica

LDH – Lactatodesidrogenase

LnC – Leite não comercializável

NAGase – N-acetyl-β-D-glucosaminidase

NaOCl – Hipoclorito de sódio

N-NP – Azoto não proteico

SCN – Estafilococos coagulase-negativos

Staph. – *Staphylococcus*

Strep. – *Streptococcus*

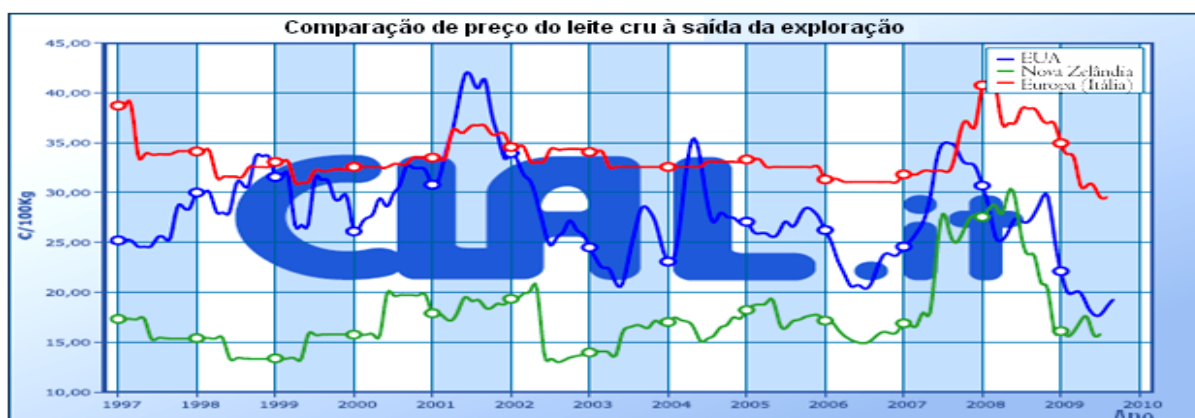
1. Introdução

A produção leiteira mundial tem vindo a sofrer grandes alterações económicas, relacionadas, nomeadamente, com a subida do custo das matérias-primas e de mão-de-obra e com a instabilidade do valor comercial do leite cru, sendo este último o factor determinante para as maiores dificuldades do sector (Figura 1).

Em Portugal, a manutenção da competitividade da indústria nacional, num contexto de crescente concorrência, torna inevitável a adaptação da gestão no sentido de um funcionamento com margens mais estreitas, de acordo com a tendência para a diminuição gradual dos preços de mercado (Anónimo, 2007). De modo a contornar esta situação, muitos produtores alteraram alguns pontos do sistema de produção, desde o recurso a novas raças (*crossbreeding*), tirando assim partido do vigor híbrido, à alimentação em grupos de vitelos através de estações automáticas.

Crossbreeding é um sistema de cruzamento que complementa o melhoramento genético entre raças. O uso deste sistema em vacas de leite deve ser baseado em três raças, de modo a rentabilizar, adequadamente, todos os benefícios da heterose (Heins *et al.*, 2007).

Os produtores têm recorrido ao *crossbreeding* por várias razões: alterações no preço do leite, o que leva a que outras raças e seus cruzamentos possam competir com a raça *Holstein* (Quadro 1); as dificuldades reprodutivas, nomeadamente fertilidade, facilidade de parto, saúde e sobrevivência da raça *Holstein*; e, o aumento nos níveis de consanguinidade, em todas as principais raças leiteiras. O *crossbreeding* pode ser, assim, uma opção eficaz para reduzir o impacto da depressão consanguínea nas explorações leiteiras comerciais (Weigel *et al.* 2003).



(adaptado de CiaI.it)

Figura 1. Evolução do preço de mercado do leite cru a nível mundial

Heins *et al.* (2006) efectuaram estudos neste sentido que provam todo o potencial do recurso do *crossbreeding*, principalmente com as raças *Montbeliard* e *Scandinavian Red*.

A raça *Montbeliard* é de aptidão denominada mista, contudo é principalmente leiteira, possuindo melhores características de produção de carne que a raça *Holstein*. Existem quase 400 mil vacas *Montbeliard* de leite registadas em França com uma lactação adulta média de 7486 litros com 3,9 % de gordura e 3,45 % de proteína. Pelo referido anteriormente, as vacas de refugo e os vitelos valem mais do que as *Holstein*. Esta raça expandiu-se por muitos países e está a tornar-se popular nos cruzamentos com *Holstein* para dar maior longevidade e fertilidade. As raças *Scandinavian Red*, que incluem as raças *Swedish Red*, *Swedish White* e a *Norwegian Red*, caracterizam-se por possuir uma produção alta, facilidade de partos, e baixas incidências de vitelos nados-mortos assim como uma baixa incidência de mastites. Representam assim, uma alternativa na reprodução, tanto em linha pura como em cruzamentos, onde foram seleccionadas para a facilidade de parto, a resistência a doenças e para a fertilidade.

Quadro 1. Composição do leite por lactação de vacas do projecto *crossbreeding* (305 dias com duas ordenhas)

Número da lactação	Raças e cruzamentos							
	<i>Holstein</i>		<i>Normande-Holstein</i>		<i>Montbeliard-Holstein</i>		<i>Scandinavian Red-Holstein</i>	
	Gordura	Proteína	Gordura	Proteína	Gordura	Proteína	Gordura	Proteína
	----- (%) -----							
1 ^a	3,56	3,10	3,76	3,23	3,66	3,17	3,68	3,20
2 ^a	3,57	3,11	3,72	3,24	3,74	3,20	3,75	3,22
3 ^a	3,63	3,10	3,74	3,22	3,74	3,17	3,66	3,19
4 ^a	3,58	3,07	3,70	3,21	3,72	3,18	3,73	3,15

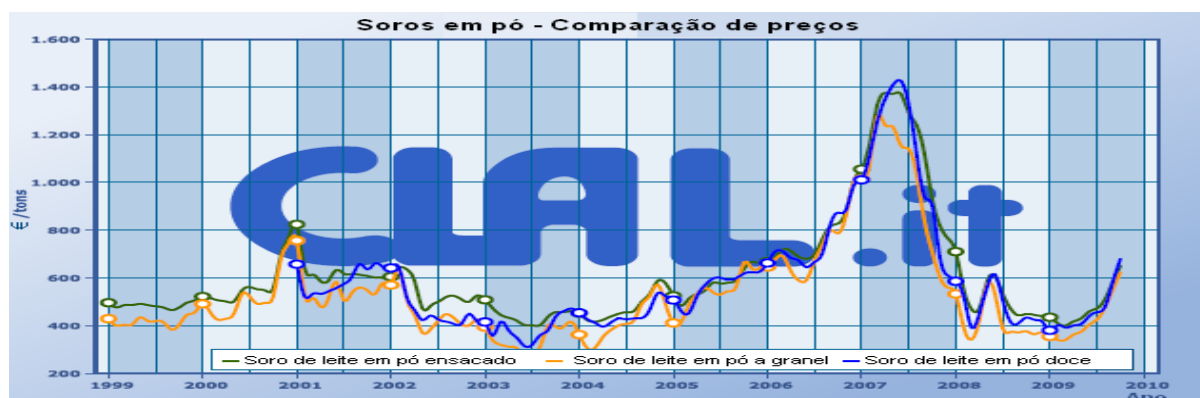
(adaptado de Heins *et al.*, 2007)

Após a implementação da Directiva 97/2/EC (Anónimo, 1997), que estabelece as normas mínimas para a protecção de vitelos, vários produtores alteraram o sistema de produção em alojamento individual, optando pela criação de vitelos em grupo e, com isto, várias multinacionais de equipamentos do sector promoveram estações automáticas de alimentação líquida. Segundo Moran (2006), estas estações introduzem um novo nível de sofisticação, na criação de vitelos, que pode não ser adequado para todos, pois requerem um grande investimento, proporcionando, no entanto, uma maior eficiência no manejo dos animais. Mongeon (2005) refere que um sistema automático pode reduzir significativamente o trabalho, referindo que um estudo de 1997 indicou que o manejo de animais jovens individualmente alojados requer 10 minutos por dia por vitelo. Em grupo, alimentados através de um alimentador automático, o tempo por vitelo foi menos de um minuto por dia.

No que respeita às regras de protecção do ambiente, a situação do sector é particularmente sensível, visto que os sistemas de produção estão associados a regimes de estabulação/confinamento, a partir dos quais são geradas quantidades significativas de

efluentes, particularmente chorumes, que têm dificuldades de escoamento/tratamento. Existem dados referentes ao impacto ambiental destes leites que reflectem este problema, na medida em que, quando comparados com o chorume, apresentam valores estimados de CBO de 100 000 mg/l *versus* 1930 mg/l e teores de sólidos totais de 22 789 mg/l *versus* 4506 mg/l. Neste contexto, foi desenvolvida uma Estratégia Nacional para os Efluentes Agro-pecuários e Agro-industriais (Anónimo, 2005), e avaliada a carga poluente dos sectores pecuários, com vista à definição de prioridades para o seu tratamento (Anónimo, 2007). Posteriormente, pela Portaria n.º 631/2009 (Anónimo, 2009), foi introduzido o REAP (Regime de Exercício da Actividade Pecuária), legislando de forma integrada sobre a questão da gestão dos diferentes efluentes pecuários.

Por outro lado, os preços das principais matérias-primas que incorporam os leites de substituição têm vindo a aumentar (Figura 2). Uma vez que a alimentação líquida é importante para os vitelos, até ao desmame, muitos autores tentaram arranjar forma de conservar o colostro e os leites de transição.



(adaptado de CLAL.it)

Figura 2. Evolução do preço de mercado (€/ton) do soro de leite em pó a nível europeu

Otterby *et al.* (1980) referem que a adequação das fontes de colostro é dependente de uma série de factores, incluindo a idade ao desmame, a quantidade e a qualidade de colostro produzido, e o facto de não ser suficiente para alimentar todos os vitelos nascidos do efectivo, até ao desmame. Assim, os produtores podem necessitar de mais de uma fonte de dieta líquida, para os vitelos e/ou futuras novilhas de substituição. Estas fontes podem ser leite de vacas com mastites, leite de vacas tratadas com antibióticos e outro leite não comercializável.

Sobre o ponto de vista económico, o aproveitamento do leite de vacas mamíferas terá algum interesse, na medida em que, segundo Blosser (1977), o leite estimado que foi produzido por estas vacas é de 135 kg (27 kg/vaca/dia) em cinco dias e, como argumentam Shim *et al.* (2004), as perdas de leite devido a mastites variam entre os 100 e os 500 kg/lactação/vaca.

Huijps *et al.* (2008) e Viguier *et al.* (2009) referem que as perdas económicas com o tratamento das mastites clínicas, dependendo do mês de lactação, são muito grandes:

- Nos EUA, os prejuízos anuais projectados resultantes da mastite são de 2 biliões de dólares;
- No Reino Unido, as mastites provocam uma perda anual de cerca de 300 milhões de libras para os produtores de leite;
- Na Irlanda do Norte, o custo das mastites clínicas para um efectivo médio de 100 vacas é de 5000 libras por ano, com um custo total de 14 milhões de libras por ano;
- Na República da Irlanda, o custo das mastites clínicas é aproximadamente 693 euros por ano, para cada vaca infectada;
- Na Holanda, o custo médio por vaca infectada varia entre 164 e 235 euros.

Tendo em conta o possível aproveitamento destes leites, aliado ao facto das estações automáticas permitirem distribuí-los ao longo do dia, houve necessidade de conservação e tratamento dos mesmos, quer por via física (tanques refrigerados), quer por via química (aditivos), quando conservados à temperatura ambiente.

Assim, esta dissertação irá dividir-se em quatro partes:

1. Um capítulo de enquadramento teórico, que terá por base uma revisão bibliográfica desde o ano de 1923 até 2009, dividida em quatro grandes pontos: leites não comercializáveis; tratamento químico de leites não comercializáveis; alimentação de vitelos com leites não comercializáveis e algumas considerações acerca da alimentação de vitelos por estações automáticas;
2. Um capítulo referente a materiais e métodos utilizados, tanto em laboratório, como em ensaios de campo;
3. Um capítulo de resultados e discussão, onde os resultados serão apresentados em três subcapítulos: caracterização de leites não comercializáveis; tratamento químico de leites não comercializáveis e, alimentação dos vitelos com leites não comercializáveis tratados quimicamente;
4. Um capítulo dedicado às principais conclusões obtidas neste trabalho.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. Leites não comercializáveis

2.1.1. Colostro e leites de transição

O colostro bovino é composto por uma mistura de secreções lácteas e constituintes do soro sanguíneo, nomeadamente imunoglobulinas (Igs) e outras proteínas do soro, que se acumulam na glândula mamária durante o período seco e de pré-parto (Foley *et al.*, 1978). Quigley (2001) refere que, relativamente às diferenças com o leite cru, o colostro é a secreção da glândula mamária nas primeiras 24 horas, após o parto. O colostro difere, marcadamente, do leite cru na sua composição, propriedades físicas e função. O leite de transição é a secreção da glândula mamária das 24 às 72 horas após o parto, passando depois para a composição do leite comercializável. O colostro difere do leite de transição (Quadro 2) pelo facto do colostro conter uma quantidade muito maior de sólidos, proteínas e Igs. Foley *et al.* (1978) referem que o colostro é uma excelente fonte de nutrientes essenciais, adequada para a saúde e nutrição do vitelo, sendo uma fonte concentrada de gordura (energia), proteína (para o crescimento), vitaminas (especialmente vitaminas lipossolúveis) e minerais.

Quadro 2. Composição do colostro e leite de transição

Características	Número de Ordenha			Leite comercializável
	1	2	3	
Gravidade específica	1,056	1,040	1,035	1,032
pH	6,320	6,320	6,330	6,500
Sólidos (%)	23,900	17,900	14,100	12,900
Sólidos não gordos (%)	16,700	12,200	9,800	8,800
Proteína (%)	14,000	8,400	5,100	3,100
Caseína (%)	4,800	4,300	3,800	2,500
IgG (mg/ml)	48,000	25,000	15,000	0,600
Gordura (%)	6,700	5,400	3,900	3,700
Lactose (%)	2,700	3,900	4,400	5,000

(adaptado de Foley *et al.*, 1978)

Kung *et al.* (2003) referem que, relativamente a requisitos dietéticos minerais dos vitelos, o colostro fornece quantidades adequadas de Ca, P, Mg, Na, K, e Zn mas é pobre em Fe, Cu e Mn. Os vitelos têm também baixas reservas de Fe no fígado, que poderão conduzir a anemias e afectar severamente o crescimento. Muitos estudos indicam aumentos de crescimento quando a alimentação é suplementada com Fe, tanto por via sistémica como por via oral. Estudos recentes mostram ainda níveis baixos de Fe no

sangue quando provenientes de vacas primíparas, provavelmente devido a baixas transferências de Fe através da placenta. Por isto, a suplementação da alimentação destes vitelos com Fe torna-se vantajosa (Quadro 3).

Quadro 3. Composição mineral e vitamínica do colostro e leite de transição

Características	Número de ordenhas			Leite comercializável
	1	2	3	
Ca (%)	0,26	0,15	0,15	0,13
Mg (%)	0,04	0,01	0,01	0,01
K (%)	0,14	0,13	0,14	0,17
Na (%)	0,07	0,05	0,05	0,04
Zn (mg/100 ml)	1,22	...	0,62	0,30
Fe (mg/100 g)	0,2	0,05
Cu (mg/100 g)	0,06	0,01
Mn (mg/100 ml)	0,02	...	0,1	0,04
Vitamina A (ug/L)	2950	1900	1130	340
Vitamina D (IU/g gordura)		0,9 a 1,81		0,41
Riboflavina (ug/ml)	4,83	2,71	1,85	1,47
Colina (mg/ml)	0,70	0,34	0,23	0,13

(adaptado de Foley *et al.*, 1978)

O colostro contém grandes quantidades de Igs que são fundamentais para o funcionamento adequado do sistema imunitário, funcionando como fornecedor de imunidade passiva ao vitelo durante as primeiras 24 horas, após o parto (Quadro 4), pois estes nascem sem anticorpos (BAMN, 2001). Kung *et al.* (2003) referem que o colostro contém elevados níveis de imunoglobulinas, que transferem imunidade passiva para o vitelo, prevenindo e combatendo posteriores infecções. A IgG1 pode representar 80% do total, sendo o restante constituído pelas IgG2, IgM e IgA. As imunoglobulinas são absorvidas, através de um processo chamado pinocitose, por células especializadas no intestino delgado. No entanto, com a idade, estas células são substituídas por núcleos basais, incapazes de realizar a pinocitose. Este processo, conhecido como *gut closure*, começa, rapidamente, 12 horas após o nascimento, se não for consumida qualquer porção de colostro. Quando o *gut closure* está completo, as imunoglobulinas já não são absorvidas. As imunoglobulinas são também absorvidas, selectivamente, em tempos diferentes. A IgG pode ser absorvida durante 27 horas, a IgA durante 22 horas e a IgM durante 16 horas. Pesquisas indicam que a concentração média de IgG1 no colostro de vacas *Holstein* foi 48 g/L, com um intervalo de 20 a 100 g/L, enquanto o colostro de vacas *Jersey* tem em média 66 g/L de IgG, com uma gama de 28 a 115 g/l (BAMN, 2001)

Para prevenir a degradação das imunoglobulinas no tracto digestivo, o colostro contém também inibidores de tripsina (Kung *et al.*, 2003).

Quadro 4. Efeito na mortalidade dos vitelos do intervalo desde o nascimento até à primeira refeição de colostro.

Primeira refeição de colostro	% Mortalidade (0 – 14 dias)	% Mortalidade (total)
<6 horas	7,6	16,3
6 – 12 horas	10,4	20,8

(adaptado de Oxender *et al.*, 1973, citado por Kung *et al.*, 2003)

A diferença entre 20 e 100 g/L de IgG no colostro pode significar a diferença entre deficiência de colostro e a quantidade de colostro adequada para o vitelo. Geralmente, vacas mais jovens produzem colostro de pior qualidade, relativamente a vacas mais velhas. No entanto, se estas não são expostas a agentes patogénicos, o colostro produzido pode não ter níveis elevados de anticorpos, visto que depende dos antigénios a que a vaca foi exposta (pela exposição directa ao agente e/ou vacinação). Além disso, os bovinos criados na exploração irão produzir colostro com anticorpos específicos para os organismos que são endémicos da mesma (BAMN, 2001). A qualidade do colostro está dependente da concentração de Ig, variando de acordo com a história de doença da vaca, volume produzido, época do ano, raça e alimentação durante o período seco. Estudos mostram que a falta desta transferência passiva aumenta a morbidade e a mortalidade dos vitelos, reduz os ritmos e a eficiência de crescimento, e decresce a produção de leite em novilhas, na primeira e na segunda lactação (APHIS, 2008).

Se o epitélio intestinal não está saturado por estas proteínas do colostro, bactérias patogénicas, como *E. coli*, podem colonizar as células intestinais. Se tal acontecer, podem ocorrer infecções sistémicas, o que pode ser fatal.

Muller *et al.* (1977) obtiveram, em colostro, valores de mesófilos totais de $1,7 \times 10^6$ ufc/ml, de coliformes de $6,00 \times 10^4$ ufc/ml e de bolores e leveduras de $1,40 \times 10^7$ ufc/ml. Já Foley *et al.* (1978) reportaram contagens de mesófilos totais de $1,58 \times 10^6$ ufc/ml, de bolores e leveduras de $1,00 \times 10^2$ ufc/ml, de bactérias ácido lácticas de $2,51 \times 10^2$ ufc/ml e de coliformes de $1,00 \times 10^2$ ufc/ml.

2.1.2. Leites mastíticos

2.1.2.1. *Mastite*

A mastite bovina, doença mais significativa dos efectivos leiteiros, tem grandes efeitos sobre a economia da exploração, devido à redução na produção de leite e aos custos de tratamento (Viguiet *et al.*, 2009). De acordo com o National Mastitis Council's - *Current Concepts of Bovine Mastitis (1996)*, citado por Jones *et al.* (2009), mastite é uma

inflamação da glândula mamária, em resposta a uma lesão, com o objectivo de "destruir ou neutralizar agentes infecciosos, conduzindo à regeneração e retorno da glândula mamária à sua função normal. A inflamação pode ser causada por muitos tipos de lesões, incluindo agentes infecciosos e suas toxinas, trauma físico ou químico. Nas vacas leiteiras, a mastite é quase sempre causada por microrganismos, normalmente bactérias, que invadem o úbere, e se multiplicam nos tecidos produtores de leite, produzindo toxinas que são a causa imediata da lesão."

A mastite é uma doença multi-factorial, que exige a exposição de uma combinação de factores ambientais e agentes patogénicos, com respostas variáveis entre animais. Tal requer a definição dos factores de predisposição, ou seja, dos factores que aumentam a susceptibilidade do hospedeiro, é importante a identificação dos factores causadores da mastite: como a idade ou o estado imunológico do animal; dos factores facilitadores, ou seja, factores que facilitam a infecção intra-mamária, como tipo de estabulação e tipos de alimentação; dos factores etiológicos, ou seja, agentes infecciosos associados a mastite; e dos factores agravantes, ou seja, factores que agravam a mastite, como uma resposta imunológica deprimida, ou a exposição recorrente ao agente patogénico (McDougall, 2009).

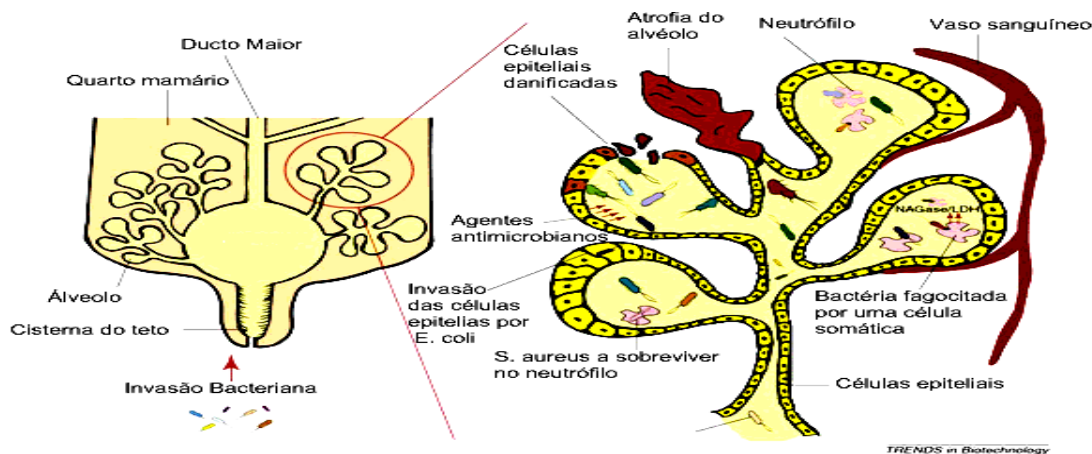
Existem dois tipos de mastite: a clínica (com alterações evidentes no leite, na glândula mamária ou mesmo no próprio animal) e a sub-clínica (apenas diagnosticada usando testes auxiliares), podendo ser de origem contagiosa ou ambiental (McGill, 2003). Duval (1994) resumiu os sintomas e tipologia dos diversos tipos de mastites (Quadro 5).

Quadro 5. Tipos de Mastite

Definição	Características e sintomas
Clínica aguda	Inflamação do teto, febre acima de 39 °C, animal fraco e deprimido, falta de apetite. Quebra drástica na produção de leite. Muitas vezes, a seguir ao parto e, menos sério, após a secagem da vaca.
Clínica hiperaguda	Quarto inchado, vermelho, doloroso. Leite passa com dificuldade. Febre acima de 41°C. Perda de apetite, calafrios e rápida perda de peso. A lactação muitas vezes pára.
Clínica sub-aguda	Nenhuma mudança aparente no úbere, presença de flocos no leite, em especial nos primeiros jactos. O animal parece saudável.
Sub-clínica	Ausência de sintomas. Leite parece normal. A mudança ocorre no aumento da contagem de células somáticas e na detecção do agente patogénico. Principalmente causada por <i>Staphylococcus aureus</i> . 15 a 40 casos por cada caso clínico.
Crónica	Repetida, mas em suaves ataques clínicos, geralmente sem febre. Leite pastoso, quartos por vezes inchados, podendo tornar-se duros (endurecimento fibroso). Tratamentos com antibióticos muitas vezes não resultam.
Gangrenosa	Quarto afectado é azul e frio ao toque. Descoloração progressiva, desde a ponta até ao topo. Partes necróticas por vezes caem. A vaca muitas vezes morre.
Contagiosa	Mastite causada por bactérias como <i>Staphylococcus aureus</i> e <i>Streptococcus agalactiae</i> . A principal fonte destes agentes são outras vacas infectadas.
Ambiental	Mastite causada por bactérias, como coliformes (por exemplo, <i>E. coli</i>). A principal fonte destes agentes é um ambiente contaminado, ou seja, sujidade.

(adaptado de Duval, 1994)

Viguiet *et al.* (2009) referem que as infecções bacterianas desenvolvem-se quando microrganismos ambientais e contagiosos invadem o úbere, através da cisterna do teto. Dá-se então a sua multiplicação no úbere, onde são atacados por neutrófilos e, ao mesmo tempo, danificam as células epiteliais do revestimento alveolar, com libertação subsequente de enzimas como NAGase e LDH. As células epiteliais também segregam compostos antimicrobianos. Quando as células imunitárias começam a combater os invasores patogénicos, observam-se danos consideráveis ao nível do tecido (Figura 3).



(adaptado de Viguiet *et al.*, 2009)

Figura 3. Representação esquemática do desenvolvimento da mastite no úbere infectado

2.1.2.2. *Microrganismos causadores de mastites*

A mastite pode ser causada por mais de 150 diferentes microrganismos contagiosos ou ambientais, que podem ser classificados em cinco grupos: cocos gram-positivos, bactérias gram-negativas (coliformes), *Corynebacterium*, *Mycoplasma* e outros organismos diversos, que incluem *Nocardia*, *Prototheca* e leveduras (Kuang *et al.*, 2009). As vacas infectadas são a principal fonte de microrganismos contagiosos, que sobrevivem e que proliferam sobre a pele e feridas dos tetos. Os mais comuns, aqueles que causam cerca de 90 % das infecções de mastite, são *Streptococcus (Strep.) agalactiae*, *Staphylococcus (Staph.) aureus* e *Streptococcus dysgalactiae* (Quadro 6). As bactérias ambientais mais comuns são coliformes (*Escherichia coli* e *Klebsiella spp.*), *Streptococcus uberis* e *Enterococcus spp.* Estas bactérias são transferidas para os tetos no ambiente entre ordenhas (por exemplo, quando a vaca está deitada). A sua presença indica um elevado grau de contaminação do solo, das camas e da água, causado, principalmente, por chorumes. Outras bactérias, igualmente importantes, são estafilococos coagulase-negativos (ECN) e *Arcanobacterium pyogenes* (Duval, 1994; Waage, 2001; Owens *et al.*, 2001; McGill, 2003; Wilson *et al.*, 2004; Sérieys *et al.*, 2005; Nyman, 2007).

Quadro 6. Vários microrganismos envolvidos em infecções intra-mamárias e suas características

Espécie	Fonte	Condições de sobrevivência	Sintomas
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vacas infectadas	Apenas o úbere e quarto afectado	Febre durante 24 horas
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vacas infectadas	No teto e úbere afectado, tetinas, aparelho reprodutivo, amígdalas.	Muitas vezes bastante agudos alguns dias após o parto. Pode ser fatal. Quarto incha e fica roxo. Rapidamente afecta todo o sistema. No estado crónico, o úbere endurece, secreção aquosa, atrofia eventual do quarto. Forma intermediária com secreções granulares. Leite mais quente que o normal.
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Vacas infectadas	Quarto infectado, feridas	Inchaço pronunciado de um ou mais quartos. Leite altamente anormal. Febre alta em casos graves.
<i>Streptococcus uberis</i>	Ambiente contaminado	Na pele e boca da vaca, no solo	Pronunciado inchaço de um ou mais quartos. Leite altamente anormal. Febre alta em casos graves. Afecta principalmente vacas secas e novilhas
<i>Escherichia coli</i>	Ambiente contaminado	Solo, camas (serraduras e aparas), dejectos, água	Muitas vezes muito graves. Pode levar à perda do quarto ou até mesmo à morte. Secreções amarelas finas, com textura granular semelhantes a farelos. Febre alta muitas vezes
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	Certos insectos	Vales húmidos Áreas de floresta	Pronunciada reacção sistémica devido a toxinas bacterianas. Muitas vezes mais do que um quarto afectado. Estes tornam-se duros, produzem secreções espessas com odores desagradáveis, como a queijo, e difíceis de eliminar. Seguido de abcesso que colapsa, libertando pus espesso, e perda de tecido.

(adaptado de Duval, 1994)

Contudo, as opiniões destes autores divergem relativamente a qual destes microrganismos apresenta maiores frequências. Sargeant *et al.* (1998) referem que as bactérias isoladas de mastites foram *Staph. aureus* (6,7%), *Strep. agalactiae* (0,7%), outros *Strep. spp.* (14,1%), coliformes (17,2%), bacilos gram-positivos (5,5%), *Corynebacterium bovis* (1,7%), e outros *Staph. spp.* (28,7%). Roy *et al.* (2009) referem que as bactérias mais frequentemente isoladas foram ECN (59 %), seguidos por *Staph. aureus* (10,3 %). Bactérias gram-negativas e leveduras foram encontradas menos frequentemente (3,5 %). Os agentes patogénicos (*Staph. aureus*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. uberis*, *Strep. spp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, coliformes, *Klebsiella spp* e leveduras) foram identificados em 16,8 % de novilhas. McDougall (2007) reporta que *Strep. uberis* foi o agente patogénico mais frequentemente isolado, e sua prevalência relativa diminuiu com o tempo pós-parto.

Barkema *et al.* (1998) procuraram relacionar a contagem de células somáticas com a frequência/incidência de mastites clínicas por microrganismo. Assim, referem que *Staph. aureus* foi o principal agente patogénico que mais frequentemente foi encontrado (50,6 % das amostras), e *Strep. dysgalactiae* foi encontrado em 35,0 % dessas mesmas amostras. A incidência relativa de mastites clínicas (IRMC) causadas por *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae* ou *Staph. aureus* foi menor para efectivos, com contagem de células somáticas (CCS) no leite baixas, que para efectivos com valores de CCS médias ou altas. Os efectivos com valores de CCS baixa, apresentavam IRCM mais elevado associado com *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Pseudomonas* spp.

Gröhn *et al.* (2004) procuraram relacionar as perdas de leite de vacas mastíticas, em função do agente patogénico responsável pela mastite. Assim, referem que, entre as vacas de primeira lactação, *Staph. aureus*, *Klebsiella* spp. e *E. coli* causaram um declínio maior no rendimento do leite. Entre vacas mastíticas de segunda lactação (e lactações seguintes), *Strep. spp.*, *Staph. aureus*, *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *A. pyogenes* foram responsáveis pelas maiores perdas de leite.

Relativamente a mastites causadas por leveduras em vacas, Stanojevic *et al.* (2003) referem que é muito raro, mas às vezes pode surgir em proporções epizoóticas. Geralmente, mastite por levedura ocorre em 2-3 % de todos os casos de mastite em vacas de leite. Os fungos mais comuns em casos de mastites micóticas são as leveduras dos géneros *Candida* e *Criptococcus*, mais precisamente *Candida albicans* e *Criptococcus neoformans*. As mastites por leveduras podem surgir na forma clínica, sub-clínica, por vezes aguda e crónica. As formas de transmissão estão quase sempre relacionadas com administração de medicamentos ou com procedimentos cirúrgicos ao nível do úbere. Krukowski *et al.* (2001) reportam, também, que existem isolados de leveduras dos géneros *Rhodotorula* e *Trichosporon* associados a mastite.

2.1.2.3. Detecção de mastites

O diagnóstico precoce de mastites é da maior importância devido aos elevados custos associados. A legislação europeia (Anónimo, 2004) define o leite destinado para consumo humano como proveniente de animais saudáveis. Viguier *et al.* (2009) referem que foram desenvolvidos métodos de diagnóstico para avaliar a qualidade do leite, através da detecção da inflamação da glândula mamária, do diagnóstico da infecção e dos agentes patogénicos envolvidos. Actualmente, os métodos muitas vezes utilizados incluem a determinação de CCS, análises enzimáticas e o teste californiano de coagulação do leite (Quadro 7).

Quadro 7. CCS actual e métodos alternativos para detecção de mastite.

Teste	Fundamentos	Vantagens	Desvantagens
Teste californiano de mastites (TCM)	Mede, indirectamente, as CCS em amostras de leite. Um detergente que contém púrpura de bromocresol é usado para destruir a membrana das células somáticas, com subsequente libertação e agregação de formas de ácido nucleico, numa matriz de gel viscosa, que é proporcional ao número de leucócitos.	Custo baixo (12 dólares por 350 testes), rápido, fácil e pode ser usado <i>in situ</i> ou em laboratório.	Pode ser difícil de interpretar e possui pouca sensibilidade.
Portachek	Usa uma reacção enzimática -catalisada por uma esterase para determinar as CCS no leite.	Custo baixo (3 dólares por teste), rápido e fácil de usar	Baixa sensibilidade para valores baixos de CCS
Fossomatic SCC	Opera no princípio de fluorescência óptica. O brometo de etídio penetra e intercala-se no DNA, e o sinal fluorescente gerado é usado para estimar a CCS no leite.	Rápido e automático.	O equipamento é caro (7000 dólares) e complexo de usar.
Delaval cell counter	Opera no princípio de fluorescência óptica, onde o iodeto de propídio é usado como corante de DNA para estimar a CCS no leite.	Rápido e o equipamento é fácil de transportar	Relativamente caro
Conductividade eléctrica (CE)	Mede o aumento na condutividade do leite causado por aumento dos níveis de iões como o sódio, o potássio, o cálcio, o magnésio, e o cloro durante a inflamação.	Pode ser usado <i>in situ</i> .	Variações, não-mastíticas, na condutividade eléctrica podem estar presentes no diagnóstico.
Teste de cultura	Baseados em culturas de laboratório, usando meios de cultura selectivos para identificação dos diferentes microrganismos envolvidos nas mastites	Identifica os patógenos específicos que causam as mastites	Não pode ser usado <i>in situ</i> e o tempo para a obtenção de resultados pode demorar dias.
pH	O aumento do pH do leite, relacionado com as mastites, é detectado usando azul de bromitisol.	Fácil de usar, custo baixo e rápido	Não possui a sensibilidade dos outros testes.
Enzimas	As determinações são baseadas na pesquisa de enzimas como a NAGase e a LDH.	Determinações rápidas.	Determinações devem ser feitas em laboratório

(adaptado de Viguier *et al.*, 2009)

Na Europa, os valores de CCS elevados (acima de 200 000 células/ml) são utilizados como indicador da mastite, e são determinados usando contadores de células, ou hemocitómetros. Foram desenvolvidos ensaios colorimétricos e fluorométricos para medir as concentrações de enzimas no leite, durante a mastite (por exemplo, NAGase ou LDH). A utilização de técnicas de detecção da mastite por cultura de microrganismos ainda é o método de eleição, embora seja dispendioso.

A mastite também pode ser detectada utilizando testes *in situ*, que podem ser usados pelos agricultores e veterinários e que exigem relativamente pouca formação. Um dos mais antigos e mais conhecido é o teste californiano de mastites (TCM). Baseia-se no princípio da adição de um detergente a uma amostra de leite. Se o leite tiver uma contagem alta de células, este irá provocar a lise das células, libertando ácidos nucleicos e outros componentes, conduzindo à formação de uma matriz tipo-gel. No entanto, a interpretação pode ser subjectiva, e isso pode resultar em falsos positivos e falsos negativos. A mastite também pode ser detectada por meio de alterações nos valores da condutividade ou do pH, sendo estes fáceis de utilizar, mas apresentam uma sensibilidade e fiabilidade baixa (Quadro7).

2.1.2.4. Alterações ao nível das características do leite

Para além do referido, as mastites assumem um papel importante ao nível do leite obtido, na medida em que, segundo Viguier *et al.* (2009), o leite é de má qualidade devido à redução no teor de gordura. Já Hagnestam *et al.* (2007) referem que o efeito das mastites clínicas, na redução da gordura e da proteína, é causado pela redução da produção de leite e não nas alterações dos conteúdos proteicos e lipídicos do leite.

Jones *et al.* (2009) referem que as mastites resultantes dos agentes patogénicos mais frequentes, para além do aumento do valor de CCS, causam alterações consideráveis ao nível da composição do leite. O tipo de proteína presente muda acentuadamente. A caseína, a principal proteína do leite de elevada qualidade nutricional, diminui e as proteínas de soro de leite de menor qualidade aumentam. A albumina de soro bovino (ASB), as imunoglobulinas, a transferrina e outras proteínas de soro passam para o leite, porque ocorrem mudanças ao nível da permeabilidade vascular. A lactoferrina, a proteína de ligação ao ferro com maior efeito antibacteriano em secreções mamárias, aumenta de concentração. A degradação das proteínas do leite pode ocorrer, no leite de vacas com mastite clínica ou sub-clínica, devido à presença de enzimas proteolíticas. A plasmina e as enzimas derivadas de células somáticas podem causar grandes danos na caseína, antes da remoção do leite do úbere. A deterioração das proteínas do leite mastítico pode continuar durante o processamento e o armazenamento. A mastite aumenta a condutividade do leite e as concentrações de sódio e cloro são elevadas, ao passo que o potássio, normalmente o mineral predominante no leite, decresce. Uma vez que o cálcio está associado à caseína, uma desregulação na síntese da caseína, contribui para um menor teor de cálcio no leite (Quadro 8).

Quadro 8. Alterações na composição do leite associadas a valores elevados de CCS.

Constituinte	Leite comercializável	Leite com CCS elevadas	% do normal
Gordura (%)	3,500	3,200	91
Lactose (%)	4,900	4,400	90
Proteína total (%)	3,610	3,560	99
Caseína total (%)	2,800	2,300	82
Proteína de soro (%)	0,800	1,300	162
Albumina de soro (%)	0,020	0,070	350
Lactoferrina (%)	0,020	0,100	500
Imunoglobulinas (%)	0,100	0,600	600
Sódio (%)	0,057	0,105	184
Cloreto (%)	0,091	0,147	161
Potássio (%)	0,173	0,157	91
Cálcio (%)	0,120	0,040	33

(adaptado de Jones *et al.*, 2009)

Coulon *et al.* (2002) procuraram determinar as alterações no leite provocadas por microrganismos responsáveis pela mastite, tanto clínica como sub-clínica. Relativamente aos dois tipos de microrganismos menos frequentes (como ECN e *Corynebacterium bovis*) verificou-se que nenhuma característica do leite foi alterada na presença de *Corynebacterium bovis*, ao passo que na presença de estafilococos coagulase-negativos, a concentração de lactose foi inferior e a contagem de células somáticas foi superior, quando comparados com quartos saudáveis.

A presença de um microrganismo, habitualmente associado à mastite com sinais clínicos, foi acompanhada de mudanças muito significativas na composição no leite. Estas mudanças ocorreram ao nível das proteínas do leite (devido ao aumento de proteínas solúveis IgG e ASB) na diminuição da proporção de caseína/proteína total, na diminuição da lactose e no aumento da contagem de células somáticas. Estas modificações variaram de acordo com o microrganismo envolvido. A presença de *Escherichia coli* no leite traduziu-se numa redução da razão caseína/proteína total e na concentração de lactose, que atingiu percentagens de 19 pontos e 13,6 g.kg⁻¹, respectivamente. Em contrapartida, com *Strep. uberis*, as modificações foram menos significativas, e as concentrações das proteínas solúveis (IgG e ASB), não foram diferentes dos observados em quartos saudáveis, ocorrendo apenas redução nos teores de lactose. Com *Staph. aureus* observaram-se modificações intermédias. Quando este microrganismo não foi associado com sinais clínicos, foram notáveis modificações na composição química do leite (ao nível da lactose, proporção de caseína/proteína total, e valores de células somáticas), mas não tão marcantes como quando *Staph. aureus* foi associado a mastite clínica.

As concentrações de cálcio e fósforo foram negativamente afectadas, apenas na presença dos principais agentes patogénicos (*E. coli* e *Staph. aureus*) associados com sinais clínicos (Quadro 9).

Quadro 9. Efeito do tipo de microrganismo e do estado clínico, na composição do leite (fase de lactação:123d)

Constituinte	Microrganismo						
	Sem patogénicos	<i>Cbovis</i>	<i>Scoag-</i>	<i>Saureus</i>	<i>Saureus</i>	<i>Suberis</i>	<i>Ecoli</i>
	Mastite Clínica Ausente				Mastite Clínica Presente		
Proteína (g·kg ⁻¹)	32,50 ^a	32,80 ^a	32,90 ^a	32,90 ^a	34,50 ^b	36,30 ^c	39,30 ^d
Lactose (g·kg ⁻¹)	47,70 ^a	48,20 ^a	45,90 ^b	45,60 ^b	39,70 ^c	42,00 ^c	34,10 ^d
Células (log·mL ⁻¹)	4,69 ^a	4,79 ^{ad}	5,06 ^d	5,84 ^b	6,58 ^c	5,64 ^b	7,09 ^c
Caseína (g·kg ⁻¹)	26,90 ^a	27,60 ^{ab}	26,90 ^{ab}	26,30 ^a	25,70 ^{ac}	28,20 ^b	24,30 ^c
Caseína/proteínas (%)	82,80 ^a	82,70 ^{ab}	82,40 ^{ab}	80,00 ^{bd}	70,80 ^c	76,70 ^d	64,70 ^c
IgG (g·kg ⁻¹)	0,60 ^a	0,44 ^a	0,64 ^a	0,73 ^a	2,45 ^b	1,17 ^a	3,33 ^b
ASB (g·kg ⁻¹)	0,17 ^a	0,15 ^a	0,19 ^a	0,22 ^a	1,11 ^b	0,48 ^a	3,20 ^c
Cálcio (g·kg ⁻¹)	1,27 ^a	1,29 ^{abc}	1,29 ^{ac}	1,27 ^{abc}	1,17 ^b	1,37 ^c	1,13 ^b
Fósforo (g·kg ⁻¹)	0,95 ^a	1,03 ^b	0,96 ^{ac}	0,93 ^{ac}	0,90 ^{cd}	0,96 ^{abc}	0,80 ^d

Cbovis: *Corynebacterium bovis*; *Scoag-*: *Staphylococcus coagulase-negativos*; *Saureus*: *Staphylococcus aureus*, *Suberis*: *Streptococcus uberis*, *Ecoli*: *Escherichia coli*.

IgG: Imunoglobulinas G; ASB: albumina de soro bovina.

a, b, c, d – Na mesma linha, resultados com letras diferentes são significativamente diferentes (P < 0,05).

(adaptado de Coulon *et al.*, 2002)

2.1.3. Leites não comercializáveis

As explorações leiteiras dispõem de uma variedade de alimentos líquidos, para os vitelos, após o colostro inicial, incluindo leite cru, colostro excedente, leites de transição, leite mastítico ou leites que contêm antibióticos, e ainda, leites de substituição (Elizondo-Salazar *et al.*, 2007). Leites não comercializáveis, normalmente, incluem leite de transição, bem como leite de vacas em antibioterapia para mastite ou outras doenças infecciosas (Godden, 2007).

Os leites não comercializáveis, ou com resíduos, não podem ser vendidos para consumo humano, assim, são frequentemente utilizados como uma alternativa económica para o aleitamento, em muitas explorações leiteiras (Elizondo-Salazar *et al.* 2007).

A nível nutricional, Jones *et al.* (2009) reportam que existem variações nos teores de nutrientes dos leites não comercializáveis, que podem ser devidos a alterações no número

de vacas e da sua fase de lactação. Outros factores incluem a redução na produção dos componentes do leite devido a mastite (Hagnestam *et al.*, 2007) ou água adicionada indevidamente, sendo importante a determinação dos sólidos totais (Moore *et al.*, 2009) nestes leites não comercializáveis.

Existem vários estudos que demonstram mudanças consideráveis que podem ocorrer dentro de um efectivo de dia para dia. Jorgensen *et al.* (2005) referem que em trinta e um efectivos em Wisconsin (EUA) se encontraram gamas de 2,8 a 4,7 % de gordura e de 2,9 a 5,1 % de proteína no leite não comercializável (Quadro 10). Jones *et al.* (2009) referem que em três efectivos na Carolina do Norte (EUA) os teores variaram de 1,5 a 4,5 % de gordura e de 2,7 a 3,8 % de proteína e em 10 explorações da Califórnia os leites não comercializáveis tinham 1,2 a 12,1 % de gordura e 2,7 a 4,7 % de proteína.

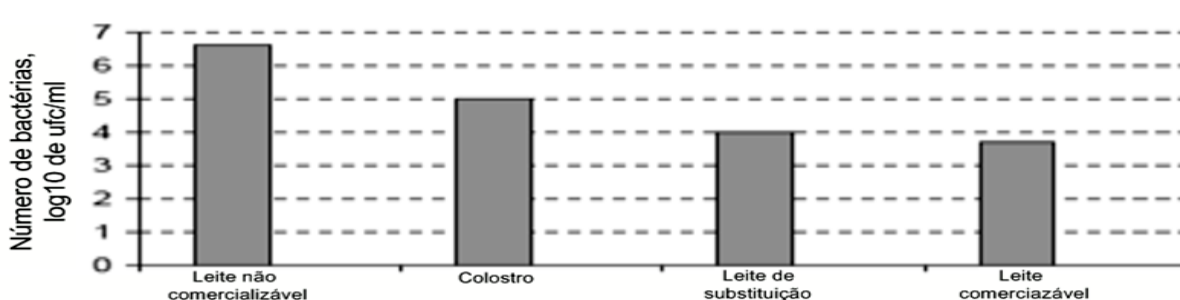
Quadro 10. Características nutricionais dos leites não comercializáveis

Constituinte		Média	Intervalo
Gordura	em % de MS	35,4	27,3 - 49,5
	%	4,42	3,41 - 6,19
Proteína	em % de MS	28,3	23,6 - 41,8
	%	3,54	2,95 - 5,23
Lactose	em % de MS	34,0	27,3 - 38,2
	%	4,25	3,41 - 4,78
Energia Bruta, Mcal/kg		6,22	5,27 - 7,69

(adaptado de Jorgensen *et al.*, 2005)

Do ponto de vista microbiológico, Selim e Cullor (1997), citado por Elizondo-Salazar *et al.* (2007), demonstraram que o leite não comercializável contém maiores concentrações bacterianas, comparado com os outros tipos de leite utilizados (Figura 4).

Jorgensen *et al.* (2005) referem, ainda que em trinta e um efectivos em Wisconsin (EUA), a contagem de microrganismos totais foi em média $8,82 \times 10^6$ ufc/ml, *Escherichia coli* foi de $1,00 \times 10^4$ ufc/ml, *coliformes* totais foi de $8,21 \times 10^4$ ufc/ml, *Salmonella* sp. foi de $2,43 \times 10^2$ ufc/ml, *Strep. agalactiae* foi de $1,28 \times 10^3$ ufc/ml, *Strep.* sp. foi de $4,73 \times 10^4$ ufc/ml *Staph. aureus* foi de $5,49 \times 10^2$ ufc/ml *Staph.* sp. foi de $8,43 \times 10^3$ ufc/ml e *Enterococcus* sp. foi de $1,73 \times 10^4$ ufc/ml. Tal como na caracterização nutricional, também aqui notaram-se intervalos alargados, tanto a nível de contagem de microrganismos totais, como a nível de cada microrganismo presente (Quadro 11).



(adaptado de Selim e Cullor, 1997, citado por Elizondo-Salazar *et al.*, 2007).

Figura 4. Contagens bacterianas (log₁₀ do número de unidades formadoras de colónias (ufc) por mililitro) de leites utilizados na alimentação de vitelos

Segundo Godden (2007) e Elizondo-Salazar *et al.* (2007), para além dos microrganismos causadores das mastites, outros agentes patogénicos podem ser transmitidos no leite e no colostro, como: *Salmonella sp.*, *Mycoplasma sp.*, *Listeria monocytogenes*. Contudo, as espécies mais comuns são *Strep.* e *Enterobacter*, seguidas por *Staph.* e *E. coli*. Moore *et al.* (2009) referem ainda que, no seu estudo, as amostras tinham contagens elevadas para microrganismos totais e colónias bacterianas coliformes por 10 µL, mas nem *Mycoplasma spp.*, nem *Salmonella spp.* foram detectados.

Quadro 11. Caracterização microbiológica dos leites não comercializáveis

Componente	Média	Intervalo
Bactérias totais (1000 ufc/ml)	8822	6 – 72000
CCS (1000 CECS/ml)	1772	110 – 3800
----- ufc/ml -----		
<i>Escherichia coli</i>	10000	< 10 – 80000
Coliformes totais	82052	600 - 800000
<i>Salmonella sp.</i>	243	< 10 - 2000
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1281	< 10 - 34000
<i>Strep. sp.</i>	47281	200 - 170000
<i>Staphylococcus aureus</i>	549	< 10 - 11000
<i>Staph. sp.</i>	8426	< 10 - 88000
<i>Enterococcus sp.</i>	17274	< 10 - 180000

Legenda: CECS: contagem electrónica de células somáticas

(adaptado de Jorgensen *et al.* 2005)

Para além do referido, os leites não comercializáveis (como leite mastítico e leite do final da lactação) têm três vezes mais probabilidade de ser instáveis do que os leites de vacas no início ou no meio da lactação. O factor responsável por este efeito parece ser o aumento do pH do leite, devido à maior permeabilidade do epitélio mamário a pequenas partículas e iões. Estes leites apresentam, ainda, uma grande quantidade de células somáticas, e os lisossomas dessas células podem produzir enzimas proteolíticas, entre as quais a catepsina D, *para-κ-caseína* e macropeptídeos de caseína a partir de κ-caseína, podendo coagular o leite quando presentes em elevadas concentrações (Oliveira *et al.*, 2007).

A temperatura, o valor de pH e o tempo de incubação do leite, no úbere de vacas com mastite entre ordenhas, fornecem condições ideais para a actividade enzimática dos leucócitos. A proteólise da caseína e a conversão proteolítica do plasminogénio em plasmina podem ocorrer num úbere infectado, antes da ordenha (Verdi *et al.*, 1991).

Relativamente ao pH, Moore *et al.* (2009) referem que o valor de pH presente nestes leites encontra-se abaixo de 6,6. Acrescenta, ainda, que a medição do pH é uma forma simples de identificar a deterioração, dependendo da fase, tempo, temperatura e das bactérias presentes, sendo significativamente directamente correlacionado com a percentagem de TS: pH mais baixo, menor a medição de sólidos totais. A deterioração microbiana dos produtos alimentares pode afectar, não só a cor e o odor, como a ingestão, e pode também afectar os teores de nutrientes.

2.2. Tratamento químico de leites

Um “conservante para o leite” pode ser definido como qualquer composto químico e/ou processo que, quando aplicado no leite, retarda alterações causadas pelo crescimento microbiano, ou permite que as propriedades físicas, a composição química e o valor nutricional permaneçam inalterados (Lück, 1962).

Com base nesta definição, diversos investigadores procuraram encontrar diversos aditivos, desde os ácidos e seus sais, a peróxido de hidrogénio ou outros produtos. Assim, neste sentido irão ser descritos alguns dos tratamentos possíveis, sendo divididos em três sub-pontos: tratamento por acidificação, tratamento por adição de peróxido de hidrogénio e outros tratamentos.

2.2.1. Tratamento por acidificação

O tratamento por acidificação, que permite o armazenamento à temperatura ambiente e a longo prazo, traduz-se no controlo e/ou na redução das taxas de crescimento bacteriano, sendo baseado no princípio de redução do valor de pH do leite, de modo que o crescimento bacteriano, especialmente o dos organismos patogénicos, é significativamente reduzido. O leite, com um pH típico de 6,2 - 7,0, por acidificação até um pH de 5,0 a 5,5, pode permanecer estável até 72 horas, à temperatura ambiente, assumindo comportamentos variáveis quando estas são demasiado elevadas, o que se recomenda a administração mais rápida nestas condições. Os ácidos orgânicos mais frequentes utilizados para este fim incluem o ácido acético, adípico, benzóico, cítrico, fórmico, fumárico, málico e propiónico, podendo também utilizar-se os sais de sódio de alguns destes ácidos. Estes ácidos, segundo Muller e Syhre (1974), actuam como agentes antimicrobianos a pH baixo, sendo digestíveis pelos vitelos. Anderson (2006) refere que os procedimentos

laboratoriais mostram que muitas bactérias não crescem a um pH inferior a 4,5, mas sobrevivem e reproduzem-se facilmente a valores de pH superiores (Quadro12).

Quadro 12. Valores de pH óptimo de crescimento, intervalos e perda de actividade de alguns microrganismos em condições laboratoriais.

Microrganismo	Óptimo	Intervalo	Inactivação / perda de actividade
<i>E. coli</i>	6,0 – 7,0	4,4 – 9,0	< 4,4
<i>Listeria monocytogenes</i>	7,0	4,4 – 9,4	< 4,4
<i>Salmonella</i>	7,0 – 7,5	3,8 – 9,5	< 4,4
<i>Mycobacterium avium</i>	6,0 – 7,0	5,0 – 7,0	< 5,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	7,0 – 7,5	4,2 – 9,3	< 4,2

(adaptado de Anderson, 2006)

Existem diversos estudos relativamente ao uso de ácidos orgânicos em leites não comercializáveis (principalmente colostro e leites de transição) ou mesmo em leites de substituição, contudo esta revisão apenas irá focar alguns dos tratamentos utilizados com os ácidos láctico, propiónico e fórmico (Quadro 13).

Quadro 13. Alguns tratamentos acidificantes efectuados anteriormente

Ácido	Nível de inclusão	Tipo de leite (temperatura)	Ensaio	Referência
Propiónico	1,0 %	Colostro (21, 32 e 39 °C)	Laboratorial	Muller e Syhre (1974)
	0, 5; 1,0 e 1,5 %	Colostro (21 e 37 °C)	Laboratorial	Rindsig <i>et al.</i> (1976)
	1,0 %	Colostro	Alimentação	Rindsig e Bodoh (1976)
	1,5 % (v/v)	Colostro	Laboratorial	Otterby <i>et al.</i> (1976)
	1,0 % (m/v)	Colostro	Alimentação	Carlson e Muller (1976)
	1,0 %	Colostro	Alimentação	Polzin <i>et al.</i> (1976)
	0,7 % (v/m); 1,0 % (v/v).	Colostro e leites não comercializáveis	Alimentação	Otterby <i>et al.</i> (1980)
	1,0 % (m/m).	Colostro	Alimentação	Eppard <i>et al.</i> (1982)
	1,0 %	Colostro	Alimentação	Jenny <i>et al.</i> (1984)

Quadro 13. (continuação) Alguns tratamentos acidificantes efectuados anteriormente

Ácido	Nível de inclusão	Tipo de leite (temperatura)	Ensaio	Referência
Fórmico	1,0 %	Colostro (21, 32 °C)		Muller e Syhre (1974)
	0,3 %	Colostro	Alimentação	Polzin <i>et al.</i> (1976)
	0,22 % (v/v)	Leite de substituição	Alimentação	Skrivanová <i>et al.</i> (1990)
	0,1 % (m/v) 0,5 % (m/v)	Colostro	Laboratorial	Mbuthia <i>et al.</i> (1997)
	0,23 %	Colostro; leite de substituição e leite comercializável	Laboratorial; alimentação (2 a 4 °C; 10 a 15 °C)	Kaya <i>et al.</i> (2003)
	0,3 %	Colostro; leite de substituição e leite	Alimentação	Anderson (2006)
Láctico	1,0 %	Colostro (21, 32 e 39 °C)	Laboratorial	Muller e Syhre (1974)
	1,0 % (v/m)	Colostro	Alimentação	Foley e Otterby (1979)
	1,2 % (v/m)	Colostro e leites não comercializáveis	Alimentação	Otterby <i>et al.</i> (1980)

O pH do colostro tratado com ácidos permanece estável durante o armazenamento. A adição de ácido propiónico em 1 % resultou num pH imediato inferior a 5 (Rindsig *et al.*, 1976; Carlson e Muller, 1976). Otterby *et al.* (1976) referem a acidificação de colostro com ácido propiónico (1,5 % em volume), a pH 4,2. Apesar de conter partículas em suspensão, a separação não foi tão aparente no colostro tratado com ácido propiónico devido ao tamanho das partículas ser menor.

Segundo Muller e Syhre (1974), o efeito do ácido propiónico (1 %) e do ácido fórmico (1 %) no tratamento de colostro a duas temperaturas (21 e 32 °C) foi a redução da degradação de proteínas, o que foi indicado pela proporção inferior do azoto total como NPN (azoto não proteico). Rindsig *et al.* (1976) referem que a proporção do azoto total em azoto proteico diminuiu na incubação de 28 dias, acrescentando que esta diminuição foi maior para o colostro sem tratamento e com uma temperatura mais elevada. A diminuição foi significativamente menor em concentrações de 1,5 % de ácido propiónico a 21 °C e de 1 e 1,5 % de ácido propiónico a 37 °C.

Os sólidos totais diminuíram durante 28 dias de incubação, em todos os tratamentos, embora a 21 °C a diminuição tenha sido menor para todas as adições de ácido propiónico, em comparação com os outros tratamentos (Muller e Syhre, 1974).

Quadro 14. Características e composição do colostro, leite de substituição e leite cru após acidificação com 0,23% de ácido fórmico.

		Colostro			Leite de substituição	Leite comercializável
		1ª a 4ª ordenha	5ª a 8ª ordenha	Total		
pH	Sem ácido	6,42±0,12	6,45±0,10	-	6,38±0,08	6,73±0,11
	Com ácido	4,63±0,29	4,41±0,17	4,53±0,20	4,64±0,08	4,39±0,08
Acidez, °SH		38,92±7,19	35,41±6,80	34,28±2,94	28,79±2,52	29,34±2,82
Gravidade específica		1,041±0,005	1,037±0,005	1,036±0,004	1,040±0,003	1,033±0,002
Matéria Seca, %		15,92±1,98	13,59±0,93	14,02±0,78	12,29±0,47	12,38±0,30
Proteína, %		6,44±1,40	5,05±1,04	5,19±0,93	3,96±0,65	3,73±0,06
Gordura, %		4,27±0,82	4,31±0,73	4,25±0,57	1,83±0,17	3,55±0,37
Lactose, %		3,75±1,02	3,55±0,92	3,83±0,82	5,66±0,81	4,19±0,21
Cinzas, %		0,85±0,13	0,75±0,13	0,75±0,13	0,81±0,12	0,64±0,11

(adaptado de Kaya *et al.* 2003)

Relativamente aos valores de acidez titulável, expressos em percentagem de colostro, estes diminuíram com o aumento da temperatura, para todos os aditivos, à excepção do ácido propiónico. Os valores de ácido láctico encontravam-se no intervalo de 1,4 para 1,8 %. Com o ácido propiónico atingiu-se um pH mais ácido no colostro, a temperaturas superiores (Muller e Syhre, 1974).

O colostro, muitas vezes, não se mantém estável em condições de armazenamento, a temperaturas quentes. Nestas condições, deve ser administrado aos vitelos, rapidamente, ou preservado, por adição de um agente conservante eficaz. A adição de 1 e 1,5 % de ácido propiónico tendem a retardar o crescimento bacteriano, particularmente a 37 °. Rindsig *et al.* (1976) referem que adições de ácido propiónico resultaram em percentagens relativamente constantes de bactérias proteolíticas, a 21 °C ao fim de 14 dias. A adição de ácido propiónico a 1 e a 1,5 % a 37 °C inibiu o crescimento bacteriano proteolítico a 21 °C, até ao sétimo dia. Rindsig *et al.* (1976) concluem que adições de ácido propiónico capazes de manter a um pH relativamente constante, conservam o odor e consistência física durante 3 a 4 semanas, retardando também o crescimento microbiano, particularmente de coliformes. Anderson (2006) conservou o leite, por acidificação a pH 4,0 – 4,5, realizando contagens de bactérias em amostras controlo e amostras acidificadas de leite cru, armazenadas à temperatura ambiente. Verificou que as bactérias se multiplicavam rapidamente na amostra controlo, originando colónias demasiado numerosas para contar, e que na amostra acidificada não ocorria nenhum crescimento bacteriano, após várias horas de contacto com o ácido fórmico a pH 4,2. Refere ainda que a acidificação criou condições desfavoráveis para o crescimento, ou sobrevivência, de muitas bactérias, devendo considerar-se também que o tempo de contacto com o ácido varia, de acordo com a bactéria e o pH. Tal efeito foi demonstrado através da ausência de crescimento de coliformes, após um tempo de

contacto de 1 hora a pH 4,1 e crescimento nulo de *Staph. aureus*, após um tempo de contacto de 4 a 6 horas a pH 4,1, no leite acidificado com ácido fórmico. Relativamente aos resultados obtidos a pH entre 4,0 e 4,5, a maioria das amostras não apresentava crescimento, ou este era inferior a 1000 ufc/ml de leite. Encontrou ainda microrganismos ambientais (como *Staph.* e *Strep.*) em menos de metade das amostras e com contagens entre 1 e 5 000 ufc/ml.

Mbuthia *et al.* (1997) testaram a acidificação sobre as imunoglobulinas do colostro, concluindo que a acidificação parece ter um efeito negativo sobre estas e, portanto, não deve ser usado para a preservação do colostro, na alimentação de vitelos recém-nascidos. A IgG1 foi a classe de imunoglobulinas mais afectada pelo armazenamento temperatura elevada, facto evidenciado pela diminuição, proporcionalmente maior em comparação com IgG2, IgA e IgM no colostro naturalmente fermentado (controlo) e no acidificado.

Outras considerações devem ser tomadas no momento do tratamento com ácidos, como por exemplo a temperatura do leite e a concentração do ácido. Relativamente à temperatura, Skrivánová *et al.* (1990) trataram o leite de substituição com ácido fórmico a uma temperatura de 16 °C. Já Kaya *et al.* (2003) colocaram o leite (Quadro 14) à temperatura ambiente num local fresco, e a temperaturas de refrigeração, antes da acidificação com ácido fórmico, correspondendo a temperaturas de 10 a 15 °C e 2 a 4 °C, respectivamente. Anderson (2005) argumenta que o leite, a ser acidificado, deve estar a temperatura de 5 °C, justificando que temperaturas superiores podem precipitar a proteína do leite rapidamente e de forma desigual.

Acerca da concentração utilizada de ácido, Kaya *et al.* (2003) usaram ácido fórmico com grau de pureza de 98 a 100%, diluído com água, numa proporção de 1:10. Anderson (2006) refere também estas proporções de diluição com o uso de inoculantes de silagem, que possuem entre 65 a 85 % de ácido fórmico, de modo a prevenir a precipitação ou coagulação local do leite.

2.2.2. Tratamento com peróxido de hidrogénio

O peróxido de hidrogénio (H₂O₂) é um forte agente oxidante, descolorante e germicida. Em soluções diluídas de peróxido de hidrogénio o efeito oxidante é reduzido. As concentrações usadas no sector leiteiro parecem ter pouca influência nos constituintes do leite, especialmente nas proteínas nativas. Geralmente, a influência do H₂O₂ é intensificada pelo aumento da temperatura e pelo tempo de acção. Altas concentrações de H₂O₂ devem ser diluídas em água antes de adicionadas ao leite (Lück, 1962).

O interesse do uso do H₂O₂ tem dois propósitos: primeiro como tratamento rápido (geralmente 1 hora), com vista à redução das contagens de bactérias totais e, segundo

como conservante de modo a manter a qualidade do leite por períodos maiores (geralmente horas ou mesmo dias), o que pode promover algumas reacções entre o H_2O_2 e os constituintes do leite. Relativamente ao valor nutritivo, determinações de proteínas biológicas, composição aproximada e análise vitamínica indicaram pequenas diferenças na composição e valor nutritivo, em leites tratados com concentrações de 0,1, 0,2 ou 0,5 % de H_2O_2 . Deve ter-se em conta que o H_2O_2 destrói uma grande proporção de vitaminas, principalmente o ácido ascórbico o que, no entanto, não é considerado crítico, na medida em que o leite não é considerado uma fonte importante desta vitamina. A digestão tripsínica da caseína pré-tratada com H_2O_2 é também relatada por vários autores. Não foram encontradas diferenças ao nível da lactose, gordura, azoto total e pH após adições de 0,04 % de H_2O_2 em leite. O conteúdo em lactose do leite não tratado era de 5,01 % mas após tratamento com 0,01; 0,02; 0,04 e 0,08 % de H_2O_2 a 30 °C, durante 16 horas, resultaram percentagens de 5,01; 4,95; 4,95 e 4,60 %, respectivamente (Lück, 1962).

O H_2O_2 é conhecido por ser um agente bactericida e bacteriostático eficaz, contudo o seu modo de acção não está bem definido, supondo-se que seja a presença de H_2O_2 residual que resulta neste efeito. A eficácia bactericida varia com o tipo de microrganismo, número, concentração de H_2O_2 , tempo de contacto e temperatura de tratamento, sendo que este efeito é mais eficaz em substâncias sem proteína (Lück, 1962).

Quadro 15. Concentrações de H_2O_2 tolerados por alguns microrganismos.

Microrganismo	Concentrações toleradas (%)
<i>E. coli</i>	0,05 – 0,01
<i>Staphylococcus aureus var. 1</i>	0,0125 – 0,025
<i>Staphylococcus aureus var. 2</i>	0,1 – 0,2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0,4

(fonte: Lück, 1963)

Amin e Olson (1967) trataram leite com *Staph. aureus 196E* com H_2O_2 a 0,05 %, sob condições variáveis. Estes autores reportaram que os intervalos de tempo necessários para a destruição de 90 a 99,99 % de *Staph. aureus* diminuíram significativamente quando as temperaturas de tratamento aumentaram de 37,8 para 57,2 °C. *Staph. aureus 196E* foi significativamente mais resistente a tratamentos térmicos a 54,4 °C sem adição de H_2O_2 , do que o tratamento com H_2O_2 a 0,05 %. Referem ainda que o armazenamento das culturas durante 96 h em leite a 4 °C provocou uma diminuição da resistência da cultura, acrescentando ainda que o número de estafilococos teve pouco efeito sobre as taxas de morte.

Em geral, as bactérias gram-negativas (por ex. coliformes) são mais susceptíveis à inactivação por H_2O_2 que as gram-positivas (por ex. esporoladas). O tempo de contacto também é um dos factores considerados em função da concentração (Lück, 1962).

Quadro 16. Tempos requeridos para a completa inactivação de alguns microrganismos em função da concentração de H_2O_2 .

Microrganismo	Concentração de H_2O_2					
	0,005 %		0,03 %		0,05 %	
	Horas	Minutos	Horas	Minutos	Horas	Minutos
<i>Streptococcus lactis</i>	6	0	4	0	2	30
<i>E. coli</i>	5	45	0	45	0	45

(fonte: Lück, 1963)

A temperatura do leite também é importante, na medida em que, à mesma concentração (0,08 % de H_2O_2) e com o mesmo tempo de tratamento (14 a 24 horas), as reduções nas contagens bacterianas variaram de 74,3 % a 96,3 % para temperaturas entre 20 – 22 °C e 28 – 30 °C, respectivamente (Lück, 1962).

Saha *et al.* (2003) referem dois testes que indicam as condições de conservação do leite por esta via: o teste da acidez e o teste da redução do azul-de-metileno.

Relativamente ao teste da acidez, referem que a acidez no leite é desenvolvida devido à hidrólise da lactose em ácido láctico pela fermentação nas bactérias. O H_2O_2 impede a fermentação bacteriana, por inibir o crescimento de bactérias no leite ácido. A acidez média de amostras não tratadas e amostras tratadas com 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05 e 0,06 % de H_2O_2 em leite foram $0,404 \pm 0,18$; $0,233 \pm 0,08$; $0,211 \pm 0,06$; $0,198 \pm 0,04$; $0,192 \pm 0,04$; $0,188 \pm 0,04$ e $0,177 \pm 0,03$ %, respectivamente. Foram encontradas diferenças significativas na acidez dos diferentes tipos de amostras de leite.

O teste da redução do azul-de-metileno dá uma ideia sobre a população bacteriana em amostras de leite não tratadas e tratadas com H_2O_2 . O tempo de redução do azul-de-metileno depende da quantidade de microrganismos presentes no leite. Quanto maior o número de microrganismos, menor será o tempo de redução e vice-versa. O tempo de redução de cor do leite cru de amostras foi inferior a amostras sem tratamento, devido à multiplicação rápida da população bacteriana no leite cru. Por outro lado, porque o H_2O_2 mata ou inibe o crescimento da população bacteriana, o tempo de redução foi maior em amostras de leite tratadas com H_2O_2 . A redução do tempo depende da quantidade de H_2O_2 utilizada na conservação do leite. Os tempos de teste de redução de cor do azul-de-metileno foram de 8, 10, 11, 12, 12, 14 e 14 horas para amostras de leite sem tratamento e 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05 e 0,06 %, de H_2O_2 , respectivamente.

Concluem ainda que o H_2O_2 é eficaz para matar ou inibir o crescimento de bactérias no leite cru e pode ser usado como conservante de leite. Adições de 0,03 a 0,04 % de H_2O_2 em leite cru são suficientes para preservar o leite entre 22 a 24 horas.

A quantidade de H_2O_2 requerida para uma inibição significativa do crescimento bacteriano é pequena. Grande parte deste H_2O_2 é decomposta pela catalase produzida naturalmente pelos microrganismos e leucócitos do leite (Lück, 1962).

Testou o tratamento do leite com concentrações superiores, onde demonstrou que, através da adição de 0,4 %, 0,8 % ou 1,2 % de H_2O_2 , o leite pode ser conservado a 5 °C, durante 24 a 35 dias, 32 – 40 dias ou 100 – 110 dias, respectivamente (Lück, 1962).

Em termos toxicológicos, é aconselhada a remoção total do H_2O_2 , quando este é utilizado como conservante. Alguns estudos indicam que o H_2O_2 causa decréscimo no número normal de mitocôndrias, em intestino de rato, induzindo também mutações em microrganismos (exemplo *E. coli*). Assim, devem ser avaliados, previamente, os riscos relacionados com a presença de H_2O_2 residual, apesar de que o H_2O_2 ser rapidamente hidrolisado no tracto gastrointestinal, e do facto dos tecidos vivos poderem produzir pequenas quantidades deste composto. Estes problemas podem ser eliminados, rápida e facilmente, através da adição de catalases sintéticas pois, após o tratamento enzimático, os produtos resultantes são água e oxigénio, deixando de existir qualquer H_2O_2 residual (Lück, 1962).

2.2.3. Outros tratamentos

O hipoclorito de sódio (NaOCl) possui um coeficiente de fenol de grande magnitude que pode ser convertido em cloreto de sódio e oxigénio aquando da decomposição. O seu uso foi testado em leite de vaca por Zoller e Eaton (1923), procurando demonstrar a taxa de destruição de NaOCl e o efeito de vestígios e excessos de hipoclorito de sódio sobre a flora bacteriana no leite. Os resultados desse estudo mostraram que, a temperaturas constantes, quantidades de NaOCl (até ao 0,02 % de cloro disponível) são perdidas no leite quase imediatamente sem serem detectados na sua aparência. Estes estudos mostraram também que a taxa de destruição do NaOCl aumentou rapidamente com a temperatura resultando numa "cloronização" da caseína e de outras proteínas. Foram também testados períodos diferentes de contacto, de modo a determinar a rapidez e a permanência da acção bactericida através de soluções com concentrações de NaOCl correspondentes a um conteúdo de "cloro disponível" de 0,0001 a 0,1 % no leite. O pH do leite com 0,01 % cloro disponível foi de 6,8 - 6,9, enquanto que no caso de 0,1 % o pH variou de 7,1 a 7,2.

No que diz respeito ao leite de vaca, concluíram que o hipoclorito de sódio tem um efeito bactericida relativamente baixo, e somente quando um excesso de NaOCl estava presente (como indicado pelo teste de iodeto de sódio de amido) conseguiram-se obter taxas de redução entre os 50 e 80,8 %. O baixo efeito bactericida foi justificado pela presença de matéria orgânica no leite.

Recentemente, foram introduzidos novos conceitos de tratamentos clorados, como por exemplo o recurso a águas electrolisadas neutras (AEN) como desinfectantes de alto nível, não corrosivos e capazes de penetrar membranas celulares mais facilmente em comparação com a água ácida electrolisada ou o com hipoclorito de sódio. AEN é uma água super-oxidada, de pH neutro, não tóxica que tem um prazo de validade alargado. É obtida por um processo electroquímico (oxidação-redução) através da transmissão de corrente eléctrica, gerando assim um número de espécies oxidadas. As espécies químicas conhecidas presentes na AEN são: ácido hipocloroso, hipoclorito de sódio e cloreto de sódio, estando as concentrações dependentes do pH, corrente eléctrica e outros processos.

O seu mecanismo de acção é baseado em iões livres que reagem rapidamente e desnaturam as proteínas (não devendo ser usado em produtos de base de proteínas, uma vez que irá reagir e destruir as proteínas); seguidamente, em contacto com um microrganismo, ataca as proteínas bacterianas localizadas nas membranas celulares. Secundariamente, devido à diferença de osmolaridade conforme a concentração aplicável (a concentração do ião na solução *versus* no citoplasma), é induzida uma ruptura na membrana celular, levando à lise da célula. Sendo as espécies químicas presentes HOCl e OCl⁻, acredita-se que a acção bactericida é devida à combinação destas substâncias. Esta eficiência é reportada por Li XW *et al.* (1996) que, em condições de matéria orgânica livre, testaram a eficácia microbida em laboratório. Os resultados mostraram que AEN poderia matar completamente todos os *Staph. aureus* e *E. coli* dentro de 15 segundos, e para matar completamente esporos de *Bacillus subtilis* levou 10 minutos. Stevenson *et al.* (2004) indicam que AEN pode ser um meio eficaz para se controlar *E. coli* O157:H7 em água de animais com teores de matéria orgânica baixa. Fenner *et al.* (2006) referem que os compostos azotados, como proteínas são os consumidores de cloro, isso significa que irão reagir instantaneamente com o cloro livre residual (HOCl) formando compostos N-cloro sem efeito bactericida, não sendo verificado também qualquer efeito bacteriostático ou mesmo fungistático, pela mesma razão. Concluem ainda que a rápida inactivação da actividade antimicrobiana, após o contacto com a matéria orgânica, é a maior desvantagem da aplicação de AEN.

2.3. Alimentação de vitelos com leites não comercializáveis

2.3.1 Leites sem tratamento

Kesler (1981) refere que o leite de vacas tratadas com antibióticos para mastite e outras perturbações pode ser usado para a alimentação de vitelos. O crescimento dos vitelos será, pelo menos, igual ao obtido pela alimentação à base de colostro ou de outros alimentos líquidos. Problemas de saúde, incluindo diarreias, serão menores ou iguais, na alimentação com leites de controlo. Dados limitados indicam que a incidência de problemas no úbere não aumentará acima do normal quando as vitelas, alimentadas com leite com resíduos de antibióticos, entraram em lactação.

Barto *et al.* (1981), após inoculação de *Staph. aureus* em leite, referem que não foi isolado *Staph. aureus* de qualquer tecido do corpo de vitelos alimentados com este leite submetidos a autópsia às 7 semanas de idade. Além disso, não houve nenhuma diferença na incidência de infecções em úberes por *Staph. aureus* no primeiro parto, entre novilhas expostas ao organismo e controlos. Concluíram que, aparentemente, em condições de alojamento individual existem poucos motivos de preocupação, com os efeitos negativos da alimentação de vitelas com leite mastíticos.

Kesler (1981) acrescenta ainda que devem ser tomadas três precauções na alimentação com leite mastíticos: adiar a alimentação com leite mastítico até depois do 1º dia de vida do vitelo, devido à possível permeabilidade do intestino aos microrganismos; impossibilitar, por via física, o *cross-sucking*, que se define como um comportamento anormal de amamentação não nutritiva entre os vitelos em várias regiões do corpo; ter cuidado na alimentação de leite com resíduos para os vitelos destinados a carne, visto que os resíduos de antibióticos podem permanecer nos tecidos.

2.3.2. Leites com resíduos de antibióticos

Prange *et al.* (1984) determinaram possíveis resíduos na urina, rim e músculo após consumo de leite contendo procaína penicilina G (penG), em vitelos *Holstein*, com 4 a 8 dias de idade. Encontraram resíduos na urina, na maioria das amostras, tanto em vida como após o abate. No entanto, não foram detectados resíduos nos rins ou músculos de vitelos controlo ou tratados.

O leite de substituição com penG ou amoxicilina causa níveis detectáveis na urina, resultando em testes positivos para os possíveis resíduos voláteis. No fígado, podem ser encontrados resíduos de substâncias voláteis três horas depois de os vitelos consumirem

leite de substituição com 11,7 µg/ml de penG; no entanto, os resíduos no músculo foram, nessa altura, encontrados no limite ou mais abaixo do nível de tolerância para penG. Vinte e quatro horas após a alimentação de leite de substituição com penG ou amoxicilina, os testes foram negativos para os possíveis resíduos voláteis (Musser *et al.*, 2001).

Estes resultados indicam que o aleitamento de vitelos com leite contendo penG ou amoxicilina, nos níveis testados, tem potencial para produzir resíduos a curto prazo. Contudo, deve-se abster a comercialização de vitelos recentemente alimentados com leite de vacas tratadas com antibióticos β-lactâmicos, durante pelo menos 24 h. A administração de leites de substituição não medicados ou leite de vacas não tratadas antes da comercialização dos vitelos reduzirá a eventual ocorrência de resíduos (Musser *et al.*, 2001).

Langford *et al.* (2003) procuraram determinar as concentrações de antibióticos no leite e os efeitos da alimentação de vitelos com leite com resíduos. Assim, a concentração média de antibióticos β-lactâmicos encontrada na primeira ordenha após o tratamento foi 5,6 µl/kg, em que a concentração variava de 1,8 a 50,4 µl/kg. A concentração na primeira ordenha, do dia seguinte ao tratamento, foi muito inferior (0,8 µl/kg), apresentando no último dia do intervalo de segurança uma concentração de 0,01 µl / kg.

As taxas de crescimento e os consumos de leite, concentrado e feno foram semelhantes para todos os grupos de tratamento. Também não houve nenhuma diferença significativa entre os grupos de tratamento e a incidência de diarreias. Durante o período de tratamento, houve um efeito altamente significativo da antibioterapia ($P < 0,0001$), com média de valores de inibição, passando de $2,89 \pm 0,14$ para os vitelos alimentados com leite sem penicilina, para $0,70 \pm 0,10$ para vitelos alimentados com leite com 50 µl/kg de antibiótico. Em conclusão, a alimentação de vitelos com leite contendo antibióticos, aumenta a resistência das bactérias aos antibióticos no intestino delgado dos vitelos, especialmente se forem alimentados com leite com concentrações mais elevadas de antibióticos, como por exemplo vacas que iniciaram o tratamento para mastite. Este aumento da resistência é uma preocupação para a saúde e para o tratamento do vitelo, ou mesmo para outros animais que partilham o mesmo ambiente.

2.3.3. Leites não comercializáveis acidificados

2.3.3.1. Ácido propiónico

Polzin *et al.* (1976) avaliaram a adição de 1% de ácido propiónico em colostro. Os ganhos médios diários (Quadro 17) não diferiram significativamente ($P > 0,05$) entre os

tratamentos (leite cru, colostro fermentado e tratado com ácido propiónico), embora os vitelos alimentados com leite cru apresentassem maiores ganhos de peso, referindo ainda que não ocorreram recusas de dieta líquida durante grandes períodos, apenas durante os primeiros 2 dias da experiência. As doses diárias de concentrado ingeridas para os vitelos alimentados com colostro fermentado foram inferiores ($P < 0,05$) relativamente aos outros animais durante os dias 15 a 28.

Quadro 17. Performance dos vitelos alimentados com leite cru, colostro fermentado e colostro acidificado com ácido propionico a 1%.

Item	Leite cru	Colostro fermentado	Colostro com ácido Propiónico
Líquido consumido (kg)			
4 – 14 dias	35,0	33,5	34,6
15 – 28 dias	44,5	42,6	44,0
Líquido recusado			
4 – 14 dias	0	0	0
15 – 28 dias	0	0	0
Concentrado consumido (kg)			
4 – 14 dias	0,5	0,2	0,3
15 – 28 dias	4,1	2,3	3,2
Ganhos diários (g)			
0 – 14 dias	88	47	41
15 – 28 dias	281	186	241
0 – 28 dias	184	116	141

(adaptado de Polzin *et al.*, 1976)

Os ganhos de peso para os vitelos alimentados com colostro tratado com ácido propiónico foram intermédios e as diarreias não foram diferentes ($P > 0,05$) entre os tratamentos.

Contudo outros autores (Carlson e Muller, 1976; Rindsig *et al.*, 1976) também trataram colostro com ácido propiónico (1%) obtendo crescimentos de 250 g das 0 as 4 semanas de em vitelos alimentados com leite cru e de 210 g em vitelos alimentados com colostro tratado com ácido propiónico. A grande recusa de colostro tratado com ácido propiónico é a principal diferença entre os resultados de Polzin *et al.* (1976). A degradação de proteínas, o alto N-PN, um pH inferior e o cheiro característico do ácido propiónico terá, provavelmente, conduzido a uma reduzida aceitabilidade do ácido propiónico relativamente a dietas sem tratamento. Apenas com alimentação forçada, com leite tratado foram obtidos melhores ingestões e consequentes crescimentos. Apesar da baixa ingestão de líquido e concentrado pelos vitelos alimentados com leite tratado, foi demonstrada uma maior eficiência alimentar nas primeiras 4 semanas. Eppard *et al.* (1982) reportam que os vitelos machos tendiam a maiores recusas, e eram mais sensíveis ao ácido que as vitelas. Quase todas as recusas de colostro ocorreram durante os primeiros de 2 a 3 dias de alimentação.

Após 3 dias, as recusas eram próximas de zero, a menos que o vitelo se encontrasse doente, indicando aceitabilidade do colostro extremamente ácido (pH \approx 4,0).

2.3.3.2. Ácido Fórmico

Polzin *et al.* (1976) adicionaram 0,3 % ácido fórmico ao colostro não fermentado. Os ganhos foram nulos ou negativos durante as primeiras duas semanas de vida (Quadro 18).

Quadro 18. Performance dos vitelos alimentados com leite cru, colostro fermentado e colostro acidificado com ácido fórmico a 0,3 %.

Item	Leite cru	Colostro fermentado	Colostro com ácido fórmico
Líquido consumido (kg)			
4 – 14 dias	33,5	32,8	33,8
15 – 28 dias	45,0	43,8	44,9
Líquido recusado			
4 – 14 dias	1,9	1,9	1,5
15 – 28 dias	0	0,3	0
Concentrado consumido (kg)			
4 – 14 dias	0,4	0,8	0,8
15 – 28 dias	3,2	3,8	4,4
Ganhos diários (g)			
0 – 14 dias	0,7	-15	-42
15 – 28 dias	456	356	483
0 – 28 dias	224	170	220

(adaptado de Polzin *et al.*, 1976)

As razões da falta de ganho de peso não eram aparentes, mas os ganhos foram 356 para 456 g/dia, durante 15 a 28 dias. A ingestão de concentrado foi cerca de 0,4 kg por dia, o que foi considerado baixo. Dos 15 aos 28 dias, os vitelos alimentados com leite e colostro tratado com ácido ganharam mais peso do que os vitelos alimentados com colostro fermentado, mas a ingestão total de sólidos e líquidos, foi semelhante. Ganhos de peso às duas semanas não diferiram entre os tratamentos ($P > 0,05$).

2.3.3.3. Ácido láctico

Foley e Otterby (1979) alimentaram vitelos com colostro armazenado por congelamento, fermentação ou tratamento com ácido láctico a 1 % (Quadro 19). As recusas de colostro foram mínimas e a saúde dos vitelos foi excelente. Não houve divergências nos aportes de concentrado e de proteína bruta e eficiências alimentares de proteína bruta. Os vitelos alimentados com colostro, armazenado por congelação, consumiram mais matéria seca relativamente aos vitelos alimentados com colostro fermentado e mais matéria seca total do que os outros tratamentos dos 4 a 28 dias de idade. O colostro congelado, fermentado e o tratado com ácido láctico em dietas líquidas de vitelos que foram bem aceites (sem efeitos aparentes na ingestão), demonstrado por crescimentos satisfatórios e

boa saúde. A eficácia do ácido láctico como um conservante de colostro exige investigação, especialmente a temperaturas mais elevadas, antes de quaisquer recomendações gerais para a utilização do ácido láctico.

Quadro 19. Performance dos vitelos alimentados com colostro congelado, colostro fermentado e colostro acidificado com ácido láctico a 1 %.

Item	Colostro congelado	Colostro fermentado	Colostro com ácido láctico
Líquido consumido (kg MS/dia)			
4 – 28 dias	0,47	0,40	0,45
Líquido recusado			
% de vitelos	0	16,7	22,2
Dias de recusa /vitelo	0	0,3	0,2
Quantidade /vitelo/dia (kg)	0	0,03	<0,01
Concentrado consumido (kg/dia)			
4 – 14 dias	0,09	0,08	0,10
15 – 28 dias	0,32	0,26	0,27
Ganhos médios diários (g /dia)			
1ª semana	-230	-290	-350
2ª semana	130	160	380
3ª semana	440	430	370
4ª semana	590	400	410
0 – 4 semanas	230	180	200

(adaptado de Foley e Otterby, 1979)

2.4. Algumas considerações acerca da alimentação de vitelos em estações automáticas.

A alimentação líquida automática de vitelos, controlada por computador, tem muitas vantagens sobre a alimentação a balde. Os vitelos podem ingerir pequenas quantidades de leite à temperatura ideal, várias vezes por dia, sendo possível controlar estas ingestões (através do colar identificador) e seguir a dose individual diária dos vitelos. Refeições frequentes e em pequenas porções podem conduzir a um pH médio inferior do abomaso e isso irá reduzir a quantidade de agentes patogénicos. Existem, no entanto, algumas desvantagens do uso deste sistema. Quando o tamanho do grupo é grande e, conseqüentemente, a variação de idade é grande, os vitelos maiores podem perturbar os vitelos mais jovens quando estes estão a consumir. Em geral, um grupo pode ser de 12 a 55 vitelos, dependendo da variação de idade e tamanho do alojamento, podendo dizer-se que quando a variação de idades é menor, o tamanho de grupo pode ser maior.

Doenças respiratórias, crónicas e agudas, e diarreias ocorrem mais frequentemente em vitelos alojados em grupo, com sistemas de alimentação de leite controlado por computador (15 vitelos por grupo), que nos vitelos criados individualmente com balde e alimentados duas vezes por dia. O peso de abate dos animais, que recuperaram lentamente

ou não recuperaram de doenças respiratórias, foi em média, 32 kg menor do que em vitelos saudáveis. Além disso, os animais cronicamente doentes nos grupos tiveram de fazer um esforço maior para obter a sua ração diária, do que os animais em compartimentos individuais. Estudos demonstram que, em função do tamanho do grupo, uma proporção mais elevada de vitelos criados em grupos de 16, com alimentador controlado por computador, foi afectada por diarreias e broncopneumonias e mostrou menos ganhos de peso do que os vitelos criados em grupos de oito, com alimentação a balde (Hepola, 2003).

A diarreia é a causa de morte mais comum em vitelos jovens e é quase inteiramente evitável por um bom manejo. O período de risco mais elevado de diarreia é do nascimento até cerca de 1 mês de idade. Os sinais clínicos de diarreia começam com fezes moles e podem, em casos extremos, progredir para um estado de semi-coma devido a desidratação.

Razzaque *et al.* (2009) tentaram encontrar os factores para as maiores taxas de risco de mortalidade e morbidade em vitelos. Assim, consideram que o manejo pode ser a razão para maiores taxas de mortalidade e morbidade em casos de diarreia e doenças respiratórias. Os agentes patogénicos mais prevalentes em casos de diarreia eram *E. coli*, seguidos de *Salmonella*, *Cryptosporidium* e de *Rotavirus*. Em casos de pneumonia, *Pasteurella spp* e *Streptococcus spp* foram isolados em 70 % dos vitelos doentes.

Borderas *et al.* (2009) referem que há uma grande necessidade de métodos melhores de detecção de doenças entre os vitelos alojados em grupo, alimentados com um alimentador automático de leite. Para o mesmo nível de alimentação, existem vitelos que sucumbem à doença e vitelos saudáveis. Nos dias seguintes, as doenças clinicamente identificadas (gastroenterites ou doenças respiratórias), induziram nos vitelos doentes uma diminuição na ingestão de leite ($-2,59 \pm 0,7$ L/dia), diminuição da frequência de visitas ao alimentador de leite ($-2,43 \pm 0,3$ visitas/dia) e aumento da duração de cada visita ao alimentador de leite ($1,66 \pm 0,5$ min / visita) em comparação com os vitelos saudáveis. Os vitelos doentes podem então ser identificados por estes três parâmetros alimentares e comportamentais.

3. Materiais e Métodos

3.1 Materiais

3.1.1. Caracterização da manada

Este estudo foi realizado numa exploração leiteira do distrito de Lisboa, concelho de Sintra, sendo a manada constituída por um efectivo total de 452 animais de genéticas diferentes, desde Julho de 2007, de acordo com o Projecto *Crossbreeding* com as raças *Swedish Red* e *Montbeliard* (Hassen, 2006). Assim possui 354 animais de raça pura *Holstein* (78%), 54 animais cruzados de *Montbeliard* (12%) e 44 animais cruzados de *Swedish Red* (10%).

Na altura em que o trabalho foi finalizado, encontravam-se em produção 215 vacas, com uma média diária de 7300 kg/dia (34 kg/dia/vaca) e uma média de CCS de 297 000 células/ml (num intervalo de 372 000 – 221 000 células/ml).

3.1.2. Caracterização dos vitelos utilizados nos ensaios de alimentação

Neste ensaio foram analisados 46 vitelos (24 machos e 22 fêmeas) durante os dois períodos de ensaio, sendo a maioria F₁ originados de cruzamentos de *Holstein-Frisia* com *Swedish Red* ou *Montbeliard*, tentando-se formar grupos homogéneos relativamente ao número, à raça e ao sexo, a partir de todos os vitelos nascidos no mês de Junho e todos os nascidos no mês de Setembro. Assim, subdividindo nas respectivas raças e períodos, foram utilizados 4 vitelos *Holstein*, 6 vitelos cruzados de *Swedish Red* e 13 cruzados de *Montbeliard*, no primeiro período, e 7 vitelos *Holstein*, 4 vitelos cruzados de *Swedish Red* e 12 cruzados de *Montbeliard*, no segundo período de ensaio.

3.1.3. Caracterização do viteleiro e da estação de alimentação automática

O viteleiro com uma área total de 205 m², estava dividido em dois espaços (Anexo I), onde os vitelos eram colocados em grupos, consoante a sua idade, podendo assim designar-se por primeiro estágio (geralmente até aos 20 dias) e segundo estágio (desde os 20 dias até à saída do viteleiro). Estas instalações dispunham também de bebedouros de nível e as camas eram feitas de fenos de baixa qualidade.

A alimentação líquida era fornecida através de uma estação de alimentação automática programável Dairy Feed J C 400 Combi (Westfalia Source, Bona, Alemanha)

(Anexo II), alimentada por uma tremonha de leite de substituição de 35 kg de capacidade e por um tanque em aço inox, de 300 litros de capacidade aproximada, onde o leite não comercializável era colocado. O fornecimento de concentrado era feito *ad libitum* para vitelos no primeiro estágio de desenvolvimento e por um distribuidor automático programável Dairy Feed J1000 (Westfalia Source, Bona, Alemanha), no segundo estágio.

3.1.4. Amostras de leite não comercializável

O leite não comercializável, utilizado neste trabalho, consistiu numa mistura em proporções variáveis, de leite e/ou colostro, produzido por grupos variáveis de vacas paridas, mamíticas, ou em final de antibioterapia e vacas que completaram a sua lactação, ou seja vacas em pré-secagem.

Foram efectuados três períodos de recolha e caracterização dos leites, sendo designados por: caracterização do leite; ensaios com diferentes produtos químicos e tratamento do leite. Assim:

- Caracterização do leite: foram colhidas amostras de 25 ml, em tubos Falcon esterilizados na ordenha da manhã e da tarde, durante os meses de Fevereiro e Março.
- Ensaio com diferentes produtos químicos: foram colhidas amostras na ordenha da manhã em frascos Schott de 2000 ml de capacidade, durante o mês de Maio;
- Tratamento do leite: Foram colhidas amostras para tubos Falcon esterilizados de 25ml, em 9 dias aleatórios, durante os meses de Junho – Julho.

As amostras foram recolhidas utilizando procedimentos padronizados (Anónimo, 1982), sendo realizadas as determinações analíticas no Laboratório de Microbiologia, pertencente ao Departamento de Botânica e Engenharia Biológica do ISA.

3.1.5. Leite de substituição e alimento composto completo

O leite de substituição utilizado para vitelos foi Bacilactol Rojo (Saprogal, Cartaxo, Portugal), que possui na sua formulação soro de leite (42 %), concentrado proteico de soja¹ (40 %), óleo vegetal de palma (9%), óleo vegetal de copra (6 %), proteína de trigo hidrolisada (1 %) e carbonato de cálcio (0,6 %) (Quadro 20).

¹ Produzido a partir de soja geneticamente modificada

Quadro 20. Composição analítica do leite de substituição.

Constituintes analíticos	Percentagem (m/m)	Aditivos	Por kg de alimento
Humidade	5	Vitamina A	40000 UI
Proteína bruta	24,0	Vitamina D3	5000 UI
Gordura bruta	15,0	Vitamina E (α -tocoferol)	80 mg
Fibra bruta	1,4	Vitamina C	80 mg
Lactose	30	Vitamina K	4 mg
Cinza total	9,2	Vitamina B1	3 mg
Cálcio	0,70	Vitamina B2	6 mg
Fósforo	0,70	Vitamina B6	4 mg
Magnésio	0,23	Vitamina B12	20 μ g
Ferro	135 ppm	Cobre (sulfato, pentahidratado)	10 mg
Manganésio	60 ppm	<i>Bacillus licheniformis</i>	
Selénio	0,3 ppm	DSM 5749 - N. °CE:E1700	0,64*10 ⁹ UFC
Zinco	110 ppm	<i>Bacillus subtilis</i>	
Iodo	1,5 ppm	DSM 575 - N. °CE:E1700	0,64*10 ⁹ UFC
Energia Bruta ¹ : 4,14 Mcal/kg			

O alimento composto complementar (concentrado) utilizado para vitelos, até aos 4 meses, foi o Provitel (Provimi, Alverca, Portugal), que possui na sua formulação trigo (44,91%), sêmea de trigo (21,76%), bagaço de soja descascada e torrada obtida por extracção² (18,29%), glúten feed de milho (5,95%), carbonato de cálcio (1,86%), F.F. de milho rico em amido (2,30%), cloreto de sadio (0,58%), banha pura de suíno (0,25%) e fosfato dibásico de cálcio (0,14%) (Quadro 21).

Quadro 21. Composição analítica do alimento composto completo

Constituintes analíticos	Percentagem (m/m)	Aditivos	Por kg de alimento
Proteína bruta	18	Vitamina A	6000 UI
Celulose bruta	5,2	Vitamina D3	2000 UI
Gordura bruta	2,5	Alfatocoferol (vitamina E)	50 mg
Cinza total	7,5	Cobre (CuSO ₄ .5H ₂ O)	10 mg
Energia Bruta ³ : 1,78 Mcal/kg			

Aglomerante: Sepiolita: \leq 2%

¹ Calculado a partir de NRC (2001): $EB = 0,057 PB(\%) + 0,092 GB(\%) + 0,0395 Lac(\%)$

² Produzido a partir de soja geneticamente modificada

³ Calculado a partir de NRC (2001): $EB = 0,057 PB(\%) + 0,092 EE(\%) + 0,0415 Carbohidratos(\%)$

3.1.6. Meios de cultura e soluções utilizadas

3.1.6.1. Meio de cultura PCA – Plate Count Agar (Merk, New Jersey, EUA)

Modo de preparação: dissolver 11,25 g de meio desidratado em 500 ml de água destilada, acertar a pH $7 \pm 0,2$, a 25 °C; esterilizar a 121 °C, durante 15 minutos; guardar à temperatura ambiente, até utilização final (Quadro 22).

Quadro 22. Composição do meio de cultura PCA

Substância	Gramas/litro	Substância	Gramas/litro
Peptona de caseína	5,0	Glucose D(+)	1,0
Extracto de levedura	2,5	Agar – Agar	14,0

3.1.6.2. Solução de Ringer (Oxoid, Hampshire, Reino Unido)

A solução de Ringer, utilizada, é comercializada sob a forma de pastilhas. Assim, dissolveu-se uma pastilha em 500 ml de água destilada, acertou-se o pH a 7,0. Esterilizou-se a solução a 121 °C, durante 15 minutos.

Quadro 23. Composição e características da solução de Ringer

Substância	Gramas/litro
Cloreto de sódio	2,25
Cloreto de potássio	0,105
Cloreto de cálcio hexahidratado	0,12
Bicarbonato de sódio	0,05

3.1.6.3. Meio de cultura para Bolores e Leveduras (GYP)

Preparação: dissolver os constituintes do meio em 1000 ml de água desmineralizada. Esterilizar a 121°C, durante 15 minutos.

Quadro 24. Composição do meio GYP (Glucose – Yeast – Peptone)

Substância	Fabricante	Gramas/litro
Extracto de levedura	Biokar Diagnostics, Paris, França	5,0
Peptona	Oxoid, Hampshire, Reino Unido	5,0
Glucose	Applichem, Dramstadt, Alemanha	20,0
Agar – Agar	Iberagar, Coima, Portugal	20,0

3.1.6.4. Meio de cultura CHROMagar Listeria (CHROMagar, Paris, França)

O meio de cultura CHROMagar é comercializado desidratado na forma de um meio base e de um suplemento. Depois do meio base ter sido esterilizado a 121 °C, durante 20 minutos e arrefecido a 60 °C, adicionou-se o suplemento, previamente hidratado de acordo com as instruções do fabricante. O meio de cultura depois de preparado foi distribuído em placas de Petri e armazenado, até à sua utilização, a 2 - 8 °C, por um período inferior a 15 dias.

Quadro 25. Composição do meio de cultura CHROMagar

Componentes	Gramas/litro	Componentes	Gramas/litro
Peptona	26	Ácido nalidílico	15
Extracto de levedura	8	Ceftazidina	0,02
Factores de crescimento	4,2	Cicloheximida	0,1
Cloreto de sódio	5	Polimixina B	100 000 UI
Fosfato di-sódico	2,5	Agar	15
Cloreto de lítio	10	Substrato L.M.	20 ml
X-glucose	0,05		

3.1.7. Produtos químicos adicionados ao leite não comercializável.

Neste trabalho, foram utilizados várias substâncias químicas, tais como ácidos orgânicos fracos, peróxido de hidrogénio e catalase e água electrolisada.

As especificações técnicas dos produtos encontram-se no Quadro 26.

Quadro 26. Especificações técnicas dos produtos químicos utilizados

Nome comercial	Substância activa principal	Composição	Especificações	Fornecedor
Amasil NA	Ácido fórmico (E236)	Mistura de ácido fórmico (75 % ± 2 %) e de formiato sódico (7 ± 1 % sódio) Conteúdo em água: 18 ± 2 %	Densidade: 1301 kg/m ³ (20 °C) Valor de pH: > 2 (10 % solução em água) Pressão de vapor: 12 mbar (20 °C) Ponto de fusão: < 25 °C Ponto de inflamação: > 106 °C Viscosidade: 9,3 mPa.s ⁻¹ (20 °C) Claro, líquido incolor com odor ácido Solubilidade: miscível com água em qualquer proporção	Tecadi (Santarém, Portugal)
Lafeed 80	Ácido láctico (E270)	Ácido láctico para alimentação animal; ácido láctico L(+) natural, que é produzido por fermentação de açúcares.	Resultado (análise volumétrica, expresso em ácido láctico): min. 78 % m/m Resultado ácido láctico (HPLC): min. 74 % m/m Densidade a 20 °C: 1,20 – 1,30 g/ml; Viscosidade (20 °C): máx. 150 CPS Cinzas: máx. 2,5 %; Açúcares: máx. 3,5 % Ferro: máx. 500 ppm; Cálcio: máx. 1200 ppm Cloretos: máx. 300 ppm; Sulfatos: máx. 1000 ppm Forma: Líquido; Cor: Castanho-escuro	Tecadi (Santarém, Portugal)
Lupro-Grain	Ácido propiónico (E280)	Mistura de ácido propiónico (90 %), propionato de amónio (4 % 1,2-propanodiol (E 490); 4 % amoníaco) Conteúdo em água: máx. 2 %	Densidade: aprox. 1,031 kg/m ³ (20 °C) Valor pH: aprox. 4,1 - 4,4 (sem diluir) Intervalo de ebulição: 143 - 211 °C; Ponto de cristalização: - 29,5 °C; Ponto de inflamação: 62,5 °C; Ponto de ignição: não inflamável até 110 °C Viscosidade: 13,7 mPa.s ⁻¹ (20 °C) Solubilidade: Totalmente solúvel em água Líquido incolor a amarelado com cheiro penetrante	Tecadi (Santarém, Portugal)

Quadro 26. Especificações técnicas dos produtos químicos utilizados (continuação)

Nome comercial	Substância activa principal	Composição	Especificações	Fornecedor
<u>Lupro-Cid</u>	Ácido fórmico (E236) Ácido propiónico (E 280)	Mistura de ácido fórmico (63,75 %) e ácido propiónico (25 %) Conteúdo em água: 11,25 %	Densidade: 1,150 kg/m ³ ; Valor pH: 2,2 (em 100 g/l de água) Ponto de ebulição: 107 - 117 °C; Ponto de fusão: -18,2 °C Ponto de inflamação: 55 °C Pressão de vapor: 24 mbar Viscosidade: 1,86 mPa.; Solubilidade: miscível na água em qualquer proporção; Líquido límpido de cheiro penetrante	Tecadi (Santarém, Portugal)
<u>Água oxigenada 130 V</u>	Peróxido de hidrogénio (35 %/m)	H ₂ O ₂ – 396 g/l	Conteúdo em oxigénio activo: 16,5 % Gravidade específica a 20 °C / 4 °C : 1,13 Ponto de ebulição: 108 °C; Ponto de fusão, – 33 °C Viscosidade a 25 °C: 1,0 CPS; índice de refração a 25 °C: 1,355; Constante dieléctrica a 20 °C: 83 Pressão de vapor total (30 °C): 23,3 mm Hg Pressão parcial (30 °C): 0,28 mm Hg Calor de diluição (25 °C e 1 atm): – 84 cal/g mole Tensão superficial (20 °C): 74,6 dynes/cm	Bovisul (Vila Franca de Xira, Portugal)
<u>Catalasa 1:100</u>	Catalase	1 Litro de catalase decompõe 100 partes de H ₂ O ₂ em 15 a 30 min entre os 30 e os 37 °C		Enzilab (Porto, Portugal) Bovisul (Vila Franca de Xira, Portugal)
<u>Probiolac-qua</u>	Cloro	Água e sais minerais	Espécies químicas conhecidas: Sódio hipocloroso; Hipoclorito de sódio; Cloreto de sódio Densidade: 0,939 pH: 7,05 Potencial Redox: 8 mV Cloro disponível livre: ± 85 mg/l Cl ₂ ; Cloro elementar (CE): 5 – 15 ppm	Eurocereal (Malveira, Portugal)

3.2. Métodos

3.2.1. Caracterização microbiológica do leite

3.2.1.1. **Contagem de germes totais a 30 °C**

A contagem de microrganismos totais nas amostras de leite foi realizada utilizando uma norma internacional (Anónimo, 1992). Os procedimentos foram realizados numa câmara de fluxo horizontal. A inoculação das placas foi realizada, em triplicado, através da incorporação em 15 ml de meio de cultura PCA, de 1 ml das respectivas diluições decimais em solução de Ringer. Seguiu-se um período de incubação de 72 ± 3 horas a 30 ± 1 °C. O cálculo de unidades formadoras de colónias (ufc) por ml de leite foi realizado através da contagem do número de colónias desenvolvidas.

3.2.1.2. **Contagem de bolores e leveduras**

Para a contagem de bolores e leveduras, inoculou-se 1 ml da primeira diluição decimal (10^{-1}) em placas de meio de cultura GYP, em duplicado, por espalhamento. Por fim incubou-se a 25 °C, durante 72 horas. O cálculo de unidades formadoras de colónias (ufc) por ml de leite foi realizado através da contagem do número de colónias desenvolvidas.

3.2.1.3. **Contagem de *Listeria monocytogenes***

Para a contagem de *Listeria monocytogenes* utilizou-se uma norma internacional (Anónimo, 2005). Inoculou-se, por espalhamento, 200 µl em três placas de meio de cultura CHROMagar, em duplicado. Incubou-se a 37 °C, durante 24 horas. O cálculo de unidades formadoras de colónias (ufc) por ml de leite foi realizado através da contagem do número de colónias desenvolvidas.

3.2.2. Contagem de células somáticas (CCS) no leite

A CCS no leite foi determinada, com um contador automático e portátil Cell Counter DCC (DeLaval, Tumba, Suécia). Para esta determinação, mergulharam-se as cassetes de leitura no leite (amostra de 60 µl), registando os valores obtidos da janela de leitura de 1 µl.

3.2.3. Caracterização físico-química do leite

3.2.3.1. *Determinação dos valores de pH*

A determinação dos valores de pH das amostras foi efectuada com o potenciómetro PHM 92 Lab pH Meter (Radiometer, Copenhagen, Dinamarca), após calibração para a temperatura das amostras. Para esta determinação, colocaram-se 3 a 5 ml de amostra em copos de precipitação com magneto de agitação (300 rpm). O valor de pH foi obtido após estabilização dos valores medidos.

3.2.3.2. *Tratamento químico e avaliação da formação de precipitados*

O tratamento químico das amostras de leite não comercializáveis foi realizado recorrendo a diversas substâncias químicas, nomeadamente ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio e água electrolisada neutra.

No tratamento acidificante, as amostras de LnC foram tratadas com misturas comerciais de ácidos orgânicos, nomeadamente Amasil NA (Af), LaFeed 80 (Al), Lupro-Grain (Ap) e Lupro-Cid (ApAf) por adição directa sem qualquer diluição. Para o tratamento de LnC's com peróxido de hidrogénio (35 %/m) com foram testados quatro níveis de inclusão de 0,14; 0,28; 0,42 e 0,5% por adição directa sem qualquer diluição. Para o tratamento do LnC com água electrolisada com foram testados três níveis de inclusão de 2,14; 4,28 e 5,78 % por adição directa sem qualquer diluição.

O efeito destes compostos foi avaliado imediatamente após as respectivas adições (T_{0h}) e vinte horas após adição (T_{20h}). Os parâmetros avaliados foram o pH e a contagem de mesófilos totais.

A avaliação da formação de precipitados nas amostras de leite, após adição de produtos químicos, foi determinada da seguinte forma:

- Da amostra inicial, transferiu-se 100 ml de leite para copos de precipitação com magneto de agitação (300 rpm) e adicionaram-se, sucessivamente, alíquotas de 100 μ l de produto químico até obter o valor de pH pretendido.
- A avaliação de precipitados foi efectuada visualmente, determinando assim o seu tamanho e quantidade.

3.2.3.3. Composição analítica

Foram analisadas amostras dos diversos tipos de leite relativamente a: proteína total, gordura, ureia, extracto sólido total, água e lactose. As análises foram realizadas no laboratório da ALIP, Associação Interprofissional do Leite e Lacticínios (Lousada, Portugal).

3.2.3.4. Pesquisa de resíduos de antibióticos

Os testes de pesquisa de resíduos de antibióticos foram efectuados através do Delvotest[®] SP-NT (DSM, Heerlen, Holanda), composto por ampolas que contêm meio de cultura sólido com púrpura de bromocresol e *Bacillus stearotherophilus* var. *calidolactis*. Em cada teste, retirou-se 100 µl de leite a analisar e incorporou-se na ampola, que foi posta a incubar durante 3 horas a $64 \pm 0,5$ °C, na própria incubadora do dispositivo.

A leitura dos resultados foi feita de acordo com a cor apresentada pelo agar inoculado, podendo apresentar cores desde amarelo a púrpura, assim como cores intermédias, da seguinte forma:

- Amarelo, indica ausência de substâncias antibacterianas, ou abaixo do limite de detecção¹.
- Amarelo/púrpura, indica a presença de substâncias antibacterianas próximo do limite de detecção.
- Púrpura, indica a presença de substâncias antibacterianas, dentro do limite de detecção.



Figura 5. Tipos de resultados da pesquisa de antibióticos

¹ O limite de detecção deste teste é de 2 – 3 ng/ml para a Penicilina G e entre 100 – 150 ng/ml para a sulfadiazina.

3.2.4. Ensaio de campo

3.2.4.1. Períodos avaliados

Este trabalho foi realizado em dois períodos: Junho – Julho e Setembro – Outubro. No primeiro período, os 23 vitelos foram alimentados a partir do quarto dia (Otterby *et al.*, 1980), com leite não comercializável tratado com Lupro-Grain® a 1 % v/v (ácido propiónico). No segundo período, os 23 vitelos foram alimentados a partir do quarto dia, com Bacilactol Rojo (leite de substituição). Todos os vitelos foram alimentados com colostro, no primeiro dia (dia zero) e alimentados com leite não comercializável não tratado, nos três dias seguintes.

3.2.4.2. Determinação do peso dos vitelos e determinação de ingestões

A determinação do peso dos vitelos foi feita aos 0, 14, 30 e 45 dias de vida nas primeiras horas do período da manhã (entre as 8 e as 10 horas), recorrendo a uma balança mecânica, com sensibilidade de 100 gramas. Relativamente às ingestões, foram mensuráveis recorrendo ao software informático Dairy Plan C21 versão 5.2 (Westfalia Source, Bona, Alemanha), incluído no equipamento referido (ver ponto 3.1.3) e compatível com o já existente na exploração.



Figura 6. Modo de pesagem dos animais.

3.2.4.3. Avaliação do estado de saúde dos vitelos

A avaliação do estado de saúde dos vitelos foi realizada, diariamente, no período da manhã, dos 0 aos 30 dias de vida, sendo avaliados os sinais clínicos respeitantes a: actividade, temperatura rectal, prega de pele realizada nas tábuas do pescoço, presença ou ausência de olhos encovados e de orelhas frias (Anexo III).

3.2.4.4. Classificação das fezes dos vitelos

A classificação de fezes foi realizada também diariamente, durante o período da manhã, desde o 1º ao 30º dia, e os parâmetros avaliados foram: cor, consistência, volume e outros aspectos como presença de cheiros anormais e de sangue (Anexo IV).

Sempre que os vitelos apresentassem sinais clínicos de elevado grau de desidratação, e de acordo com as suas excreções e se era economicamente viável, era administrado oralmente Glutelac (Bayer, Leverkusen, Alemanha), sendo este um alimento dietético para vitelos em situação de risco e durante períodos de anomalias digestivas e

períodos de convalescência das mesmas. Este produto tem como objectivo a estabilização do equilíbrio hídrico e electrolítico do organismo (Anexo V).

3.2.4.3. Atribuição de scores

A atribuição de scores foi feita de acordo com Larson *et al.* (1977) e Berge *et al.* (2009).

Quadro 27. Sistema de atribuição de scores relativos a estado de saúde e avaliação fecal

Parâmetro de saúde	Sinais clínicos	Score	Parâmetro fecal	Sinais clínicos	Score
Atitude	Activo	0	Consistência	Sólida	0
	Pouco activo	1		Pastosa	1
	Prostrado	2		Líquida	2
		Mucóide		3	
Estado de desidratação	Prega de pele <2 seg.	0	Volume	Líquida /mucóide, com/sem cheiro anormal, com sangue	4
	Prega de pele >2 seg.	1		Normal	0
	Olhos encovados	2		Reduzidas	1
Temperatura rectal	<39,4 °C	0	Cor	Volumosas	2
	> 39,4 °C	1		Escura	0
				Branca	1
				Amarela	2

3.2.5. Interpretação e análise estatística dos resultados

A análise estatística dos resultados das contagens microbianas foi realizada com recurso ao programa *Statistica*TM, versão 6 (Statsoft, Oklahoma, EUA). A análise de variância dos dados foi efectuada através do teste de Diferença Mínima Significativa (LSD, “*Least Significant Difference*”) de comparação múltiplas de médias.

A análise de variância dos dados relativos aos vitelos foi feita com recurso ao software SAS de 2003 (Statiscal Analysis System Institute,, Carolina do Norte, EUA), com o teste PROC GLM para os parâmetros zootécnicos e o teste PROC MIXED para avaliação do estado de saúde e caracterização do excreta fecal.

Em todas as análises de variância foram considerados como valores significativos, aqueles cuja probabilidade de ocorrência foi superior a 95% ($p < 0,05$), acrescentando, no caso dos ensaios de campo, o nível de pouco significativo ($P < 0,10$).

4. Resultados e Discussão

4.1. Caracterização dos leites não comercializáveis

Após a recolha das duas amostras diárias (correspondendo a ordenha da manhã e da tarde), estas foram analisadas em condições laboratoriais. Como no início do período de caracterização ocorria a separação dos diferentes tipos de leite, foi possível fazer uma breve caracterização individual (correspondendo a uma semana de recolha), sendo que no resto do período de recolha ocorria já a mistura dos leites de transição e mastíticos (leites não comercializáveis).

Quadro 28. Caracterização microbiológica de leite comercializável (leite de tanque)

Parâmetro	Média	Máximo	Mínimo	N
CCS	3,29E+05	3,47 E+05	3,12 E+05	6
Contagem de mesófilos totais (ufc/ml)	4,45E+04	8,47E+04	1,08E+04	6
Contagem de bolores e leveduras (ufc/ml)	6,18E+02	1,13E+03	8,00E+01	6
Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/ml)	0	0	0	6

Assim, relativamente a caracterização microbiológica dos diferentes leites (Quadros 29, 30, 31) há a referir que, como seria de esperar, todos possuem contagens superiores às do leite comercializável (Quadro 28), sendo esta uma das razões que os excluem da comercialização (Anónimo 2006). Pelos resultados das médias obtidas, poderá dizer-se que, ao nível das contagens de mesófilos totais, todos os leites apresentam contagens elevadas (maiores que 1,00E+06), apontando-se para uma das possíveis razões o efeito de concentração, por baixa produção de leite, indo de acordo com o referido por Hagnestam *et al.* (2007). Contudo segundo vários autores, a flora microbiana é diferente entre os diferentes tipos de leite, em que os leites mastíticos e os leites não comercializáveis (LnC's) possuem uma carga maior de patógenos, como por exemplo *E. coli* e *Staphylococcus* spp.

Quadro 29. Caracterização microbiológica de colostro e leites de transição

Parâmetro	Média	Máximo	Mínimo	N
kg de leite/amostra	23,9	89,6	7	7
Número de vacas paridas	3	10	1	7
CCS	9,12E+05	15,55E+05	4,6 E+05	7
Contagem de mesófilos totais (ufc/ml)	1,51E+06	4,09E+06	1,23E+04	7
Contagem de bolores e leveduras (ufc/ml)	9,60E+02	2,60E+03	1,00E+01	7
Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/ml)	0	0	0	7

A CCS representa também a outra razão para a exclusão destes leites, na medida em que todos eles possuem médias de CCS superiores a 4,00E+05 (Anónimo 2006).

Quadro 30. Caracterização microbiológica de leites provenientes de vacas mastíticas

Parâmetro	Média	Máximo	Mínimo	N
kg de leite/amostra	95,66	140,3	50,7	10
Número de vacas mastíticas	9	11	7	10
CCS	28,08E+05	36,81E+05	17,73E+05	10
Contagem de mesófilos totais (ufc/ml)	1,14E+06	7,60E+06	1,01E+04	10
Contagem de bolores e leveduras (ufc/ml)	5,27E+02	1,80E+03	7,50E+01	10
Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/ml)	0	0	0	10

Quadro 31. Caracterização microbiológica de leites não comercializáveis

Parâmetro	Média	Máximo	Mínimo	N
kg de leite/amostra	103,9	197,9	48,8	29
CCS	23,57E+05	42,11E+05	15,28E+05	5
Contagem de mesófilos totais (ufc/ml)	1,12E+06	9,43E+06	3,40E+03	29
Contagem de bolores e leveduras (ufc/ml)	3,69E+03	1,18E+04	4,00E+2	29
Contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> (ufc/ml)	0	0	0	29

Nota: A proporção de vacas paridas:mastíticas que originou estes leites foi muito variável

A contagem de bolores e leveduras não variou muito entre os tipos de leite, o que nos leva a pensar que seja a flora nativa do leite. Relativamente à contagem de *Listeria monocytogenes* não foi encontrada qualquer amostra positiva.

Por fim há a referir a grande variabilidade ocorrida em todas as contagens, sendo assim impossível apresentar uma caracterização microbiológica padrão. A quantidade de leite produzido por ordenha, demonstra também a razão que leva os produtores a aproveitar estes leites. No caso dos LnC's encontramos médias de 103,9 kg/ordenha nesta exploração, onde, como seria de esperar, o número de vacas e o seu estado fisiológico (ou mesmo a gravidade da mastite) incluídos nestes grupos é determinante para a quantidade produzida.

Foi realizada também uma contagem de mesófilos totais ao leite de substituição após reconstituição, com água da exploração, onde se verificam contagens bastante inferiores a qualquer outro tipo de LnC (Quadro 32).

Quadro 32. Caracterização do leite de substituição usado após reconstituição

Parâmetro		N
pH	6,67	1
Contagem de mesófilos totais	5,33E+04	1

Os resultados da pesquisa de antibióticos (Quadro 33) demonstram uma grande percentagem de resultados positivos nos leites mastíticos e LnC's (100 e 72,4 %, respectivamente), em comparação com o leite comercializável, o colostro e os leites de transição. Resultados positivos, ou mesmo intermédios, encontrados em colostro e leites de transição, podem ser obtidos devido ao intervalo de segurança (mais de 55 dias) dos selantes de secagem utilizados, antes de a vaca entrar no período seco. Tais selantes são usados de modo a prevenir mastites durante o período seco, geralmente provocados por *Strep. uberis* (Duval, 1994). Os resultados intermédios são obtidos de vacas que se encontram em final de antibioterapia, ou seja, a quantidade de antibiótico no leite já se encontra próximo do limite de detecção do teste (ver ponto 3.2.3.4.)

Quadro 33. Resultado de pesquisa de antibióticos (Delvotest)

Tipo de leite	Positivos (%)	Intermédios (%)	Negativos (%)	N
Leite comercializável	0 (0%)	0 (0 %)	6 (100 %)	6
Leite de transição e colostro	1 (14,3 %)	2 (28,6 %)	4 (57,1 %)	7
Leite de vacas mastíticas	10 (100 %)	0	0	10
Leite não comercializável	21 (72,4 %)	4 (13,8 %)	4 (13,8 %)	29

Relativamente à análise dos valores de pH (Quadro 34) obtidos, há a salientar os valores mais elevados para os leites mastíticos, como referido por Oliveira *et al.* (2007), devido à maior permeabilidade do epitélio mamário e à maior quantidade de iões e pequenas partículas. Os LnC's apresentam valores mais baixos ($6,51 \pm 0,11$) pelo facto de estarem incluídos leites de transição. Os valores de pH mais baixo do colostro e leites de transição, confirmam também o referido por Foley *et al.* (1978).

Quadro 34. Valores de pH dos diferentes tipos de leite

Tipo de leite	Média	Desvio padrão	Máximo	Mínimo	N
Leite comercializável	6,72	0,06	6,84	6,68	6
Colostro e leite de transição	6,42	0,26	6,75	6,18	7
Leite mastítico	6,77	0,10	6,91	6,62	10
Leite não comercializável	6,51	0,11	6,71	6,23	29

No que se refere à composição analítica dos leites (Quadro 35) foram encontradas grandes diferenças, seguidamente descritas para os diferentes tipos de leite e, com maior ênfase para os LnC's (Quadro 36).

Assim, comparando com o leite comercializável, o colostro possuía maiores teores de gordura proteína e extracto seco desengordurado. Tais resultados foram também verificados nos leites de transição, não sendo as diferenças tão notáveis como no colostro.

Resultados idênticos foram referidos por Foley *et al.* (1978), devendo-se ao facto de o úbere, durante o período pré-parto ou mesmo período seco, possuir uma maior concentração de constituintes. Relativamente aos leites mastíticos, os valores de proteína e gordura, superiores ao leite comercializável podem dever-se a menor produção de leite neste estado sanitário, também proposto por Hagnestam *et al.* (2007).

Quadro 35. Composição analítica dos leites

Tipo de leite	MG (%)	MP (%)	LAC (%)	ESD (%)	Ureia (ppm)	N
Leite comercializável	3,66±0,08	3,09±0,09	4,86±0,02	8,73±0,04	273,51±27,80	7
Colostro	9,30	10,14	2,60	14,01	203,0	1
Leites de transição	3,68±0,77	3,46±0,42	4,77±0,22	8,89±0,29	232,77±85,56	2
Leites de vacas mastíticas	3,97±0,33	3,55±0,31	4,69±0,12	8,93±0,39	181,46±7,96	5

MG (%) – Matéria gorda; MP (%) – Matéria proteica; LAC (%) – Lactose; ESD (%) – Extracto seco desengordurado;

As composições analíticas dos LnC's encontram-se no Quadro 36.

Quadro 36. Composição analítica dos leites não comercializáveis

Parâmetro	Média	Desvio padrão	Intervalo	N
ESD (%)	9,06	0,33	8,67 – 9,54	8
GB (%)	3,61	0,57	2,81 – 4,32	8
em % MS	28,42	3,38	23,28 – 32,35	8
PB (%)	3,60	0,26	3,25 – 3,98	8
em % MS	28,37	1,72	25,98 – 30,91	8
Lactose (%)	4,78	0,10	4,96 – 4,65	8
em % MS	37,64	2,15	34,81 – 40,51	8
Ureia (ppm)	214,45	22,51	178 – 252	8
EB (Mcal/kg) ¹	5,74	0,16	5,48 – 5,90	8

ESD: Extracto seco desengordurado; GB: Gordura bruta; PB: Proteína bruta; EB: Energia bruta

As proporções dos dois principais constituintes (gordura e proteína) encontram-se abaixo do referido anteriormente apresentando valores de 3,61±0,57 % e 3,60±0,26 %, respectivamente. Os valores de lactose e extracto seco desengordurado foram superiores aos outros tipos de leite.

No que respeita ao valor energético estes leites, também possuem um valor elevado (5,74±0,16 Mcal/kg), sendo também consequência do maior teor de matéria seca.

¹ Calculado a partir de NRC (2001): EB = 0,057 PB(%) + 0,092 GB(%) + 0,0395 Lac(%)

4.2. Tratamento químico de leites não comercializáveis

4.2.1. Tratamento com ácidos orgânicos

As amostras de LnC foram tratadas com misturas comerciais de ácidos orgânicos, nomeadamente Amasil NA (Af), LaFeed 80 (Al), Lupro-Grain (Ap) e Lupro-Cid (ApAf) por adição directa sem qualquer diluição. O efeito destes compostos foi avaliado imediatamente após as respectivas adições (T_{0h}) e vinte horas após adição (T_{20h}). Os parâmetros avaliados foram o pH e a contagem de mesófilos totais (Quadro 37).

Antes de qualquer determinação para os valores-alvo de pH (4,5; 5,0 e 5,5) foi determinado o Foi também avaliada a ocorrência de precipitados após adição das misturas no leite, sendo que o ácido propiónico foi o que apresentou menor grau de precipitação, consequência também do poder acidificante das misturas, onde estas comportaram-se do seguinte modo: $Ap \ll Al < ApAf < Af$. Esta precipitação ocorre devido a destabilização das micelas de caseína (principal proteína do leite) cujo ponto isoeléctrico se encontra perto de pH 4,6.

Quadro 37. Tratamento químico por adição de ácidos orgânicos a diferentes valores de pH

Amostra	ml /L de leite	T_0			T_{20}		
		pH	Avaliação de precipitados	Contagens ufc/ml	pH	Avaliação de precipitados	Contagens ufc/ml
pH ≈ 5,5							
C	0	6,7	Sp	1,25E+04 ^A			
Al	3,2	5,56	Sp	1,14E+04 ^{Aa}	5,58	Sp	1,41E+07 ^{Ab}
Af	2	5,41	Sp	1,04E+04 ^{Aa}	5,48	Sp	6,93E+05 ^{Bb}
Ap	4,4	5,41	Sp	1,07E+04 ^{Aa}	5,53	Sp	1,44E+05 ^{Cb}
AfAp	3	5,39	Sp	9,93E+03 ^{Aa}	5,45	Sp	2,83E+05 ^{Db}
pH ≈ 5,0							
C	0	6,7	Sp	1,06E+04 ^A			
Al	7	4,94	P+	9,56E+03 ^{ACa}	4,9	P+	7,37E+04 ^{Ab}
Af	3,6	4,95	P++	8,63E+03 ^{ACa}	4,97	P++	7,56E+03 ^{Ba}
Ap	11,4	4,99	Pp	8,50E+03 ^{BCa}	4,94	Pp	6,50E+03 ^{Bb}
AfAp	5	5	P++	9,06E+03 ^{ACa}	5,02	P++	6,47E+03 ^{Ca}
pH ≈ 4,5							
C	0	6,4	Sp	5,80E+05 ^{Aa}	6,24	Sp	7,20E+08 ^{Ab}
Al	8	4,17	P+	1,57E+04 ^{Ba}	4,32	P+	2,02E+05 ^{Bb}
Af	4,6	4,2	P++	1,31E+04 ^{Ba}	4,34	P++	1,27E+03 ^{Cb}
Ap	21,4	4,49	Pp	9,57E+03 ^{Ca}	4,67	Pp	1,51E+03 ^{Cb}
AfAp	6	4,45	P++	9,30E+03 ^{Ca}	4,52	P++	3,90E+03 ^{Db}

C – Controlo; Al – Ácido láctico; Af – Ácido fórmico; Ap – Ácido propiónico; ApAf – 25% de ácido propiónico + 63% de ácido fórmico Sp – Sem precipitação; Pp – Pouca precipitação; P+ – Precipitação apreciável; P++ – Precipitação notável

A, B, C, D – Na mesma coluna, resultados com letras maiúsculas diferentes são significativamente diferentes (P < 0,05)

a, b – Na mesma linha, resultados com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes (P < 0,05)

Para valores de pH próximos de 5,5, não se notou nenhum efeito nas contagens microbianas, nem após adição directa e nem após vinte horas de adição, determinando-se que este valor de pH não cumpre os objectivos de inibição do crescimento microbiano em LnC's.

Para valores próximos de 5,0, após a adição directa ocorre um fraco efeito bactericida após a adição de Ap ($P < 0,05$), o que não se nota após adição dos outros ácidos. Contudo, este efeito é também notório após vinte horas de adição, sendo obtido um efeito bacteriostático nos outros ácidos, excepto com Al. A partir destes resultados podemos sugerir que o Ap tem maior efeito sobre os microrganismos do que qualquer outro ácido, talvez devido á maior percentagem de ácido puro que as restantes misturas. O facto de o Al não possuir qualquer efeito, deverá ser explicado pelo facto das bactérias lácticas presentes no leite continuarem a multiplicar-se e este valor de pH ser propício ainda para o seu crescimento.

Para valores de pH de 4,5, é notório o efeito bactericida para todos os ácidos após adição directa e após vinte horas. O único ácido que não possuía efeito bactericida, nestas condições, foi o Al.

No Quadro 38, apresentam-se os custos de tratamento acidificante para os valores de pH, em que se obtiveram melhores resultados.

Como outro dos objectivos deste trabalho foi a utilização de leites tratados distribuídos em estações de alimentação automática, sugere-se que o tratamento com ácido propiónico, apesar de ser o mais dispendioso, foi aquele que apresentou melhores resultados, após adição directa tanto a nível do efeito bactericida, como ao nível da menor precipitação proteica.

Quadro 38. Custos de tratamento acidificante e quantidades (ml/50l de LnC)

Aditivo	pH 5,0			pH 4,5		
	Aspecto	Quantidade adicionada (ml) /50L	Custo	Aspecto	Quantidade adicionada (ml) /50l	Custo
Al	P+	350	0,33 €	P+	400	0,38 €
Af	P++++	180	0,21 €	P++++	230	0,27 €
Ap	Pp	570	0,72 €	Pp	1070	1,34 €
AfAp	P++++	250	0,31 €	P++++	300	0,37 €

Al - Ácido láctico; Af - Ácido fórmico; Ap - Ácido propiónico; ApAf - 25% de ácido propiónico + 63% de ácido fórmico;
Sp - Sem precipitação; Pp - Pouca precipitação; P+ - Precipitação apreciável; P++ - Precipitação notável

4.2.2. Tratamento com peróxido de hidrogénio

Para o tratamento do LnC com peróxido de hidrogénio (35 %/m) com foram testados quatro níveis de inclusão de 0,14; 0,28; 0,42 e 0,5% por adição directa sem qualquer diluição. O efeito deste composto foi avaliado imediatamente após as respectivas adições (T_{0h}) e vinte horas após adição (T_{20h}). Os parâmetros avaliados foram o pH e a contagem de mesófilos totais (Quadro 39).

Como seria de esperar ocorreu um efeito bactericida imediato notável após adição, sendo este efeito aumentado directamente com o nível de inclusão, indo de encontro ao referido por Lück (1962). No que diz respeito a alterações ao nível das propriedades físicas, não foi verificada qualquer alteração.

Contudo não se notou qualquer efeito bacteriostático após vinte horas de adição para percentagens de 0,14 e 0,28 %, onde se encontraram contagens de mesófilos bastante superiores às iniciais. Para percentagens de 0,42 % e 0,5 %, foi verificado um efeito um maior efeito bacteriostático, sendo apenas significativo para 0,5 %. Tais resultados demonstram a presença de peróxido de hidrogénio residual, que actua sobre o crescimento microbiano.

Quadro 39. Tratamento químico com peróxido de hidrogénio com vários níveis de inclusão

Amostra	ml /L de leite	T_{0h}			T_{20h}		
		pH	Avaliação de precipitados	Contagens (ufc/ml)	pH	Avaliação de precipitados	Contagens (ufc/ml)
0,14 %							
0 %	0	6,7	Sp	1,25E+04 ^A			
0,14 %	4	6,65	Sp	6,93E+03 ^{Ba}	6,64	Sp	1,60E+05 ^{Ab}
0,14 % C+	4 + 0,048	---	---	---	6,67	Sp	1,69E+05 ^A
0,28%							
0%	0	6,7	Sp	1,06E+04 ^A	---	---	---
0,28 %	8	6,7	Sp	3,90E+03 ^{Ba}	6,63	Sp	1,07E+05 ^{Ab}
0,28 % C+	8 + 0,096	6,64	Sp	5,23E+03 ^{Ba}	6.56	Sp	1,17E+06 ^{Bb}
0,42%							
0 %	0	6,4	Sp	5,80E+05 ^{Aa}	6,24	Sp	7,20E+08 ^{Ab}
0,42 %	12	6,22	Sp	2,33E+03 ^{Ba}	6,38	Sp	9,83E+04 ^{Bb}
0,42 % C+	12 + 0,144	6,22	Sp	6,60E+03 ^{Ba}	6,44	Sp	1,13E+07 ^{Cb}
0,5%							
0 %	0	6,4	Sp	5,80E+05 ^{Aa}	6,24	Sp	7,20E+08 ^{Ab}
0,5 %	14,4	6,23	Sp	1,07E+03 ^{Ba}	6,41	Sp	5,40E+03 ^{Ba}

Ao – Peróxido de hidrogénio a 130V; C+ – Catalase 1:100; Sp – Sem precipitação

A, B, C, D – Na mesma coluna, resultados com letras maiúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

a, b – Na mesma linha, resultados com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Pelo referido por Lück (1962), é aconselhada a remoção total de peróxido de hidrogénio, anulando o efeito de qualquer quantidade residual através de enzimas sintéticas.

Assim foi também testado o efeito da catalase nas proporções recomendadas, visto que outro dos objectivos visava a administração imediata do leite tratado quimicamente a vitelos.

Notou-se um efeito sobre o peróxido de hidrogénio residual em todas as adições ao nível das contagens de mesófilos totais, quando comparadas amostras com catalase e sem catalase, sendo este efeito proporcional com a quantidade de peróxido adicionada, nas quantidades de 0,28; 0,42 e 0,5%. Notou-se tal efeito, pelo facto de todas as amostras as quais foram adicionadas catalase, para as concentrações referidas, apresentarem contagens muito superiores às amostras controlo e às amostras sem catalase.

Relativamente ao pH, os resultados sugerem que este parâmetro não possui qualquer influência após adição ou mesmo após vinte horas de adição.

Assim, perante o referido podemos concluir que, para os LnC's, as melhores concentrações de peróxido de hidrogénio poderão ser 0,42 e 0,5% (Quadro 40). Relativamente ao custo de tratamento podemos verificar que este tratamento é muito menos dispendioso que o tratamento acidificante sendo admitido como uma vantagem, contudo existe sempre o perigo de comprometer a saúde animal pelo facto de se incluir este tratamento em programas alimentares sem adição de catalase.

Quadro 40. Custos de tratamento com peróxido de hidrogénio e quantidades (ml/50l de LnC)

Aditivo	Aspecto	Quantidade adicionada (ml) /50l		Custo		Total
		Ao	C+	Ao	C+	
Ao 0,42% C+	Sp	600	7,2	0,23 €	0,22 €	0,45€
Ao 0,5 % C+	Sp	720	8,6	0,28 €	0,26 €	0,54€

Ao – Peróxido de hidrogénio a 130V; C+ – Catalase 1:100; Sp – Sem precipitação

4.2.3. Tratamento com água electrolisada

Para o tratamento do LnC com água electrolisada com foram testados três níveis de inclusão de 2,14; 4,28 e 5,78 % por adição directa sem qualquer diluição. O efeito deste composto foi avaliado imediatamente após as respectivas adições (T_{0h}) e vinte horas após adição (T_{20h}). Os parâmetros avaliados foram o pH e a contagem de mesófilos totais (Quadro 41).

Como seria de esperar, devido á elevada carga de matéria orgânica presente nos LnC's e porque o principal elemento activo deste produto é o cloro, não foi notório qualquer efeito bactericida nem bacteriostático sobre a contagem de mesofilos totais.

Relativamente ao pH, podemos verificar que não possui qualquer influência após adição, decrescendo após vinte horas de adição, podendo ser justificado pela produção de ácido láctico, a partir de processos de fermentação das bactérias lácticas.

Quadro 41. Tratamento químico com Probiolac-qua (água electrolisada)

Amostra	ml /L de leite	T_0			T_{20}		
		pH	Avaliação de precipitados	Contagens ufc/ml	pH	Avaliação de precipitados	Contagens ufc/ml
0 %	0	6,44	Sp	3,07E+06 ^{Aa}	4,53	Sp	3,89E+08 ^{Ab}
2,14%	21,4	6,38	Sp	3,16E+06 ^{Aa}	4,62	Sp	4,01E+08 ^{Ab}
4,28%	42,8	6,42	Sp	2,20E+06 ^{Aa}	4,53	Sp	3,55E+08 ^{Ab}
5,78%	57,8	6,3	Sp	2,00E+06 ^{Aa}	4,53	Sp	4,09E+08 ^{Ab}

Sp – Sem precipitação

A, B – Na mesma coluna, resultados com letras maiúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

a, b – Na mesma linha, resultados com letras minúsculas diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

4.3. Alimentação de vitelos com leite não comercializável tratado quimicamente

4.3.1. Leite não comercializável tratado com ácido propiónico

As amostras de LnC incluídas no programa alimentar dos vitelos foram tratadas com uma mistura comercial de ácido orgânico, nomeadamente Lupro-Grain (ácido propiónico) por adição directa sem qualquer diluição, e, avaliado o seu efeito directo (T_{0h}) e após vinte e quatro horas de adição (T_{24h}), sobre o pH e ao nível das contagens de mesófilos totais (Quadro 42) durante os meses de Junho – Julho.

Quadro 42. Avaliação do tratamento químico no leite não comercializável com ácido propiónico a 1 % (v/v)

Amostra	Leite não comercializável		Leite tratado com ácido propiónico a 1 % (v/v)			
	pH	Contagens (ufc/ml)	0 h		24 h	
			pH	Contagens (ufc/ml)	pH	Contagens (ufc/ml)
1	6,63	9,97E+05 ^a	4,78	4,43E+05 ^b	4,92	5,87E+04 ^c
2	6,73	1,79E+05 ^a	4,79	8,03E+03 ^b	4,77	1,16E+04 ^b
3	6,83	1,05E+04 ^a	5,00	8,30E+03 ^b	4,99	1,27E+04 ^b
4	6,64	1,78E+06 ^a	4,82	4,83E+04 ^b	4,98	6,43E+04 ^b
5	6,70	1,03E+04 ^a	4,98	5,40E+03 ^b	4,81	4,03E+03 ^b
6	6,68	8,67E+04 ^a	4,85	1,06E+04 ^b	4,85	1,59E+04 ^b
7	6,71	8,57E+03 ^a	4,93	4,97E+03 ^a	4,85	3,17E+03 ^b
8	6,77	7,00E+04 ^a	4,79	2,29E+04 ^b	4,91	2,54E+04 ^b
10	6,53	1,94E+04 ^a	4,80	7,03E+03 ^b	4,80	5,87E+03 ^b
Médias	6,69	3,18E+05^a	4,86	5,65E+04^b	4,88	2,45E+04^b

a, b, c – Na mesma linha, resultados com letras diferentes são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Através dos resultados obtidos, podemos concluir que a adição desta mistura sobre as contagens de microrganismos totais possui geralmente um efeito bactericida no momento inicial. Considerando o período de adição de vinte e quatro horas, notamos um efeito maioritariamente bacteriostático, relativamente ao momento inicial, ocorrendo apenas duas excepções nas duas primeiras amostras analisadas, resultando num efeito redutor.

Relativamente ao pH, obtivemos valores geralmente menores que 5 ($pH < 5$) após a adição de 1 % (v/v) do ácido, valores que praticamente se mantiveram próximo ou abaixo, do valor 5, mesmo após 24 horas de adição, indicando a estabilização da mesma.

Devido às diferentes condições laboratoriais e de campo, no que diz respeito a temperatura, houve necessidade de proceder ao arrefecimento rápido do LnC para valores

abaixo dos 23 °C, a fim de se conseguir acidificar convenientemente, mais concretamente, de modo a reduzir a taxa de precipitação da componente proteica.

Pela razão referida, o tratamento do LnC com ácido propiónico, foi feito em porções de 50 l, com rápida agitação e adições lentas, de modo a promover uma melhor dissolução e homogeneização do ácido. A avaliação dos precipitados foi feita mediante a quantidade retida

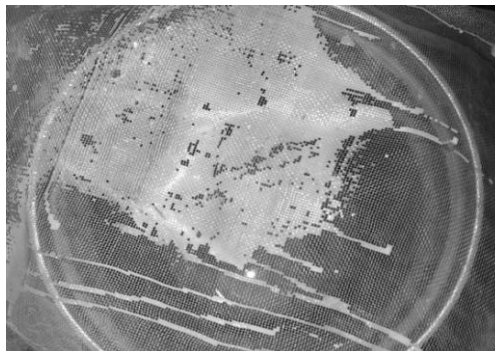


Figura 7. Rede de malha fina usada como filtro de precipitados

numa rede de malha fina, que era usada como filtro no momento da transferência das porções tratadas para um tanque de recolha.

Nas condições referidas, a precipitação proteica foi praticamente nula, levando-nos a sugerir que é necessária a reunião de todos os factores de modo a manter integras todas as propriedades físicas dos LnC acidificados, com esta concentração e este tipo de ácido.

Contudo, a viabilidade de LnC's acidificados em estações de alimentação automática fica comprometida, na medida em que o leite, que se encontra após acidificação a temperaturas que rondam os 23 °C, é de novo aquecido no momento da distribuição a temperaturas de 37 °C. Tal aquecimento provoca uma destabilização da mistura (LnC + ácido), ou seja, promove a precipitação proteica do leite no copo de distribuição ou mesmo nas tubagens. Tal factor foi verificado continuamente durante o ensaio, o que exigiu um maior aporte de trabalho de manutenção e mão-de-obra sobre o equipamento.



Figura 8. Precipitados no copo de distribuição.

4.3.2. Parâmetros zootécnicos avaliados

Neste ensaio foi determinada a influência do tipo de leite, tentando comparar sobre o ponto de vista económico, no desenvolvimento dos animais. Mediante as condições de campo, foram feitas medições em períodos diferentes, por incompatibilidade do equipamento que não permitiu realizar-se em simultâneo. Assim, foram avaliados os parâmetros zootécnicos, referentes a ingestões acumulativas de leite, ingestões estimadas acumulativas de concentrado e ganhos médios diários nos dois períodos de estudo, sobre os 46 vitelos utilizados (Quadro 43).

Quadro 43. Parâmetros zootécnicos avaliados nos dois períodos

Variável	1º Período – Leite tratado com 1 % ácido propiónico (v/v)						2º Período – Leite de substituição																					
	Total			xMontb.			H			xMontb.			xSR															
	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total													
Vitelos no início	14	9		2	2		8	5		2	2		4	2		10	13		3	4		6	6		1	3		
Vitelos no fim (45 dias)	7	7		0	0		6	5		0	0		1	2		7	11		3	4		3	4		1	3		
Pesagens (kg)																												
0 dias	46,4 ^a	41,8 ^b		ND	ND		47,9	42,9		ND	ND		37,9	39,1		47,4 ^a	38,5 ^b		46,8	40,4		52,0	39,1		35,1	35,2		
14 dias	44,4	43,6		ND	ND		45,5	45,3		ND	ND		38,1	39,5		47,2	40,3		45,8	39,5		52,0	42,2		39,9	38,8		
30 dias	52,0	51,1		ND	ND		53,0	52,9		ND	ND		46,0	46,8		52,2	45,9		50,1	46,3		57,6	47,4		42,4	43,6		
45 dias	60,0	60,4		ND	ND		60,4	60,7		ND	ND		57,5	59,8		60,0	52,8		58,9	55,0		65,5	52,1		47,0	50,9		
Ingestão acumulativa de leite (kg de MS/vitelo)																												
14 dias	3,51	4,40		ND	ND		3,57	5,22		ND	ND		2,95	2,36		7,92	6,81		6,71	5,81		8,08	7,61		8,06	7,10		
30 dias	10,87	13,01		ND	ND		11,49	13,68		ND	ND		13,73	11,32		17,57	16,81		16,60	15,94		18,35	12,43		18,12	17,31		
45 dias	20,24	21,79		ND	ND		20,33	22,39		ND	ND		24,23	20,27		26,73	26,10		25,54	25,28		27,71	26,31		27,38	26,90		
Ingestão estimada acumulativa de concentrado (kg de MS/vitelo)																												
14 dias	0,52	0,86		ND	ND		0,51	0,93		ND	ND		0,61	0,70		0,37	0,35		0,35	0,44		0,39	0,25		0,28	0,35		
30 dias	2,82	4,33		ND	ND		3,00	5,08		ND	ND		1,76	2,45		3,97	3,45		4,03	4,31		3,46	2,71		5,28	3,31		
45 dias	7,37	10,43		ND	ND		6,99	10,89		ND	ND		9,68	9,27		13,48	12,96		13,43	15,97		13,90	9,24		12,32	13,90		

Quadro 43. (continuação) Parâmetros zootécnicos avaliados nos dois períodos

	1º Período – LnC tratado com 1 % ácido propiónico (v/v)						2º Período – Leite de substituição										
	Total		H		xMontb.		xSR		Total		H		xMontb.		xSR		
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	
Ingestão estimada acumulativa total (kg de MS/vitelo)																	
14 dias	4,04	5,27	N	N	4,11	6,15	3,57	3,05	8,29	7,16	7,07	6,25	9,48	7,86	8,35	7,45	
30 dias	13,69	17,34	D	D	13,38	18,76	15,5	13,78	21,54	20,26	20,63	20,25	21,82	20,00	23,41	20,62	
45 dias	27,62	32,21	N	N	26,57	33,28	33,81	29,54	40,21	39,06	38,98	41,25	41,61	35,55	39,70	40,80	
Ganhos médios diários (g/dia)																	
0 – 14 dias	-143 ^a	130 ^b	N	N	-169	170	014	039	-010 ^{ab}	129 ^b	-067	-061	0	221	129	257	
14 – 30 dias	471 ^a	469 ^a	N	N	467	473	494	459	313 ^a	355 ^a	265	423	350	325	344	302	
30 – 45 dias	535 ^a	619 ^a	N	N	497	521	767	863	522 ^a	458 ^b	591	582	524	313	307	484	
0 – 45 dias	301 ^a	413 ^a	N	N	279	395	436	460	282 ^a	319 ^a	270	326	299	289	264	349	
Custo total de alimentação aos 45 dias (€ . kg MS/vitelo) ¹	5,16	6,08							32,58	36,65							

Legenda: ND – Não Determinado; M – Machos; F – Fêmeas; H – *Holstein*; xMontb – Cruzado de *Montbeliard*; xSR – Cruzado de *Swedish Red*
a, b – Na mesma linha, resultados com letras diferentes são significativamente diferentes (P < 0,05)

¹ Leite não comercializável: 0 €/kg de MS; Leite de substituição: 1,28 €/kg de MS; Custo de tratamento acidificante: 0,159 €/kg MS de leite não comercializável; Concentrado: 0,22€/ kg de MS

Os ganhos médios diários foram superiores nas fêmeas face aos machos, principalmente na primeira quinzena, resultado que foi notável nos dois períodos estudados, reflectindo uma melhor adaptação ao sistema de alimentação (tipo de leite e concentrado), podendo estes resultados estarem correlacionados com melhores índices ao nível da saúde e do excreta fecal (ver pontos 4.3.3. e 4.3.4.) ou mesmo nas diferenças de peso ao nascimento. Os ganhos médios diários globais, não revelaram diferenças significativas. Os restantes parâmetros, e possíveis razões para estes resultados, serão descritos com maior detalhe seguidamente.

4.3.2.1. Pesos aos 0 dias, 14 dias, 30 dias e 45 dias

Os resultados da análise de variância para os pesos ao nascimento (P0d), aos 14 dias (P14d), aos 30 dias (P30d) e aos 45 dias de vida (P45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interacção (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 44.

Quadro 44. Teste de efeitos fixos relativos aos pesos dos vitelos que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis							
	P0d		P14d		P30d		P45d	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	7,42*	1	2,71	1	2,18	1	1,90
Tipo de leite	1	0,24	1	0,02	1	1,05	1	2,34
Sexo*Tipo de leite	1	0,74	1	1,69	1	1,27	1	2,39

***: $P < 0,001$; *: $P < 0,05$; •: $P < 0,10$

A análise de variância revelou uma influência significativa ($P < 0,05$) do sexo no peso ao nascimento. Esta influência foi anulada nas medições dos pesos seguintes, devido, como referido anteriormente, aos maiores ganhos de peso das fêmeas e as perdas de peso por parte dos machos. Como os ganhos médios diários, no geral e nos dois períodos, não revelaram diferenças significativas, os pesos também não revelaram estas diferenças.

4.3.2.2. Consumo total de leite e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de leite aos 14 dias (CL14d), aos 30 dias (CL30d) e aos 45 dias de vida (CL45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interacção (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 45. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças

diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito.

Quadro 45. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de leite que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CL14d		CL14d.kg ⁻¹ PV		CL30d		CL30d.kg ⁻¹ PV		CL45d		CL45d.kg ⁻¹ PV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,03	1	0,60	1	0,73	1	4,32*	1	0,70	1	2,31
Tipo de leite	1	29,87***	1	40,35***	1	42,14***	1	52,69***	1	22,20***	1	29,22***
Sexo*Tipo de leite	1	2,55	1	0,36	1	3,23•	1	0,10	1	0,93	1	0,40

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •: P < 0,10

A análise de variância revelou uma influência significativa (P < 0,05) do sexo no consumo de leite aos 30 dias em função do peso vivo contrariamente ao consumo de leite total. Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média, de mais 34 g de MS de leite.kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas (Quadro 46).

O tipo de leite revelou uma diferença muito significativa (P < 0,001) em todos consumos analisados, tanto total como em função do peso vivo.

Quadro 46. Médias dos mínimos quadrados ± erro padrão ($\bar{X} \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total de leite.

Efeito	Variáveis					
	CL14d	CL14d/kgPV	CL30d	CL30d/kgPV	CL45d	CL45d/kgPV
Sexo						
Machos			14,219 ^a ±0,600	0,277 ^a ±0,012		
Fêmeas			14,910 ^a ±0,543	0,311 ^b ±0,011		
Tipo de leite						
Acidificado	3,957 ^a ±0,463	0,088 ^a ±0,009	11,938 ^a ±0,600	0,233 ^a ±0,012	21,015 ^a ±0,837	0,351 ^a ±0,017
Substituição	7,370 ^b ±0,420	0,169 ^b ±0,009	17,190 ^b ±0,543	0,354 ^b ±0,011	26,415 ^b ±0,757	0,475 ^b ±0,015

a,b – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P<0,05)

Esta diferença de consumos foi muito maior nos primeiros 14 dias (Quadro 46), em que os vitelos alimentados com leite acidificado ingeriram quase metade de leite relativamente aos do leite de substituição, relativamente ao peso vivo, traduzindo-se assim numa maior taxa de rejeição. As diferenças de consumos de leite são significativas (P < 0,05), consoante o tipo de leite, sendo uma constante para todos os períodos, mesmo

quando expressos em função do peso vivo. A diferença ao fim dos 45 dias o consumo de leite de substituição foi de mais 0,124 kg.kg⁻¹ de peso vivo relativamente ao leite acidificado.

Contudo analisando as diferenças entre medições (CL14 *versus* CL30 e CL30 *versus* CL45), como um processo evolutivo, notamos maiores consumos por parte dos vitelos alimentados com leite acidificado, estando assim as diferenças encontradas muito influenciadas pelo CL14.

4.3.2.3. Consumo total estimado de concentrado e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total estimado de concentrado aos 14 dias (CC14d), aos 30 dias (CC30d) e aos 45 dias de vida (CC45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interação (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 47. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo. tentando minimizar este efeito. O consumo de concentrado foi estimado assumindo que é traduzido por uma função quadrática, e determinado através de médias diárias registadas pelo *software* presente na exploração, no segundo estágio de desenvolvimento.

Quadro 47. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de concentrado que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CC14d		CC14d/kgPV		CC30d		CC30d/kgPV		CC45d		CC45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	4,51*	1	6,87*	1	0,77	1	1,31	1	1,22	1	2,76
Tipo de leite	1	19,68***	1	21,84***	1	0,06	1	0,14	1	14,11***	1	16,05***
Sexo*Tipo de leite	1	5,61*	1	4,05•	1	3,17•	1	2,17	1	2,41	1	0,59

***: P < 0,001; *: P < 0,05; • < P < 0,10

A análise de variância revelou uma influência significativa (P <0,05) do sexo no consumo de concentrado aos 14 dias consumo de concentrado total em função do peso vivo. Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média, de mais 0,160 kg de MS de concentrado total e mais 0,005 kg de MS de concentrado.kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas (Quadro 49).

O tipo de leite revelou uma diferença muito significativa (P <0,001) em todos consumos analisados, tanto total como em função do peso vivo.

Esta diferença de consumos foi muito maior nos primeiros 14 dias (Quadro 49), em que os vitelos alimentados com leite de substituição ($0,008 \text{ kg.kg}^{-1}$ de PV) ingeriram quase metade de concentrado relativamente aos alimentados com leite acidificado ($0,016 \text{ kg.kg}^{-1}$ de peso vivo). Aos 30 dias, não houve diferenças significativas entre tratamentos. No final do ensaio (45 dias) o consumo total de concentrado (e em função do peso vivo) dos vitelos alimentados com leite acidificado foi menor ($- 0,085 \text{ kg.kg}^{-1}$ de peso vivo) relativamente aos vitelos do leite de substituição, facto que pode ser explicado por uma maior adaptação ao leite acidificado.

Quadro 48. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total de concentrado.

Efeito	Variáveis			
	CC14d	CC14d/kgPV	CC45d	CC45d/kgPV
Sexo				
Machos	$0,445^a \pm 0,056$	$0,009^a \pm 0,001$		
Fêmeas	$0,605^b \pm 0,051$	$0,014^b \pm 0,001$		
Tipo de leite				
Acidificado	$0,693^a \pm 0,056$	$0,016^a \pm 0,001$	$8,900^a \pm 0,853$	$0,151^a \pm 0,016$
Substituição	$0,357^b \pm 0,051$	$0,008^b \pm 0,001$	$13,218^b \pm 0,771$	$0,236^b \pm 0,014$

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Relativamente ao efeito significativo sexo*tipo de leite observado pela análise de variância, este é representado na figura 9.

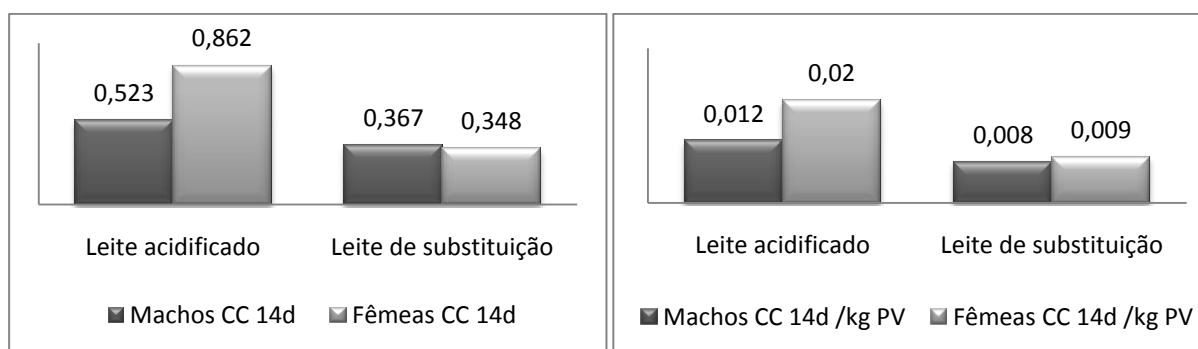


Figura 9. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo de concentrado aos 14 dias ($P < 0,05$) e em função do peso vivo ($P < 0,10$).

Através da análise da figura podemos notar, que as fêmeas alimentadas com leite acidificado consumiram muito mais concentrado que os machos, facto que poderá traduzir os maiores crescimentos observados. Relativamente ao consumo relativo ao peso vivo, este

apresenta diferenças pouco significativas ($P < 0,10$), em que, mesmo com diferentes tipos de leite, as fêmeas apresentam maiores consumos.

4.3.2.4. Consumo total de matéria seca e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de matéria seca aos 14 dias (CMS14d), aos 30 dias (CMS30d) e aos 45 dias de vida (CMS45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interação (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 49. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito. Os consumos de matéria seca foram obtidos através do somatório dos consumos de leite e consumos de concentrado observados, pois, até ao final do ensaio de campo, as ingestões de outras fontes de matéria seca foram consideradas nulas.

Quadro 49. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de matéria seca que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CMS14d		CMS14d/kgPV		CMS30d		CMS30d/kgPV		CMS45d		CMS45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,01	1	1,12	1	1,47	1	5,69*	1	0,89	1	3,97•
Tipo de leite	1	22,17***	1	30,90***	1	30,32***	1	37,57***	1	28,29***	1	35,27***
Sexo*Tipo de leite	1	3,24•	1	0,73	1	6,36*	1	1,29	1	2,48	1	0,00

***: $P < 0,001$; *: $P < 0,05$; •: $P < 0,10$

A análise de variância revelou uma influência significativa ($P < 0,05$) do sexo no consumo de matéria seca aos 30 dias consumo de concentrado total em função do peso vivo. Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média, de mais 0,049 kg de MS .kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas. No entanto aos 45 dias as diferenças são pouco significativas ($P < 0,10$), traduzidas em consumos de mais 0,070 kg.kg⁻¹ de peso vivo por parte das fêmeas (Quadro 50).

O tipo de leite revelou uma diferença muito significativa ($P < 0,001$) em todos consumos analisados, tanto total como em função do peso vivo.

Esta diferença de consumos foi aumentando durante todas as medições, correspondendo a mais, em média, 0,074, 0,125 e 0,208 kg de matéria seca.kg⁻¹ de peso vivo para os vitelos alimentados com leite de substituição. Tal facto poderá dever-se a maiores consumos totais de concentrado por parte destes vitelos, principalmente ao final do

ensaio (45 dias) e de leite em todas as medições. A menor diferença ser explicada, como referido do ponto anterior, aos maiores consumos de concentrado aos 14 dias, compensando as menores ingestões de leite (Quadro 50).

Quadro 50. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total de matéria seca.

Efeito	Variáveis					
	CMS 14d	CMS 14d/kgPV	CMS 30d	CMS 30d/kgPV	CMS 45d	CMS 45d/kgPV
Sexo						
Machos			17,613 \pm 3,184	0,343 ^a \pm 0,015	33,912 \pm 1,354	0,571 ^A \pm 0,026
Fêmeas			18,800 \pm 2,880	0,392 ^b \pm 0,014	116,545 \pm 4,153	0,641 ^B \pm 0,024
Tipo de leite						
Acidificado	4,651 ^a \pm 0,484	0,104 ^a \pm 0,010	15,514 ^a \pm 0,725	0,305 ^a \pm 0,015	29,914 ^a \pm 1,355	0,502 ^a \pm 0,026
Substituição	7,727 ^b \pm 0,438	0,178 ^b \pm 0,009	20,899 ^b \pm 0,656	0,430 ^b \pm 0,014	39,632 ^b \pm 1,225	0,710 ^b \pm 0,024

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P<0,05)
A,B – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P<0,10)

Relativamente ao efeito significativo sexo*tipo de leite observado pelas análises de variância anteriores é representado pelas figuras 10 e 11.

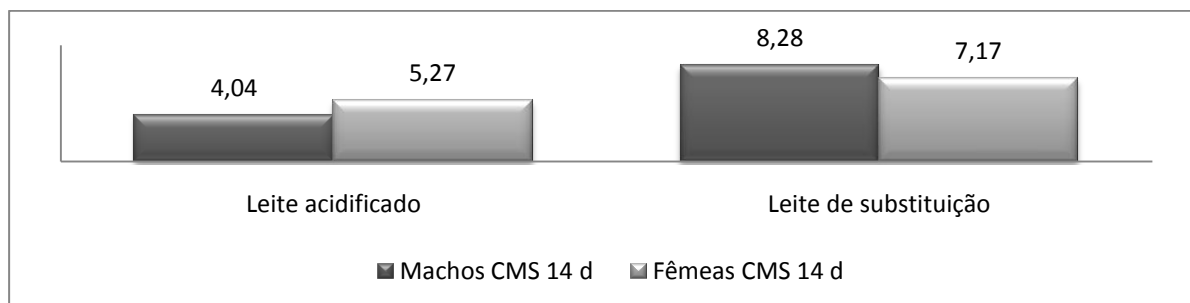
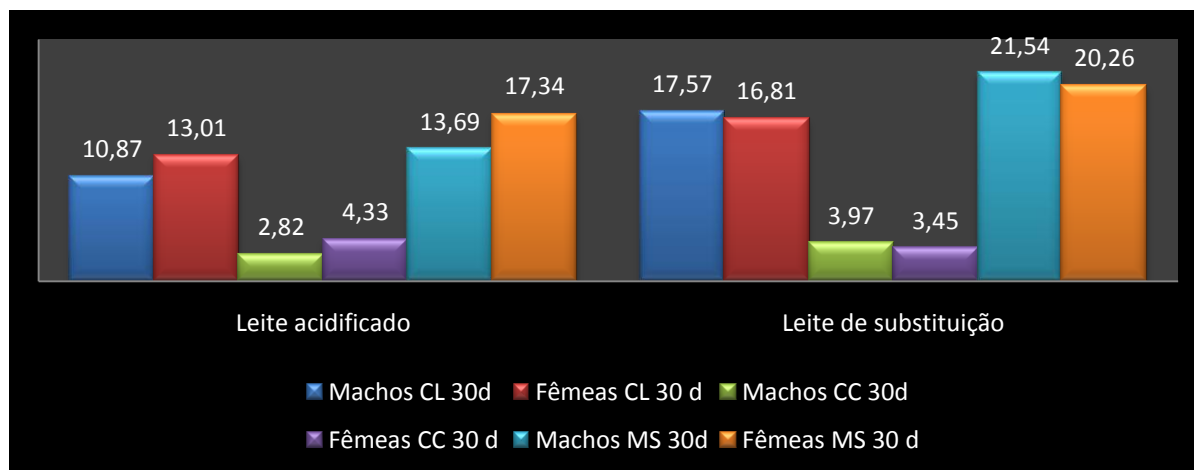


Figura 10. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo de MS aos 14 dias (P <0,10).

Através da análise da figura 10 podemos notar, que as fêmeas alimentadas com leite acidificado consumiram muito mais matéria seca que os machos aos 14 dias, facto que poderá traduzir os maiores crescimentos observados. Entre vitelos alimentados com leite de substituição, os machos apresentam melhores consumos.

Pela análise de variância, notamos que o efeito sexo*tipo de leite era pouco significativo (P <0,10) para os consumos de leite e concentrado totais aos 30 dias. Contudo, no que se refere ao consumo de matéria seca total já é significativo, estando todas as ingestões (leite, concentrado e matéria seca) e o efeito da interacção aos 30 dias presente na figura 11.



Legenda: CL – Consumo total de leite (em MS); CC – Consumo total estimado de concentrado (em MS); CMS – Consumo total de matéria seca

Figura 11. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo total de matéria seca aos 30 dias

Através da análise da figura 11 podemos notar, que as fêmeas alimentadas com leite acidificado consumiram muito mais matéria seca que os machos aos 30 dias, fortemente influenciado pelo período anterior, em que aos 14 dias os vitelos machos apresentaram menores ingestões. Entre vitelos alimentados com leite de substituição, os machos apresentam melhores consumos aos 30 dias, facto que pode explicar a recuperação no crescimento face as fêmeas.

4.3.2.5. Consumo total de energia proveniente do leite e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de energia proveniente do leite aos 14 dias (CEL14d), aos 30 dias (CEL30d) e aos 45 dias de vida (CEL45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interacção (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 51. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito. Tal determinação foi realizada em consequência dos diferentes valores de energia calculados para os diferentes leites em estudo (5,74 *versus* 4,14 Mcal.kg⁻¹ de MS, para LnC's e leite de substituição, respectivamente)

A análise de variância revelou uma influência significativa ($P < 0,05$) do sexo no consumo total de energia proveniente do leite aos 30 dias em função do peso vivo. Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média, de mais 0,175 Mcal.kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas. Aos 45 dias esta influência é pouco significativa ($P < 0,10$) para o consumo total, sendo representada por valores de, aproximadamente, mais 3,1 Mcal (Quadro 52).

Quadro 51. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de energia proveniente do leite que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CEL14d		CEL14d/kgPV		CEL30d		CEL30d/kgPV		CEL45d		CEL45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,01	1	0,70	1	1,13	1	4,35*	1	0,25	1	1,89
Tipo de leite	1	5,85*	1	8,87*	1	0,38	1	2,35	1	3,31•	1	0,19
Sexo*Tipo de leite	1	2,26	1	0,50	1	3,24•	1	0,41	1	0,86	1	0,14

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •: P < 0,10

O tipo de leite revelou uma diferença significativa ($P < 0,05$) todos consumos analisados aos 14 dias, tanto total como em função do peso vivo. Aos 45 dias esta diferença é apenas pouco significativa ($P < 0,10$) para consumos totais de energia provenientes do leite (Quadro 51).

Esta diferença de consumos nos primeiros 14 dias (Quadro 52) foi maior para os vitelos alimentados com leite de substituição relativamente aos alimentados com leite acidificado, em que ingeriram mais $0,195 \text{ Mcal.kg}^{-1}$ de peso vivo), reflexo das menores ingestões de leite ocorridas, apesar do leite acidificado conter mais energia que o de substituição. Aos 30 dias, não houve diferenças significativas entre tratamentos, o que revela uma boa recuperação por parte dos animais alimentados com leite acidificado. No final do ensaio (45 dias) o consumo total energia proveniente do leite dos vitelos alimentados com leite acidificado foi maior (aproximadamente mais 11,3 Mcal) relativamente aos vitelos do leite de substituição, apesar de ser pouco significativo ($P < 0,10$), mas pode explicar os menores consumos de concentrado ocorridos por parte dos animais (Quadro 52).

Quadro 52. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total energia proveniente do leite.

Efeito	Variáveis					
	CEL14d	CEL14d/kgPV	CEL30d	CEL30d/kgPV	CEL45d	CEL45d/kgPV
Sexo						
Machos			67,555 \pm 3,184	1,316 ^a \pm 0,062	113,436 ^A \pm 3,184	1,911 \pm 0,086
Fêmeas			72,121 \pm 2,880	1,491 ^b \pm 0,056	116,545 ^B \pm 2,880	1,071 \pm 0,078
Tipo de leite						
Acidificado	22,715 ^a \pm 2,390	0,506 ^a \pm 0,049			120,625 ^A \pm 4,591	2,016 \pm 0,086
Substituição	30,509 ^b \pm 2,161	0,701 ^b \pm 0,044			109,355 ^B \pm 4,153	1,966 \pm 0,078

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$)
A,B – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,10$)

4.3.2.6. Consumo total de energia proveniente do concentrado e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de energia proveniente do concentrado aos 14 dias (CEC14d), aos 30 dias (CEC30d) e aos 45 dias de vida (CEC45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interação (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 53. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito.

Quadro 53. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de energia proveniente do concentrado que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CEC14d		CEC14d/kgPV		CEC30d		CEC30d/kgPV		CEC45d		CEC45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	4,56*	1	6,52*	1	0,77	1	1,09	1	1,22	1	2,76
Tipo de leite	1	19,77***	1	20,45***	1	0,06	1	0,05	1	14,11***	1	16,08***
Sexo*Tipo de leite	1	5,60*	1	4,15•	1	3,17•	1	2,13	1	2,42	1	0,58

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •: P < 0,10

Contudo, como foi utilizado no mesmo concentrado nos dois períodos, a análise de variância revela o mesmo comportamento que o consumo de concentrado, não sendo por isto feita qualquer análise dos efeitos sobre as médias de mínimos quadrados.

4.3.2.7. Consumo total de energia e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de energia aos 14 dias (CTE14d), aos 30 dias (CTE30d) e aos 45 dias de vida (CTE45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interação (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 54. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito. Os consumos de energia foram obtidos através do somatório dos consumos energéticos de leite e consumos energético de concentrado observados (não referenciados visto que o concentrado utilizado foi o mesmo nos dois ensaios), pois, até ao final do ensaio de campo, as ingestões de outras fontes de energia foram consideradas nulas.

Quadro 54. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de energia que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CTE14d		CTE 14d/kgPV		CTE 30d		CTE 30d/kgPV		CTE 45d		CTE 45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,03	1	0,89	1	1,54	1	5,38*	1	0,57	1	2,80
Tipo de leite	1	4,82*	1	7,45*	1	0,43	1	2,49	1	0,26	1	0,58
Sexo*Tipo de leite	1	2,49	1	0,63	1	4,70*	1	0,98	1	1,59	1	0,01

***: $P < 0,001$; *: $P < 0,05$; °: $P < 0,10$

A análise de variância revelou uma influência significativa ($P < 0,05$) do sexo no consumo total de energia aos 30 dias em função do peso vivo. Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média de, aproximadamente, mais 0,200 Mcal.kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas. Este resultado é consequência dos maiores consumos de leite e concentrado registados (Quadro 55).

O tipo de leite revelou uma diferença significativa ($P < 0,05$) todos consumos analisados aos 14 dias, tanto total como em função do peso vivo (Quadro 54)

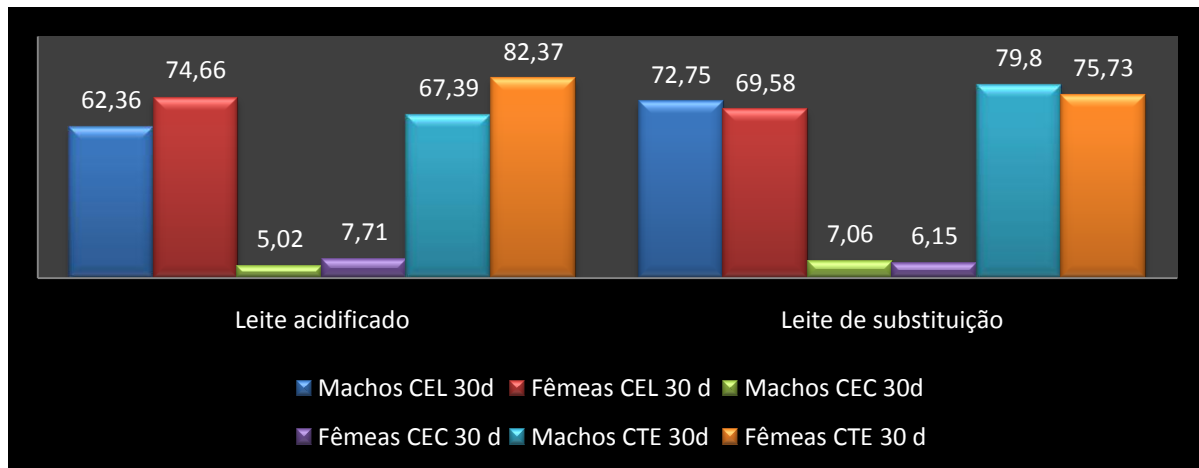
Esta diferença de consumos nos primeiros 14 dias (Quadro 55), foi significativamente ($P < 0,05$) maior para os vitelos alimentados com leite de substituição relativamente aos alimentados com leite acidificado, em que ingeriram mais 0,219 Mcal.kg⁻¹ de peso vivo), reflexo das menores ingestões de leite ocorridas, que não foram compensadas por maiores consumos de concentrado. Nas restantes medições não foram notadas diferenças significativas.

Quadro 55. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total energia.

Efeito	Variáveis			
	CTE 14d	CTE 14d/kgPV	CTE 30d	CTE 30d/kgPV
Sexo				
Machos			73,596 \pm 0,750	1,434 ^a \pm 0,064
Fêmeas			79,050 \pm 2,950	1,635 ^b \pm 0,058
Tipo de leite				
Acidificado	23,949 ^a \pm 2,43	0,535 ^a \pm 0,049		
Substituição	31,14 ^b \pm 2,197	0,716 ^b \pm 0,044		

a,b – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

Pela análise de variância, notamos que o efeito sexo*tipo de leite era pouco significativo ($P < 0,10$) para os consumos totais de energia provenientes do leite e do concentrado aos 30 dias. Contudo, no que se refere ao consumo de energia total já é significativo, estando todas as ingestões (energia do leite, energia do concentrado e energia total) e o efeito da interacção aos 30 dias presente na figura 12.



Legenda: CEL – Consumo total de energia do leite (em Mcal); CEC – Consumo total estimado de energia do concentrado (em MS); CTE – Consumo total de energia (em Mcal)

Figura 12. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo de energia aos 30 dias

Através da análise da figura 12 podemos notar, que as fêmeas alimentadas com leite acidificado consumiram muito mais energia que os machos aos 30 dias, fortemente influenciado pelo período anterior, em que aos 14 dias os vitelos machos apresentaram menores ingestões. Entre vitelos alimentados com leite de substituição, os machos apresentam melhores consumos aos 30 dias, facto que pode explicar a recuperação no crescimento face as fêmeas.

4.3.2.8. Consumo total de proteína proveniente do leite e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de proteína proveniente do leite aos 14 dias (CPL14d), aos 30 dias (CPL30d) e aos 45 dias de vida (CPL45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interacção (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 56. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito. Tal determinação foi realizada em consequência dos diferentes valores de energia calculados para os diferentes leites em estudo (28,37 versus 26,26 % de MS).

Quadro 56. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de proteína proveniente do leite que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CPL14d		CPL14d/kgPV		CPL30d		CPL30d/kgPV		CPL45d		CPL45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,01	1	0,57	1	0,87	1	4,42*	1	0,19	1	2,13
Tipo de leite	1	18,96***	1	25,69***	1	18,49***	1	26,73***	1	5,11*	1	10,80***
Sexo*Tipo de leite	1	2,46	1	0,43	1	3,25•	1	0,18	1	0,91	1	0,31

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •: P < 0,10

A análise de variância revelou uma influência significativa ($P < 0,05$) do sexo no consumo total de proteína proveniente do leite aos 30 dias em função do peso vivo. Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média, de mais $0,010 \text{ kg.kg}^{-1}$ de PV por parte das fêmeas (Quadro 57).

O tipo de leite revelou uma diferença muito significativa ($P < 0,001$) todos consumos analisados, tanto total como em função do peso vivo, excepto aos 45 dias, em que esta diferença é apenas significativa ($P < 0,05$) para consumos totais de proteína provenientes do leite.

Esta diferença de consumos manteve-se praticamente constante durante todas as medições, correspondendo a mais, em média, $0,018$, $0,023$ e $0,020 \text{ kg.kg}^{-1}$ de peso vivo para os vitelos alimentados com leite de substituição. Tal facto poderá dever-se a maiores consumos totais de leite por parte destes vitelos, principalmente ao final do ensaio (45 dias) e de leite em todas as medições. A menor diferença ser explicada, devido aos maiores teores de proteína, compensando as menores ingestões de leite (Quadro 57).

Quadro 57. Médias dos mínimos quadrados \pm erro padrão ($X \pm EP$) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total proteína provenientes do leite.

Efeito	Variáveis					
	CPL14d	CPL14d/kgPV	CPL30d	CPL30d/kgPV	CPL45d	CPL45d/kgPV
Sexo						
Machos			$3,760 \pm 0,165$	$0,073^a \pm 0,003$		
Fêmeas			$3,968 \pm 0,149$	$0,083^b \pm 0,003$		
Tipo de leite						
Acidificado	$1,123^a \pm 0,126$	$0,025^b \pm 0,003$	$3,386^a \pm 0,164$	$0,066^b \pm 0,003$	$5,961^a \pm 0,232$	$0,100^b \pm 0,005$
Substituição	$1,861^b \pm 0,114$	$0,043^a \pm 0,002$	$4,341^b \pm 0,149$	$0,089^a \pm 0,003$	$6,672^b \pm 0,211$	$0,120^a \pm 0,004$

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes ($P < 0,05$)

4.3.2.9. Consumo total de proteína proveniente do concentrado e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de proteína proveniente do concentrado aos 14 dias (CPC14d), aos 30 dias (CPC30d) e aos 45 dias de vida (CPC45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interação (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 58. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito.

Quadro 58. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo de proteína proveniente do concentrado que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CPC14d		CPC14d/kgPV		CPC 30d		CPC 30d/kgPV		CPC 45d		CPC 45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	4,49*	1	6,44*	1	0,77	1	1,31	1	1,22	1	2,75
Tipo de leite	1	19,67***	1	20,58***	1	0,06	1	0,13	1	14,11***	1	16,05***
Sexo*Tipo de leite	1	5,60*	1	3,98•	1	3,17•	1	2,13	1	2,41	1	0,57

***: P < 0,001; *: P < 0,05; • < P < 0,10

Contudo, como foi utilizado mo mesmo concentrado nos dois períodos, a análise de variância revela o mesmo comportamento que o consumo de concentrado, não sendo por isto feita qualquer análise dos efeitos sobre as médias de mínimos quadrados.

4.3.2.10. Consumo total de proteína e em função do peso vivo

Os resultados da análise de variância para o consumo total de proteína aos 14 dias (CTP14d), aos 30 dias (CTP30d) e aos 45 dias de vida (CTP45d), em função do sexo, tipo de leite e respectiva interação (sexo*tipo de leite) encontram-se no Quadro 59. Esta análise levou também em conta o facto de os grupos de animais possuírem genéticas e raças diferentes, sendo por isso também feita a análise em função do peso vivo, tentando minimizar este efeito. Os consumos de energia foram obtidos através do somatório dos consumos energéticos de leite e consumos energético de concentrado observados (não referenciados visto que o concentrado utilizado foi o mesmo nos dois ensaios), pois, até ao final do ensaio de campo, as ingestões de outras fontes de energia foram consideradas nulas.

A análise de variância revelou uma influência significativa (P < 0,05) do sexo no consumo total de proteína aos 30 dias em função do peso vivo.

Quadro 59. Teste de efeitos fixos relativos ao consumo total de proteína que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância.

Fontes de variação	Variáveis											
	CTP 14d		CTP 14d/kgPV		CTP 30d		CTP 30d/kgPV		CTP 45d		CTP 45d/kgPV	
	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,01	1	1,04	1	1,55	1	5,81*	1	0,80	1	3,65•
Tipo de leite	1	14,56***	1	20,72***	1	15,62***	1	22,49***	1	12,89***	1	19,84***
Sexo*Tipo de leite	1	2,97•	1	0,68	1	5,96*	1	1,28	1	2,24	1	0,00

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •: P < 0,10

Esta diferença foi representada por consumos superiores, em média de, aproximadamente, mais 0,012 kg.kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas. Este resultado é consequência dos maiores consumos de leite e concentrado registados (Quadro 60). Aos 45 dias, o consumo total de proteína, em função do peso vivo, o sexo admitiu uma influência pouco significativa (P < 0,10), sendo esta diferença representada por consumos superiores, em média de, aproximadamente, mais 0,016 kg.kg⁻¹ de PV por parte das fêmeas.

O tipo de leite revelou uma diferença significativa (P < 0,001) para todos os consumos analisados, tanto total como em função do peso vivo (Quadro 59)

Esta diferença de consumos foi aumentando durante todas as medições, correspondendo a mais, em média, 0,016, 0,024 e 0,038 kg.kg⁻¹ de peso vivo para os vitelos alimentados com leite de substituição. Tal facto poderá dever-se a maiores consumos totais de concentrado por parte destes vitelos, principalmente ao final do ensaio (45 dias) e de leite em todas as medições. A menor diferença ser explicada, como referido do ponto anterior, aos maiores consumos de concentrado aos 14 dias, compensando as menores ingestões de leite (Quadro 60).

Quadro 60. Médias dos mínimos quadrados ± erro padrão (X ± EP) relativas ao efeito do sexo e tipo de leite no consumo total proteína.

Efeito	Variáveis					
	CTP 14d	CTP 14d/kgPV	CTP 30d	CTP 30d/kgPV	CTP 45d	CTP 45d/kgPV
Sexo						
Machos			4,545±0,184	0,087 ^a ±0,004	8,380±0,329	0,141 ^A ±0,006
Fêmeas			4,764±0,167	0,099 ^b ±0,003	8,778±0,298	0,157 ^B ±0,006
Tipo de leite						
Acidificado	1,264 ^a ±0,130	0,028 ^b ±0,003	4,118 ^a ±0,184	0,081 ^a ±0,004	7,782 ^b ±0,329	0,130 ^a ±0,006
Substituição	1,934 ^b ±0,118	0,044 ^a ±0,002	5,101 ^b ±0,167	0,105 ^b ±0,003	9,375 ^a ±0,298	0,168 ^b ±0,006

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P < 0,05)
 A,B – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P < 0,10)

Relativamente ao efeito significativo sexo*tipo de leite observado pelas análises anteriores é representado pela figura 13.

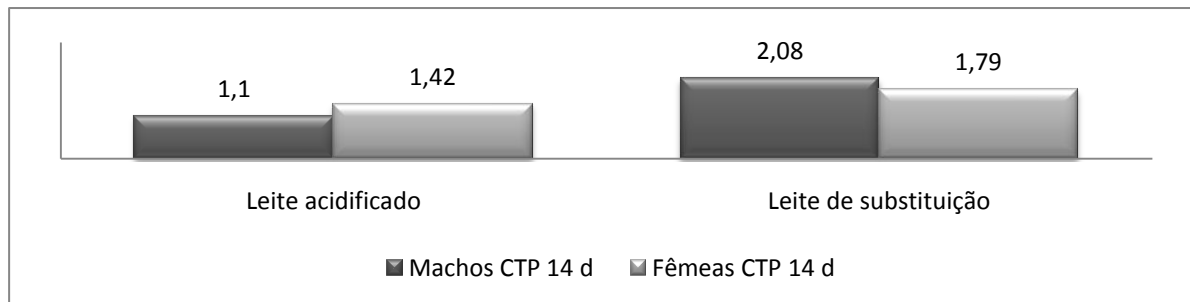
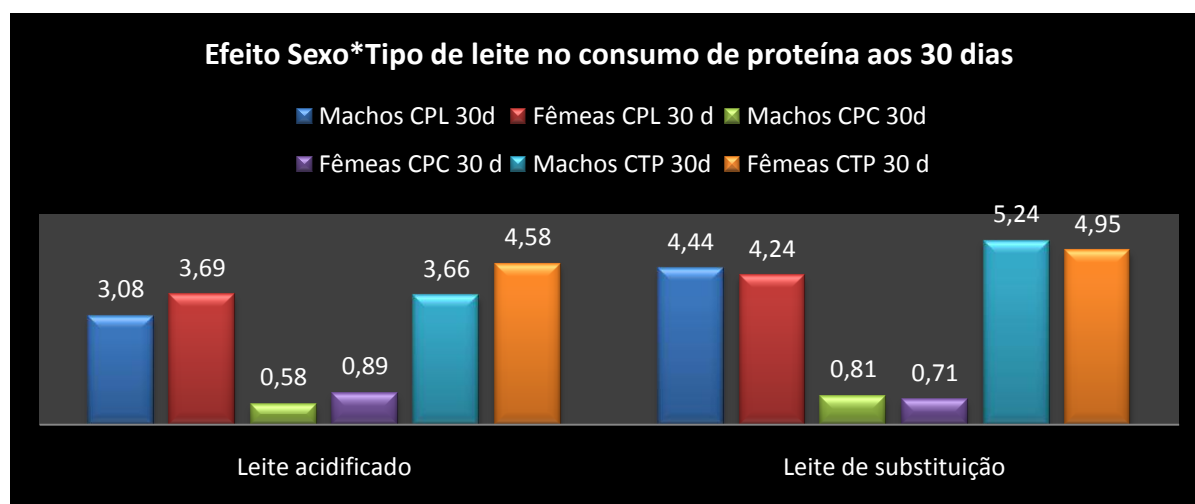


Figura 13. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo total de proteína aos 14 dias (P <0,10).

Através da análise da figura 13 podemos notar, que as fêmeas alimentadas com leite acidificado consumiram muito mais proteína que os machos aos 14 dias, facto que poderá traduzir os maiores crescimentos observados. Entre vitelos alimentados com leite de substituição, os machos apresentam melhores consumos.

Pela análise de variância, notamos que o efeito sexo*tipo de leite era pouco significativo (P <0,10) para os consumos de proteína do leite e proteína do concentrado totais aos 30 dias. Contudo, no que se refere ao consumo de proteína total já é significativo, estando todas as ingestões (proteína do leite, proteína do concentrado e proteína total) e o efeito da interação aos 30 dias presente na figura 14.



Legenda: CPL – Consumo total de proteína do leite (em kg de MS); CPC – Consumo total estimado de proteína do concentrado (em kg de MS); CTP – Consumo total de energia (em kg de MS)

Figura 14. Efeito Sexo*Tipo de leite no consumo total de proteína aos 30 dias

Através da análise da figura 14 podemos notar, que as fêmeas alimentadas com leite acidificado consumiram muito mais proteína que os machos aos 30 dias, fortemente influenciado pelo período anterior, em que aos 14 dias os vitelos machos apresentaram menores ingestões. Entre vitelos alimentados com leite de substituição, os machos

apresentam melhores consumos aos 30 dias, facto que pode explicar a recuperação no crescimento face às fêmeas.

4.3.2.11. Mortalidade

Nos dois períodos de ensaio ocorreu uma taxa muito elevada de mortalidade, estando as possíveis causas e o número de vitelos, presente no Quadro 65.

Quadro 61. Mortalidade dos vitelos e possíveis causas

Período	Número de vitelos			Dias de vida (média)	Possível causa
	Total (%)	Machos	Fêmeas		
1	2 (8,7 %)	2	0	10,5	Rejeição total do leite
	6 (26,1 %)	5	1	6,5	Diarreia severa prolongada (mais 3 dias)
	1 (4,3 %)	0	1	30	Úlcera gástrica (devido a <i>cross-sucking</i>)
2	5 (21,7 %)	3	2	7	Diarreia severa prolongada (mais 3 dias)

Legenda: Período 1 – Leite acidificado; Período 2: Leite de substituição

Estes resultados são encontrados muito acima dos valores registados nesta exploração, até ao fim do estudo, de mortalidade com este sistema de criação de vitelos em grupo, alimentados por estações automáticas. Assim, este valor encontra-se próximo de 12,6 %, nestas condições, onde convém frisar que esta exploração encontrava-se em transição do sistema de alojamento individual para sistemas em grupo, resultando assim esta média de poucos valores disponíveis.

Neste trabalho ocorreram algumas falhas ao nível do procedimento experimental, principalmente no tipo de leite administrado nos primeiros 4 dias de vida, que deveria ter sido de melhor qualidade microbiológica. Segundo Kesler (1981) o leite que contenha leite de vacas com problemas de mastites não deve ser administrado a vitelos com poucos dias de vida, pelo facto de poder ocorrer a absorção de bactérias e das suas toxinas. Contudo no que se refere a vitelos mais velhos esta problemática já não é notória, justificada por uma melhor eficiência da barreira intestinal. Outra das falhas ocorridas, residiu na falta de controlo diária de alimento líquido, principalmente no período em que os vitelos foram alimentados com leite acidificado, razão pela qual poderiam ter-se prevenido alguma da mortalidade ocorrida. Esta rejeição nos vitelos mais jovens (menos de 14 dias) foi compensada por alimentação forçada, recorrendo a uma sonda esofágica, também conhecida por *calf nurser*.

4.3.3. Avaliação do estado de saúde

Os resultados da análise de variância relativos ao estado de saúde (por avaliação da atitude, desidratação e temperatura rectal) em função do sexo, período, tipo de leite e respectivas interações (sexo*período; sexo*tipo de leite e período*tipo de leite) encontram-se no Quadro 61. Estes parâmetros foram medidos diariamente, onde posteriormente foram atribuídos scores e respectivos índices. Deverá entender-se por período, medições compreendidas entre os 0 – 4 dias, 5 – 14 dias e os 15 – 30 dias de vida dos vitelos.

Quadro 62. Teste de efeitos fixos relativos ao estado de saúde dos vitelos que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância

Fontes de variação	Variáveis					
	Atitude		Desidratação		Temperatura rectal	
	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	5,11*	1	1,67	1	0,01
Período	2	26,03***	2	13,62***	2	0,77
Tipo de leite	1	1,04	1	1,37	1	3,57•
Sexo x período	2	4,38*	2	0,79	2	1,43
Sexo*Tipo de leite	1	0,28	1	8,31*	1	0,58
Período x Tipo de leite	2	0,03	2	0,59	2	0,06

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •< P < 0,10

A análise de variância revelou uma influência significativa (P < 0,05) do sexo no índice de atitude. Esta diferença é verificada, no Quadro 62 em que os machos apresentam um índice maior de atitude face às fêmeas, traduzido em menor actividade.

Quadro 63. Médias dos mínimos quadrados ± erro (X±EP) padrão relativas aos parâmetros do estado de saúde dos vitelos

	Variáveis		
	Atitude	Desidratação	Temperatura rectal
Efeito do sexo			
Machos	0,34 ^b ±0,05	0,10±0,03	0,26±0,04
Fêmeas	0,19 ^a ±0,04	0,06±0,03	0,25±0,04
Efeito do período			
0 – 4 dias	0,27 ^a ±0,04	0,01 ^a ±0,03	0,29±0,04
5 – 14 dias	0,45 ^b ±0,04	0,22 ^b ±0,03	0,26±0,04
15 – 30 dias	0,09 ^c ±0,04	0,02 ^a ±0,03	0,22±0,04
Efeito do Tipo de leite			
Leite acidificado	0,30±0,05	0,10±0,03	0,31 ^A ±0,04
Leite de substituição	0,23±0,04	0,05±0,03	0,20 ^B ±0,04

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P<0,05)

A,B – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P<0,10)

O período revelou uma diferença muito significativa ($P < 0,001$) nos parâmetros de altitude e desidratação. Estes índices evidenciaram piores valores no período dos 5 - 14 dias, estando ambos correlacionados, o que indica que os vitelos mais desidratados apresentam-se menos activos. Contudo no período seguinte notaram-se melhorias em ambos.

O tipo de leite revelou uma diferença pouco significativa ($P < 0,10$), ao nível da temperatura rectal, em que uma possível explicação reside no facto da alimentação dos vitelos com leite acidificado ter sido realizada nos meses de Junho – Julho e o aleitamento com leite de substituição ter sido realizado nos meses de Setembro – Outubro.

Pela análise de variância, notamos que o efeito sexo*período era significativo ($P < 0,05$) para atitude. Tal efeito é visível na figura 15, em que verificamos que para os períodos analisados as fêmeas apresentam sempre melhores índices que os machos. Tal resultado poderá possivelmente ser utilizado como explicação, por exemplo, para os melhores resultados referidos nos parâmetros zootécnicos. Análise de variância mostrou também a existência de um efeito sexo*tipo de leite, em que notamos um índice de desidratação muito maior nos machos alimentados com leite acidificado, relativamente as fêmeas ou mesmo nos animais alimentados com leite de substituição. Tal índice poderá ser consequência da maior taxa de rejeição do alimento líquido (Figura 16).

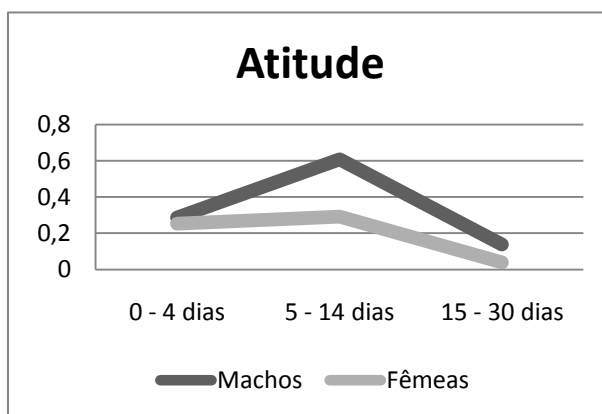


Figura 17. Efeito Sexo*Tipo de leite ao nível dos índices de atitude.

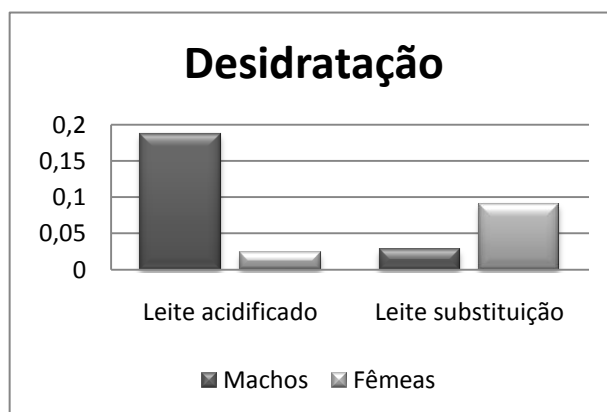


Figura 16. Efeito Sexo*Período ao nível dos índices de desidratação.

4.3.4. Caracterização do excreta fecal dos vitelos

Os resultados da análise de variância relativos ao excreta fecal dos vitelos (por avaliação do índice fecal, volume fecal e cor) em função do sexo, período, tipo de leite e respectivas interações (sexo*período; sexo*tipo de leite e período*tipo de leite) encontram-se no Quadro 63. Estes parâmetros foram medidos diariamente, onde posteriormente foram atribuídos scores e respectivos índices. Deverá entender-se por período, por medições compreendidas entre os 1 – 4 dias, 5 – 14 dias e os 15 – 30 dias de vida dos vitelos.

Quadro 64. Teste de efeitos fixos relativos ao excreta fecal que incluem as fontes de variação, graus de liberdade (gl), valores de F e níveis de significância

Fontes de variação	Variáveis					
	Índice fecal (IF)		Volume fecal (VF)		Cor	
	gl	F	gl	F	gl	F
Sexo	1	0,12	1	0,03	1	6,93*
Período	2	17,12***	2	14,30***	2	55,07***
Tipo de leite	1	2,00	1	7,20*	1	1,03
Sexo x período	2	1,19	2	0,78	2	0,86
Sexo*Tipo de leite	1	0,99	1	0,44	1	2,26
Período x Tipo de leite	2	3,13•	2	3,44*	2	2,54•

***: P < 0,001; *: P < 0,05; •: P < 0,10

A análise de variância revelou uma influência significativa (P < 0,05) do sexo no índice de cor. Esta diferença é verificada, no Quadro 64 em que os machos apresentam um índice de cor face às fêmeas, mais elevado face as fêmeas. Tal índice poderá ser explicado por menores consumos de concentrado, em certos períodos, o que conferindo assim fezes mais escuras as fêmeas.

Quadro 65. Médias dos mínimos quadrados ± erro padrão (X±EP) relativas aos parâmetros do excreta fecal

	Variáveis		
	Índice fecal (IF)	Volume fecal (VF)	Cor
Efeito do sexo			
Machos	1,13±0,11	0,68±0,09	1,27 ^a ±0,07
Fêmeas	1,18±0,10	0,66±0,08	1,03 ^b ±0,06
Efeito do período			
1– 4 dias	0,96 ^a ±0,12	0,44 ^a ±0,08	1,47 ^a ±0,08
5 – 14 dias	1,70 ^b ±0,12	0,99 ^b ±0,08	1,47 ^a ±0,08
15 – 30 dias	0,81 ^a ±0,12	0,59 ^a ±0,08	0,53 ^b ±0,08
Efeito do Tipo de leite			
Leite acidificado	1,28±0,11	0,83 ^a ±0,09	1,20±0,07
Leite de substituição	1,05±0,10	0,51 ^b ±0,08	1,11±0,06

a,b,c – Para cada efeito, resultados com letras diferentes na mesma coluna são significativamente diferentes (P<0,05)

O período revelou uma diferença muito significativa ($P < 0,001$) no índice e volume fecal. Estes índices evidenciaram piores valores no período dos 5 - 14 dias, traduzidas em fezes mais líquidas e volumosas, podendo assim explicar a desidratação ocorrida neste período, como referido anteriormente. Contudo no período seguinte notaram-se melhorias em ambos os índices.

O tipo de leite revelou uma diferença significativa ($P < 0,05$), ao nível volume fecal, o que resultou em fezes mais volumosas nos vitelos alimentados com leite acidificado, relativamente aos alimentados com leite de substituição.

Pela análise de variância, notamos que o efeito período*tipo de leite era pouco significativo ($P < 0,10$) para o índice fecal e de cor, sendo apenas significativo para o índice de volume fecal, representado na figura 17. Relativamente ao índice fecal e de volume fecal notámos índices maiores no período 5 – 14 dias nos vitelos alimentados com leite acidificado. Tal resultado poderá ser possivelmente explicado pela carga microbiana presente neste tipo de leites e/ou presença de ácido. Relativamente ao índice de cor, verificamos que este mantém-se relativamente constante entre os períodos 1 – 4 dias e 5 -14 dias. Contudo este índice, no período seguinte aproxima-se de 0 (cor escura), o que poderá ser reflexo de consumos de concentrados mais expressivos.

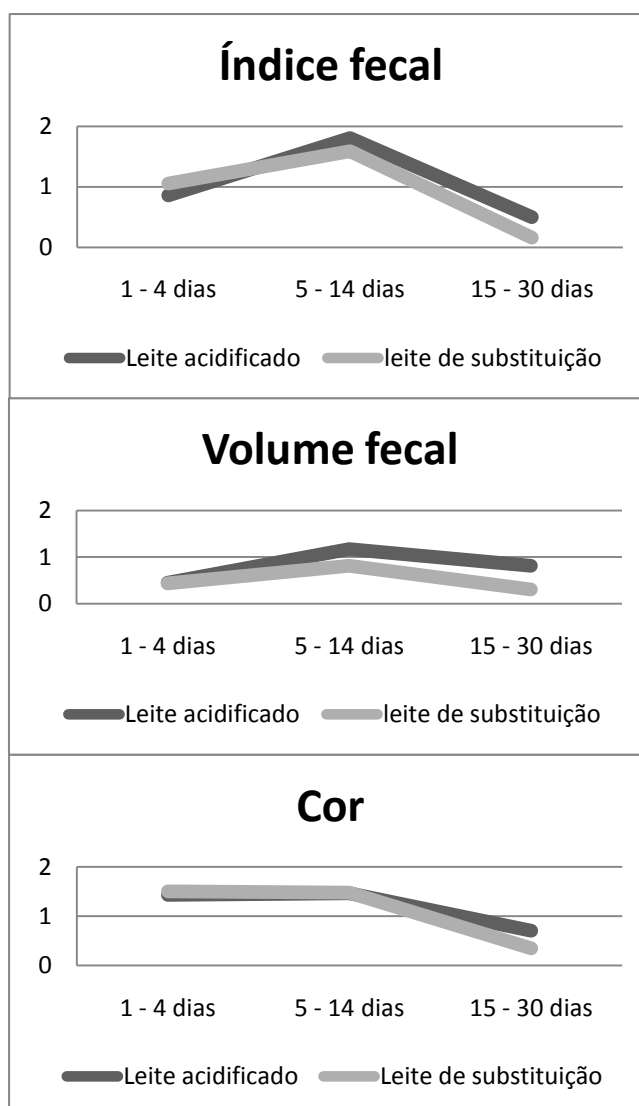


Figura 18. Efeito Período*Tipo de leite na caracterização do excreta fecal.

Conclusões

A inclusão de leites não comercializáveis (LnC's) em programas alimentares de vitelos foi o principal objecto de estudo deste trabalho. Assim procedemos à sua caracterização físico-química (pH), microbiológica (contagens de mesófilos totais, bolores e leveduras e *Listeria monocytogenes*) e nutricional, ao seu tratamento químico, de modo a inibir o crescimento microbiano (justificado pela inexistência da via física de conservação), e posterior inclusão em programas alimentares de vitelos, onde a distribuição foi realizada por estação de alimentação líquida automática controlada por computador, determinando os seus efeitos sobre os parâmetros zootécnicos mais comuns. Como objectivo secundário foi admitido o efeito, sobre estas estações, de leites tratados por via química.

Relativamente a caracterização microbiológica concluímos que qualquer dos LnC's possui uma carga microbiana elevada muito variável (em média acima das $1,00E+06$ ufc/ml) quando comparada com o leite comercializável (em média abaixo das $1,00E+05$ ufc/ml), podendo ser parte desta flora composta por microrganismos patogénicos, como por exemplo *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, entre outros. Em termos de contagens de bolores e levedura não foram encontradas muitas diferenças entre os diferentes tipos de leite, podendo levar-nos a concluir que estas contagens fazem parte da flora nativa do leite. Vários autores referem a presença de *Listeria monocytogenes* nos LnC's, contudo nesta exploração não foi encontrada. Ao nível da CCS, todas as amostras de LnC's apresentaram contagens muito superiores comparativamente com o leite comercializável. As razões referidas são o factor determinante para inviabilidade da comercialização destes leites. Em termos de valores de pH, os LnC's apresentam valores abaixo do leite comercializável (razão que pode ser explicada pelo facto de estar implícita uma mistura de leites de transição e de vacas mastíticas na sua composição) contudo a variação não é muito grande. Ao nível nutricional, os LnC's apresentam valores muito razoáveis, o que nos pode levar a admitir a inclusão destes leites em programas alimentares de vitelos no período pré-desmame.

Ao nível do tratamento químico, concluímos que, por acidificação, os melhores valores de pH que inibem o crescimento microbiano encontram-se entre 4,5 e 5,0, valores obtidos consoante a quantidade de ácido adicionada e seu poder acidificante. Indo de encontro ao outro objectivo deste trabalho conclui-se que o tratamento com ácido propiónico, apesar de ser o mais dispendioso, é aquele que apresenta melhores resultados após adição directa tanto a nível do efeito bactericida assim como ao nível da precipitação proteica. O tratamento com peróxido de hidrogénio revelou bons resultados após adição directa, contudo devido à necessidade da adição de catalase de modo a prevenir qualquer

efeito tóxico causado por peróxido de hidrogénio residual, este tratamento não demonstrou qualquer vantagem em leites armazenados á temperatura ambiente.

Relativamente a alimentação de LnC's acidificados por vitelos, resultou em taxas elevadas de rejeição do alimento líquido, principalmente nos primeiros 14 dias de vida. Esta rejeição levou a maiores índices de desidratação e a uma maior mortalidade ocorrida por este facto. Neste tipo de leite, devido a razão anteriormente referida, os consumos de concentrado for significativamente superiores. Contudo após os 14 dias de vida todos os índices (ao nível da saúde e excreta fecal) foram melhorados, o que nos pode levar a concluir que a duração do período de adaptação a este tipo de leite e tratamento é inverso á idade do vitelo. Conclui-se também que, a nível nutricional, é melhor que o leite de substituição utilizado, facto notável pelos menores consumos totais de concentrado ao fim de 45 dias.

Relativamente ao uso em geral de leites, podemos concluir que se adequa melhor em vitelos mais velhos (mais de 14 dias), demonstrado pela mortalidade ocorrida, pelos custos mais baixos de alimentação, por bons índices de saúde e excreta fecal e consumos medidos.

No que se refere a adequação de leites tratados com ácidos, notamos que é incompatível o seu uso devido à maior mão-de-obra exigida ao nível da manutenção do equipamento e redução do tempo de vida útil do mesmo. Tal facto foi devido ao reaquecimento do leite acidificado que promoveu a precipitação proteica, colmatando as tubagens de distribuição de alimento, danificando mesmo certos elementos eléctricos responsáveis por esta distribuição.

Recentemente, vários autores (Jorgensen *et al.*, 2005; Elizondo-Salazar *et al.*, 2007; Godden, 2007; Moore *et al.*, 2009) sugerem o uso da pasteurização neste tipo de leite, demonstrando bons resultados, tanto ao nível do estado de saúde assim como ao nível dos parâmetros zootécnicos mais comuns. Contudo, segundo Jamaluddin *et al.* (1996) o mínimo de animais de modo a tornar o uso da pasteurização em LnC's economicamente viável é de 315 vitelos/dia, o que corresponde aproximadamente a explorações com efectivos superiores a 1200 vacas. Pelas razões descritas, poderemos concluir que, para explorações de menor dimensão que disponham de estações de alimentação líquida e que no programa alimentar dos vitelos estejam incluídos os LnC's, terão de encontrar outros modos de conservação (por exemplo o recurso a tanques refrigerados) e/ou o estudo da adição de outras substâncias para além das analisadas neste trabalho (como por exemplo sais de ácidos).

Coleen Jones e Jud Heinrichs (2007) sugerem ainda o uso de leite comercializável em vez de leites de substituição, pelo facto das matérias-primas que incluem os leites de substituição estarem em crescente valorização e o preço do leite comercializável estar baixo, demonstram assim mais uma alternativa para alimentação líquida de vitelos em pré-desmame, com custos possivelmente menores. Contudo como pode ser visível no Anexo VI, introduzindo os dados referentes ao leite de substituição utilizado e ao leite normal, ainda não se nota esta vantagem económica. Pensa-se ainda que, se forem introduzidos dados referentes a leites de substituição de melhor qualidade, as diferenças económicas não deverão ser tão marcantes.

Embora os dois ensaios com os vitelos não tenham decorrido em simultâneo (Junho – Julho e Setembro – Outubro), podemos assumir, pelo referido e por outros resultados obtidos não referidos neste último ponto, que a utilização destes leites é economicamente viável, mesmo quando comparados com leites de substituição de muito baixo valor. Contudo sugere-se a realização de um aproveitamento selectivo, ou seja, a rejeição do leite proveniente de vacas mastíticas que apresentem grau de severidade de mastite muito elevado, principalmente quando este leite for administrado a vitelos com menos de 14 dias.

Referências bibliográficas

- Amin, V. M. e Olson, N. F. (1967). Factors Affecting the Resistance of *Staphylococcus aureus* to Hydrogen Peroxide Treatments in Milk. *Applied Microbiology*, Vol. 15, No. 1 p. 97-101.
- Anderson, N. (2005). *Making Acidic Milk with Formic Acid for Ad Libitum Feeding to Calves*. Disponível em: http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/veal/facts/info_acidic.htm, consultado em 06-04-2009.
- Anderson, N. (2006). Mimicking Nature's Way for Milk-Fed Dairy Calves: Free-Access Feeding with Acidified Milk. *Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs*.
- Anónimo. (1982). NP – 1828 – “Colheita de amostras para análise microbiológica”.
- Anónimo. (1992). Norma ISO 6610:1992 – “Milk and milk products - enumeration of colony-forming units of micro-organisms - colony-count technique at 30 °C.”
- Anónimo. (1997). Council Directive 97/2/EC of 20 January 1997 amending Directive 91/629/EEC laying down minimum standards for the protection of calves. The Council of the European Union.
- Anónimo. (2002). Hydrogen peroxide technical bulletin. FMC corporation hydrogen peroxide division.
- Anónimo. (2004). Regulamento 853/2004 – Regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal, *Jornal da comunidade europeia*.
- Anónimo. (2005). ENEAPAI - Estratégia Nacional para os Efluentes Agro-pecuários e Agro-industriais. Despacho Conjunto SEA e SEAAP 1098/2005 de 28 de Dezembro.
- Anónimo. (2005). Norma UNI EN ISO 11290-1:2005 – “Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes*”.
- Anónimo. (2006). Regulamento 1662/2006 regras específicas de higiene aplicáveis aos géneros alimentícios de origem animal. *Jornal da Comunidade Europeia*.
- Anónimo. (2007). Leite e Lacticínios – Diagnóstico sectorial. Documento elaborado pelo Gabinete de Planeamento e Políticas – MADRP.
- Anónimo. (2009). Portaria n.º 631/2009 – Regulamentação das actividades pecuárias, previstas no regime do exercício da actividade pecuária (REAP). Ministérios do Ambiente, do Ordenamento do Território e do Desenvolvimento Regional e da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas. Diário da República, 1.ª série — N.º 111 — 9 de Junho de 2009.
- APHIS. (2008). Colostrum Feeding and Management on U.S. Dairy Operations, 1991-2007. *Veterinary Services Centers for Epidemiology and Animal Health*.
- BAMN. (2001). A guide to colostrums and colostrum management for dairy calves. Disponível em: http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/bamn/bamnguide_to_dairy_feeding.pdf.

- BAMN. (2003). A guide to dairy calf feeding and management. Disponível em:
http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/bamn/bamnguide_to_dairy_feeding.pdf.
- Bar, D., Tauer, L. W., Bennett, G., González, R. N., Hertl, J. A., Schukken, Y. H., Schulte, H. F., Welcome, F. L. e Gröhn, Y. T. (2008). The Cost of Generic Clinical Mastitis in Dairy Cows as Estimated by Using Dynamic Programming. *Journal of Dairy Science* 91:2205 – 2214.
- Barkema, H. W., Schukken, Lam, Y. H., T.J.G.M., Beiboer, M. L., Wilmink, H., Benedictus, G. e A. Brand. (1998). Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 81:411 – 419.
- Barto, P. B., Bush, L. J. e Adams, G. D. (1982). Feeding Milk Containing Staphylococcus aureus to Calves *Journal of Dairy Science* 65:271-274.
- Bengtsson, B., Unnerstad, H. E., Ekman, T., Artursson, K. (2009). Antimicrobial susceptibility of udder pathogens from cases of acute clinical mastitis in dairy cows. *Veterinary Microbiology* 136 142–149.
- Berge, A. C. B., Lindeque, P., D. A., Moore e Sisco, W. M. (2005). A clinical trial evaluating prophylactic and therapeutic antibiotic use on health and performance of preweaned calves. *Journal of Dairy Science* 88:2166–2177.
- Blosser, T. H. (1977). Economic losses from and the national research program on mastitis in the United States. *Journal of Dairy Science* 62:119–127.
- Blosser, T. H. (1979). Economic losses from and the national research program. *Journal of Dairy Science* 62:119-127.
- Borderas, T. F., Rushen, J., Von Keyserlingk, M. A. G., and De Passillé, A. M. B. (2009). Automated measurement of changes in feeding behavior Of milk-fed calves associated with illness. *Journal of Dairy Science* 92 :4549–4554.
- Carlson, S. M. A. e Muller, L. D. (1976). Compositional and Metabolic Evaluation of Colostrum Preserved by Four Methods During Warm Ambient Temperatures. *Journal of Dairy Science* Vol. 60, No. 4.
- Chester-Jones, H. and Hoffman P. C. (2003). Calf nutrition. In: raising dairy replacements. Midwest Plan Service, Iowa.
- CLAL - Farm-gate prices of milk. Disponível em: http://www.clal.it/en/index.php?section=confronto_latte3.
Acedido em: 06-10-2009.
- CLAL - Advisory and Brokerage in Dairy and Food Product. Disponível em:
http://www.clal.it/en/index.php?section=confronto_whey. Acedido em: 14-10-2009.
- Coulon, J. B., Gasqui, P., Barnouinb, J., Ollier, A., Pradel, P., Pomiès, D. (2002). Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. *Animal Research*. 51 383–393.
- Duval, J. (1994). Treating mastitis without antibiotics. Ecological Agriculture Projects. Ste Anne de Bellevue, Quebec.
- Elizondo-Salazar, J. A. e Heinrichs, A. J. (2007). Pasteurization of Non-saleable Milk. Department of Dairy and Animal Science, The Pennsylvania State University.

- Eppard, P., J., Otterby, D. E., Lundquist, R. G., and Linn, J. G. (1982) Influence of Sodium Bicarbonate on Growth and Health of Young Calves. *Journal of Dairy Science* 65:1971-1978.
- Fenner, D. C., Bürge, B; Kayser, H P; Wittenbrink, M. M. (2006). *The anti-microbial activity of electrolysed oxidizing water against microorganisms relevant in veterinary medicine*. *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 53(3):133-137.
- Foley, J. A, Otterby, D. E. (1978). Availability, storage, treatment, composition, and feeding value of surplus colostrum: a review. *Journal of Dairy Science* 61:1033-1060.
- Foley, J. A. e Otterby, D. E. (1979). Performance of Calves Fed Colostrum Stored by Freezing, Fermentation, or Treatment with Lactic or Adipic Acid. *Journal of Dairy Science* 62:459-467.
- Fox, L.K. (2009). Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. *Veterinary Microbiology* 134 82–88.
- Godden, S. (2007). Pasteurizing Non-Saleable Milk and Colostrum. *WCDS Advances in Dairy Technology* Volume 19: 267-282.
- Godden, S., Feirtag, J.S. (2005) A review of issues surrounding the feeding of pasteurized non-saleable milk and colostrum- procedures dairy calves and heifers conference. *Nraes-175, mncost.com*.
- Gröhn, Y. T., Wilson, D. J., González, R. N., Hertl, J., H. Schulte, Bennett, G. J., e Schukken, Y. H. (2004). Effect of pathogen-specific clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87:3358–3374.
- Guterbock, W. M. (1995). Rational Treatment Of Clinical Mastitis. 2nd Western Large Herd Dairy Management Conference, Las Vegas, NV.
- Hagnestam, C., Emanuelson, U. e Berglund, B. (2007). Yield Losses Associated with Clinical Mastitis Occurring in Different Weeks of Lactation. *Journal of Dairy Science* 90:2260–2270.
- Heins, B. J., Hansen, L. B., and Seykora, A. J. (2006). Production of Pure Holsteins Versus Crossbreds of Holstein with Normande, Montbeliarde, and Scandinavian Red. *Journal of Dairy Science* 89:2799–2804.
- Heins, B., Hansen, L., and Seykora, T. (2007). The California experience of mating Holstein cows to A.I. sires from the Swedish red, Norwegian red, Montbeliarde, and Normand breeds. Disponível em: <http://www.ansci.umn.edu/research/dairy-crossbreeding.htm>.
- Hepola H. (2003). Milk feeding systems for dairy calves in groups: effects on feed intake, growth and health. *Applied Animal Behaviour Science* 80:233-243.
- Heringstad, B., Klemetsdal, G., Ruane, J. (2000). Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. *Livestock Production Science* 64:95–106.
- Hospidoa, A., Sonesson, U. (2005) The environmental impact of mastitis: a case study of dairy herds. *Science of the Total Environment* 343:71– 82.
- Huijps, K., Lam, T. J. e Hogeveen, H. (2008). Costs of mastitis: facts and perception. *Journal of Dairy Research*, 75:113-120.

- Janzen, J. J. (1970). Economic losses resulting from mastitis. A review. *Journal of Dairy Science* vol. 53, no. 9.
- Jenny, B. F., Hodge, S. E., O'Dell, G. O., e Ellers, J. E. (1984). Influence of Colostrum Preservation and Sodium Bicarbonate on Performance of Dairy Calves. *Journal of Dairy Science* 67:313-318.
- Jones, G.M., Bailey, Jr T.L. (2009). Understanding the Basics of Mastitis. Publication 404-233 Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Jorgensen, M., Hoffman, P., Nytes, Y. (2005) Efficacy of on-farm pasteurized waste milk systems on upper midwest dairy and custom calf rearing operations. 4-State Dairy Management Seminar.
- Kaya, İ., Uzmay, C., Uysal, H., e Kaya, A. (2003). Utilization possibilities of surplus colostrum by acidification with formic acid in rearing calves. Changes in some characteristics of acidified colostrum stored at summer ambient temperatures or in a refrigerator. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6 (14): 1208-1213.
- Kehoe, S. I., Jayarao, B. M. e Heinrichs, J. (2007). A survey of bovine colostrum composition and colostrum management practices on Pennsylvania dairy farms. *Journal of Dairy Science* 90:4108–4116.
- Kesler, E. M. (1981). Feeding Mastitic Milk to Calves: Review. *Journal of Dairy Science* 64:719-723.
- Krukowski, H., Tietze, M., Majewski, T., Rózanski, P. (2001). Survey of yeast mastitis in dairy herds of small-type farms in the Lublin region, Poland. *Mycopathologia*, Volume 150, Number 1, pp. 5-7(3).
- Kuang, Y., Tania, K., Synnott, I. J., Ohshimaa, K., Higuchib, H. (2009) Characterization of bacterial population of raw milk from bovine mastitis by culture-independent PCR–DGGE method. *Biochemical Engineering Journal* 45:76–81.
- Kung L., Demarco, S., Siebenson, I. N., Joyner, E., Haenlein, G.F.W., e Morris, R. M. (1997). An evaluation of two management systems for rearing calves fed milk replacer. *Journal of Dairy Science* 80:2529–2533.
- Kung, L.(2003). The importance of colostrum for calves. Disponível em:
http://ag.udel.edu/anfs/faculty/kung/articles/importance_of_colostrum_for_calv.htm.
- Langford, F. M., Weary, D. M., e Fisher, L. (2003). Antibiotic resistance in gut bacteria from dairy calves: A dose response to the level of antibiotics fed in milk. *Journal of Dairy Science* 86:3963–3966.
- Larson L. L., Owen F. G., Albright, J. L. , Appleman R. D. , Lamb R. C., e Muller L. D. (1977). Guidelines toward more uniformity in measuring and reporting calf experimental data. *Journal of Dairy Science* vol. 60, no. 6.
- Lescourret, F. (1994). Modeling the Impact of Mastitis on Milk Production by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 77:2289-2301.
- Li XW, Sun e SH, Li T. (1996) Preliminary study of microbiocide effect and its mechanism of electrolyzed oxidizing water. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. Apr;17(2):95-8.
- Lück, H. (1962). The use of hydrogen peroxide as a dairy preservative. In Milk Hygiene, Food and Agriculture Organization and World Health Organization. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

- Maunsell, F. P., Morin, D. E., Constable P. D. (1998). Effects of mastitis on colostrum. Illini dairynet — University of Illinois Extension. Disponível em: [Http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperdisplay.cfm?contentid=170](http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperdisplay.cfm?contentid=170).
- Mbutia, E.W., Klobasa, F., Gachui, C.K., Abate, A. (1997). Effect of treatment with formaldehyde and formic acid on immunoglobulin content of stored bovine colostrum. *Animal Feed Science Technology* 67:291-298.
- Mcdougall, S., Arthur, D.G., Bryan, M.A., Vermunt, J.J., Weir, A.M. (2007). Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *New Zealand Veterinary Journal*, volume 55, number 4, pp. 161-170(10).
- Mcdougall, S., Parker, K.I., Heuer, C., Compton, C.W.R. (2009). A review of prevention and control of heifer mastitis via non-antibiotic strategies. *Veterinary microbiology* 134 177–185.
- McGill University (2003). Mastitis in dairy cows. Department of animal science, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Macdonald Campus of McGill University, Ste. Anne de Bellevue, Canada.
- Mongeon, M. (2005) Computerized systems automate calf feeding chore as herds grow larger. Disponível em: <http://www.omafra.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/labour.htm>.
- Moore, D. A., Taylor, J., Hartman, M. L., e Sischo, W. M. (2009) Quality assessments of waste milk at a calf ranch. *Journal of Dairy Science* 92:3503–3509.
- Moran, J. (2006). Automatic calf feeders, newsletter article, northern irrigation region. Disponível em: <http://www.dpi.vic.gov.au>, visitado a 12-10-2009.
- Muller, L. D. e Syhre, D. R. (1974). Influence of Chemicals and Bacterial Cultures on Preservation of Colostrum. *Journal of Dairy Science* Vol. 58, No. 6.
- Muller, L. D., and Smallcomb, J. (1977). Laboratory evaluation of several chemicals for preservation of excess colostrum. *Journal of Dairy Science* 60:627.
- Musser, J.M.B., Anderson, K. L., Rushing, J. E. e Moats, W. A. (2001). Potential for Milk Containing Penicillin G or Amoxicillin to Cause Residues in Calves. *Journal of Dairy Science* 84:126–133.
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.
- Nyman, A.-K. (2007). Epidemiological Studies of Risk Factors for Bovine Mastitis. Doctoral thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Oliveira, DS e Timm, CD (2007). Instabilidade da caseína em leite sem acidez adquirida. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 102 (561-562) 17-22.
- Oliver, S. P., Gillespie, B. E., Headrick, S. J., Lewis, M. J., Dowlen, H. H. (2005). Prevalence, Risk Factors, and Strategies for Controlling Mastitis in Heifers During the Periparturient Period. *Internet Journal Applied Research Veterinary Medicine* Vol. 3, No. 2,
- Oliver, S.P., Gillespie, B.E., Headrick, S.J., Lewis, M.J. e Dowlen, H.H. (2004). Heifer mastitis: prevalence, risk factors and control strategies. NMC annual meeting proceedings.

- Østergaard, S., Chagunda, M. G. G., Friggens, N. C., Bennedsgaard, T. W., Klaas, I. C (2005). A stochastic model simulating pathogen-specific mastitis control in a dairy herd. *Journal of Dairy Science* 88:4243–4257.
- Otterby, D. E., Johnson, D. G., Foley, J. A., Tomsche, D.S, Lundquist, R. G., e Hanson, P. J. (1980). Fermented or chemically-treated colostrum and nonsaleable milk in feeding programs for calves. *Journal of Dairy Science* 63:951-958.
- Otterby, D. E., Dutton, R. E., e Foley, J. A. (1976). Comparative Fermentations of Bovine Colostral Milk. *Journal of Dairy Science* Vol. 60, No. 1.
- Owens W. E., Nickerson, S. C., Boddie, R. L., Tomita, G. M. e Ray, C. H. (2001). Prevalence of Mastitis in Dairy Heifers and Effectiveness of Antibiotic Therapy. *Journal of Dairy Science* 84:814–817.
- Polzin, H. W., Otterby, D. E., e Johnson, D.G. (1976). Responses of Calves Fed Fermented or Acidified Colostrum. *Journal of Dairy Science* Vol. 60, No. 2.
- Prange, R. W., Oliver, S. P., Duby, R. T., e Tritschler, J. P. (1984). Residues in Young Veal Calves After Consumption of Milk Containing Penicillin. *Journal of Dairy Science* 67:2970—2973.
- Pyörälä, S. (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*. 34:565–578.
- Pyörälä, S., Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci—emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology* 134:3–8.
- Quigley, J. 2001. Calf Note #03 – A primer on colostrum immunoglobulins. Disponível em: www.calfnotes.com. Acedido em 20-10-2009
- Razzaque M., Abbas, S. E., Bedair, M. (2009). Mortality of pre-weaned calves in Kuwait's dairy herds, its causes and impact of interventions. *The internet journal of veterinary medicine* volume 5 number 2.
- Rindsig, R. B. and Bodoh, G. W. (1976). Growth of Calves Fed Colostrum Naturally Fermented, or Preserved with Propionic Acid or Formaldehyde. *Journal of Dairy Science* Vol. 60, No. 1.
- Rindsig, R. B., Janecke, J. G., e Bodoh, G. W. (1976). Influence of Formaldehyde e Propionic Acid on Composition and Microflora of Colostrum. *Journal of Dairy Science* Vol. 60, No. 1.
- Roy, J.-P., Du Tremblay, D., DesCôteaux, L., Messier, S., Scholl, D., Bouchard, É. (2009). Evaluation of the California Mastitis Test as a precalving treatment selection tool for Holstein heifers. *Veterinary Microbiology* 134:136–142.
- Saha, B. K., Ali, M.Y., Chakraborty, M., Islam, Z. e Hira, A. K. (2003) Study on the Preservation of Raw Milk with Hydrogen Peroxide (H₂O₂) for Rural Dairy Farmers. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (1): 36-42.
- Sargeant, J. M. Scott, H. M., Leslie, K. E., Ireland, M. J., Bashiri, A. (1998). Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Canadian Veterinarian Journal* 39: 33-38.
- Seegers, H., Fourichon, C., Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Resesarch* 34 475–491.

- Sérieys, F., Raguet, Y., Goby, I., Schmidt, H., e Friton, G. (2005). Comparative efficacy of local and systemic antibiotic treatment in lactating cows with clinical mastitis. *Journal of Dairy Science* 88:93–99.
- Shim, E. H., Shanks, R. D. e Morin, D. E. (2004). Milk Loss and Treatment Costs Associated with Two Treatment Protocols for Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 87:2702–2708.
- Skrivanová, V., Svoboda, T., Machanová, L. (1990). Determination of the effects of feeding cold soured milk to calves under normal conditions. *Veterinary Medicine (Praha)*.35(12):717-23.
- Stanojevic, S., Krnjajic, D. (2003) Yeast mastitis in cows. *Internet Journal of Food Safety* v.1. 8-10.
- Stevenson, S. M. L., Cook, S. R., Bach, S. J., McAllister, T. A. (2004). Effects of water source, dilution, storage, and bacterial and fecal loads on the efficacy of electrolyzed oxidizing water for the control of *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Protection*, vol. 67, nº7, pp. 1377-1383.
- Svensson, C., Linder, A. e Olsson, S.-O. (2006). Mortality in Swedish dairy calves and replacement heifers. *Journal of Dairy Science* 89:4769–4777.
- Taponen, S., Pyörälä, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis— not so different from *Staphylococcus aureus*? *Veterinary Microbiology* 134 29–36.
- University of Guelph (s.d.). Milk production and biosynthesis. Disponível em <http://www.foodsci.uoguelph.ca/dairyedu/biosynthesis.html>, visitado a 17-11-2009.
- Van Eenennaam, A. L., Gardner, Holmes, A. J., Perani, J. L., Anderson, R. J., Cullor, J. S. e Guterbock, W. U. (1995). Financial analysis of alternative treatments for clinical mastitis associated with environmental pathogens. *Journal of Dairy Science* 78:2086-2095.
- Verdi, R. e Barbano, D. (1991). Properties of proteases from milk somatic cells and blood leukocytes. *Journal of Dairy Science* 74:2077-2081.
- Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., e O’Kennedy, R. (2009) Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology* Vol.27 No.8 Elsevier.
- Waage, S., Ødegaard, S. A., Lund, A., Brattgjerd, S., Røthe, T. (2001). Case-control study of risk factors for clinical. *Journal of Dairy Science* 84:392–399.
- Weigel, K. A., Barlass, K. A. (2003). Results of a Producer Survey Regarding Crossbreeding on US Dairy Farms. *Journal of Dairy Science* 86:4148–4154.
- Wilson D. J., González, R. N., Schulte, H. F., Bennett, G. J., Schukken, Y. H. e Gröhn, Y. T. (2004). Effect of clinical mastitis on the lactation curve: A mixed model estimation using daily milk weights. *Journal of Dairy Science* 87:2073–2084.
- Zoller, H. F. e Eaton, S. M. (1923). Some studies on the bactericidal action of sodium hypochlorite in cow's milk. *Research Department of the Nizer Laboratories Company, Detroit, Michigan*.

ANEXOS

Anexo I. Viteleiro

1. Jaulas de contenção; 2. Mangas de distribuição de alimento líquido; 3. Destruído automático de concentrado; 4. Estação automática de alimentação; 5. Tanque de armazenamento de leites não comercializáveis; 6. Bebedouros; 7. Manjedoura de concentrado *ad libitum*.

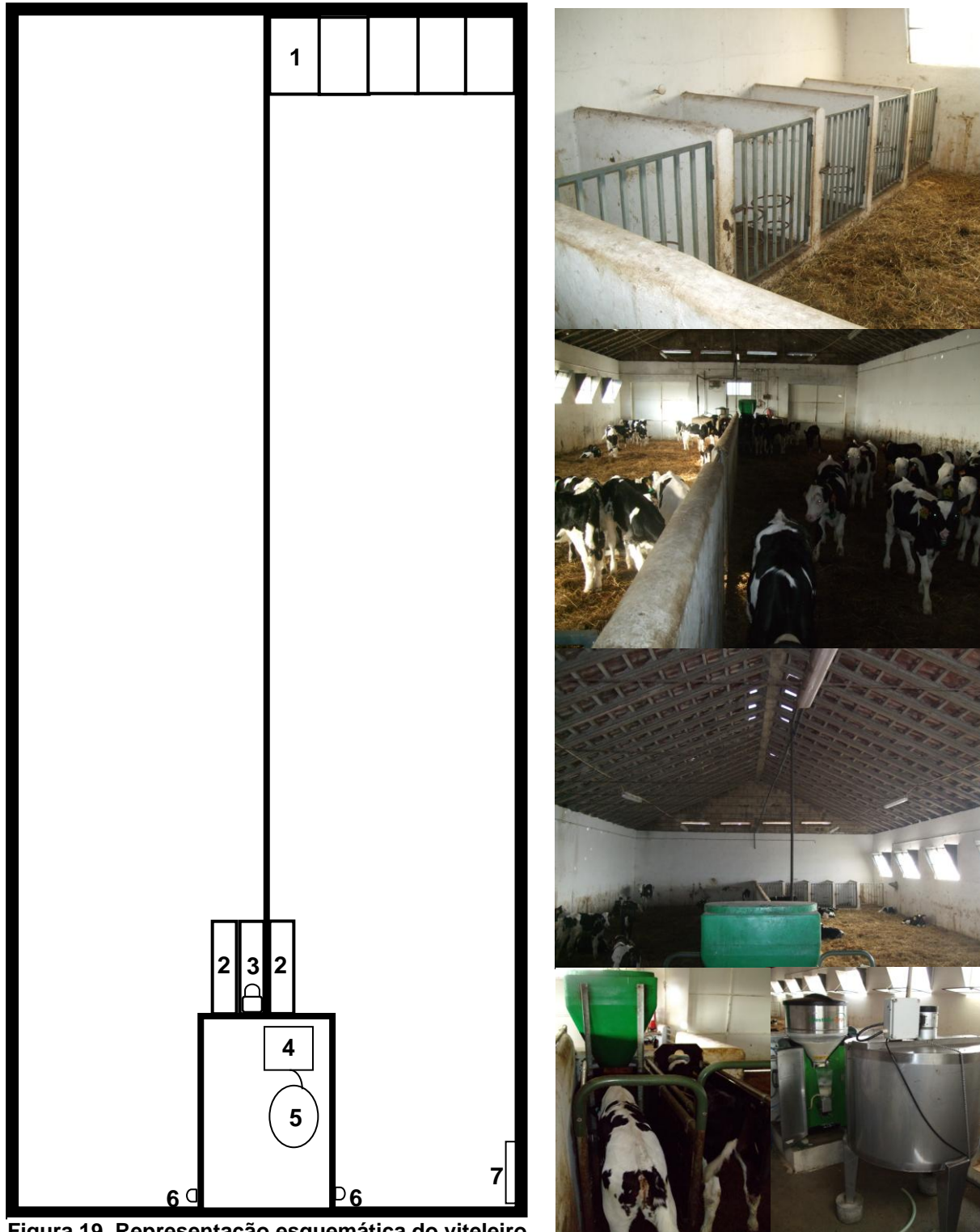


Figura 19. Representação esquemática do viteleiro

Anexo II. Estação de alimentação automática

Representação do funcionamento interno:

- 1 - Válvula de água abre a linha de fornecimento para a caldeira especial
- 2 - Partes precisas de água (0,25 l) de temperatura controlada são monitorizados no misturador (-3-)
- 3 - Misturador
- 4 - Em simultâneo com a medição de água, o leite em pó é adicionado no misturador (-3-) a partir da tremonha de pó
- 5 - Extracção de bebida através da mangueira de sucção e tetinas – sem qualquer espera.

Acessórios para o alimentador automático combinado:

- 6 - Permutador de calor para o aquecimento do leite fresco, com cuidado e rapidamente



Anexo III. Ficha de controlo do estado de saúde dos vitelos

Peso Nascimento _____ Data de nascimento ____/____/2009 Nº _____
 Peso 30 dias _____ Mãe: _____
 Peso 45 dias _____

Dia	Sinais clínicos										
	Atitude			Temperatura rectal	Grau de desidratação						
	Activo	Pouco activo	Prostardo		Prega		Olhos encovados		Orelhas frias		Tratament
< 2 seg				> 2 seg	S	N	S	N			
0											
1											
2											
3											
4											
5											
6											
7											
8											
9											
10											
11											
12											
13											
14											

Peso 14 dias _____

15											
16											
17											
18											
19											
20											
21											
22											
23											
24											
25											
26											
27											
28											
29											
30											

Anexo IV. Ficha de controlo do excreta fecal

Nº _____

Dia	Controlo das Fezes												
	Cor			Consistência				Volume			Outros		
	Escura	Branca	Amarela	Normal	Líquida	Pastosa	Mucoide	Normais	Volumosas	Reduzidas	Mau-cheiro (S/N)	Sangue	
												Não	Sim
											Vivo	Escuro	
1													
2													
3													
4													
5													
6													
7													
8													
9													
10													
11													
12													
13													
14													
15													
16													
17													
18													
19													
20													
21													
22													
23													
24													
25													
26													
27													
28													
29													
30													

Anexo V. Anti-diarreico utilizado.



Nome:
Glutellac.

Classificação:
Alimento dietético.

Composição Qualitativa e Quantitativa:

Acetato de sódio; Glucose; Cloreto de sódio e Cloreto de potássio.

Forma Farmacêutica:

Solução oral.

Espécie Animal Alvo:

Vitelos.

Indicações Terapêuticas:

Alimento dietético para vitelos em situação de risco e durante os períodos de anomalias digestivas (diarreia) e convalescença das mesmas.

Objectivo nutricional específico:

Estabilização do equilíbrio hídrico e electrolítico.

Contra-Indicações:

Não aplicável.

Efeitos Indesejáveis:

Não aplicável.

Posologia, Modo e Via de Administração:

Administrar 2 vezes por dia 1 frasco (50 ml) de Glutellac, misturado no leite de substituição, por um período de 1 a 7 dias.

Precauções Especiais de Utilização:

Não aplicável.

Interações Medicamentosas e Outras:

Não aplicável.

Glutellac®



Utilização Durante a Gestação e Lactação:

Podem ser administrados durante a gestação e lactação.

Sobredosagem:

Não aplicável.

Advertências Especiais Para Cada Espécie Alvo:

Não são necessárias.

Intervalo de Segurança:

Não aplicável.

Precauções Particulares a Tomar Pela Pessoa que Administra o Produto Veterinário aos Animais:

Não são necessárias.

Incompatibilidades:

Desconhecidas.

Precauções Especiais de Conservação:

Não se aplica.

Apresentação:

Embalagens contendo 98 frascos de 50 ml cada.

Nº e data da AIM:

Não aplicável.

Anexo VI. Comparação de custos entre leite comercializável e leite de substituição como alimento líquido de vitelos (adaptado de Jones *et al.*, 2007)



Comparação de custos Leite comercializável versus Leite de substituição

INPUT de leite cru		
Valor comercial do leite (€/100 l)	27,00	<i>a partir do leite</i>
Teor de sólidos totais do leite (%)	12,5	<i>se são foi medido, inserir 12,5</i>
Conteúdo proteico do leite (%)	3,0	<i>a partir do leite</i>
Conteúdo em gordura do leite (%)	3,5	<i>a partir do leite</i>
Peso do leite para alimentar os vitelos (kg/d)	5,0	<i>introduzir o peso do leite</i>
INPUT de leite de substituição		
Custo de leite de substituição por saco (€)	33	
Peso do saco de leite de substituição	50	
Conteúdo em matéria seca (%)	96,5	<i>variável entre 96 e 98</i>
Conteúdo em proteína bruta (%)	24	<i>a partir da composição analítica</i>
Conteúdo em gordura (%)	15	<i>from milk replacer feed tag</i>
Peso de pó para alimentar os vitelos por dia (lb)	0,65	<i>peso de pó por litro</i>

OUTPUT		
	Leite cru	Leite de substituição
Proteína bruta (% MS)	25,5	24,9
Gordura (% dry matter)	28,0	15,5
Custo por kg de MS	2,16 €	0,68 €
Custo de 50 kg de MS	108,00 €	34,20 €
Matéria seca ingerida por vitelo (kg/dia)	0,63	0,63
Proteína ingerida por vitelo (kg/dia), em MS	0,16	0,16
Gordura ingerida por vitelo (kg/dia), em MS	0,18	0,10
Custo por vitelo por dia (€/vitelo/dia)	1,35 €	0,43 €

