

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
MEDICINA VETERINÁRIA PREVENTIVA

DISSERTAÇÃO

Avaliação da Qualidade Sanitária do Leite “*in natura*” de
Vacas (*Bos taurus*) Através da Contagem de Células
Somáticas (CCS)

Paulo Dutra Vieira Neto

2003



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE SANITÁRIA DO LEITE “*IN NATURA*” DE VACAS (*BOS TAURUS*) ATRAVÉS DA
CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS)**

PAULO DUTRA VIEIRA NETO

Sob a Orientação da Professora
Maria da Conceição Estellita Vianni

Tese submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de **Magister
Scientiae** em Medicina Veterinária,
Área de Concentração em Medicina
Veterinária Preventiva.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2003

636.08842
V657a
T

Vieira Neto, Paulo Outra, 1967-

Avaliação da qualidade sanitária do leite de vacas (*Bos taurus*) através da contagem de células somáticas (CCS)/ Paulo Outra Vieira Neto. - 2002.

25 f. : grafs., tab.

Orientador: Maria da Conceição Estellita Vianni.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f.22-26.

1. Bovino - Saúde - Paraíba do Sul, Rio, Vale - Teses. 2. Saúde animal - Paraíba do Sul, Rio, Vale - Teses. 3. Leite - Qualidade - Teses. 4. Leite - Higiene - Teses. I. Vianni, Maria da Conceição Estellita, 1946-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

PAULO DUTRA VIEIRA NETO

Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Medicina Veterinária Preventiva, como requisito parcial para obtenção do grau de **Magister Scientiae**, em **19/02/2003**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19/02/2003.

Maria da Conceição Estellita Vianni. M V, Ph D. UFRRJ.
(Orientadora)

Norma dos Santos Lázaro. M V, Ph D. UFRRJ.

Luiz Antônio Trindade de Oliveira. M V, Ph D. UFF.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Arnaldo e Carmen, que me proporcionaram a oportunidade de estudar e me guiaram pelos caminhos da vida ensinando os verdadeiros valores;

À minha esposa, Kátia, tão dedicada, sempre ao meu lado, me amparando e incentivando;

Aos meus filhos, Paula e Pedro, pelo sentido especial que dão à minha vida;

AGRADECIMENTOS

À Professora Doutora Maria da Conceição Estelita Vianni, pela paciência, entusiasmo e carinho com que orientou todo o trabalho de pesquisa;

Ao colega José Edson Jesus Rocha, pelo valioso auxílio na colheita e procedimento laboratorial das amostras;

Ao Professor Luiz Sergio Ramadinha, pelo estímulo e amparo;

Ao Professor Lauro Boechat, que prontamente auxiliou na análise estatística;

Aos técnicos do laboratório de análises físico-químicas da Cooperativa Agro-Pecuária de Barra Mansa, assim como também aos funcionários que trabalham na plataforma de recebimento de leite, todos sempre tão gentis e prestativos;

Ao secretário da Pós-Graduação do Instituto de Veterinária, senhor Otacilio José Domingos, pela simpatia e atenção para com os mestrandos;

Aos funcionários das bibliotecas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal Fluminense, pela ajuda na localização dos trabalhos;

À esta casa, a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelas pessoas que conheci, acolhida e oportunidade de realizar o presente curso.

**“O ESTUDO SEM O PENSAMENTO É INÚTIL.
O PENSAMENTO SEM O ESTUDO É PERIGOSO.”**
(CONFÚCIO)

RESUMO

Vieira Neto, Paulo Dutra. **Avaliação da Qualidade Sanitária do Leite “*in natura*” de Vacas (*Bos taurus*) Através da contagem de Células Somáticas (CCS)**. Seropédica: UFRRJ, 2003. 26p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva).

Foram realizadas 173 contagens de células somáticas - CCS de amostras de leite de vacas (*Bos taurus*) oriundas de rebanhos leiteiros do Vale do Rio Paraíba utilizando-se o contador eletrônico de células *Counter* (Coulter). As amostras foram colhidas semanalmente de Março a Maio de 2000 na plataforma de recebimento de leite de uma Cooperativa Agropecuária localizada no município de Barra Mansa (RJ) compreendendo o leite produzido em propriedades rurais desta bacia leiteira. A menor CCS obtida foi 56.100 cels/mL enquanto a maior foi 8.344.700 cels/mL tendo como valor médio 1.077.341 cels/mL. Foi possível destacar ainda que 38 (21,96%) amostras apresentaram-se dentro do padrão adotado enquanto que 135 (78,04 %) amostras estavam acima do padrão de 400.000 cels/mL e 24,28% (42 amostras) apresentaram CCS acima da média encontrada.

Palavras chave: Células Somáticas, Vaca, Leite.

ABSTRACT

Vieira Neto. Paulo Dutra. **Evaluation of Sanitary Quality of the Cow (*Bos taurus*) Milk Raw** by the **Counting of Somatic Cells**. Seropédica: UFRRJ, 2003. 26p.(Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária, Medicina Veterinária Preventiva).

Were done 173 counting of somatic cells (CCS) in cow (*Bos taurus*) milk samples from flocks of Vale do Paraíba using a electronic cell counter. The samples were got weekly from March to May/2000 in an agricultural cooperative society in Barra Mansa, which englobes milk produced in rural properties of this milk territory. The less CCS obtained was 56.100 cells/mL; mean a 1.077.341 cells/mL. It was also detached that 38 (21,96%) samples were in the pattern adopted, while 135 (78,04%) samples were above the pattern of 400.000 cells/mL and 24,28% (42 samples) presented CCS above of the mean found.

key-words: Somatic Cells, Cow, Milk.

BIOGRAFIA

Paulo Dutra Vieira Neto, filho de Arnaldo Bohn Vieira e Carmen Silvia de Sousa Vieira, nasceu no dia 6 de Janeiro de 1967, em Catanduva, São Paulo.

Graduou-se no curso de Medicina Veterinária pela Universidade Federal Fluminense em 1992.

Ingressou em 1998 no Curso de Mestrado em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRRJ.

Atualmente é Professor das Disciplinas de Técnica Cirúrgica e de Patologia Clínica Cirúrgica II da Faculdade de Medicina Veterinária da Fundação Educacional Dom André Arcoverde localizada no Município de Valença (RJ).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DE LITERATURA	03
3 MATERIAL E MÉTODOS	12
3. 1 Material	12
3 .2 Métodos	12
3. 2. 1 Preparo da amostra	12
3.2.2 Mecanismo do Aparelho	13
3 .2.3 Realização do Teste	13
3 .24 Interpretação da Leitura	14
3 .2.5 Padrão Adotado	14
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5 CONCLUSÕES	20
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21

1. INTRODUÇÃO

É considerado leite o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 1997).

O leite é considerado umas das melhores e mais completas fontes de nutrientes para o homem. Em função da quantidade e da disponibilidade de proteínas, cálcio e vitaminas do complexo B é considerado integrante essencial na dieta de crianças, adolescentes e adultos.

Sabe-se hoje em dia que em sua composição estão presentes mais de cem elementos onde seus índices podem variar de acordo com a raça, estação do ano, genética, estágio da lactação, sanidade e nutrição.

Sendo um alimento de origem animal, o leite é muito perecível e por isso mesmo, sua qualidade nutritiva é facilmente influenciada devido às falhas de manejo no que diz respeito a higienização dos animais e excesso de manipulação quando fresco.

Um dos mais importantes problemas sanitários que afetam a bovinocultura leiteira é a mastite (CASSEL, 1994 e RIBAS, 1996), sendo que pelo menos 20 % das vacas em produção apresentam esta enfermidade em um ou mais quartos mamários, com o agravante que destes, somente cerca de 3 % exteriorizam a doença sob a forma clínica.

As principais consequências da mastite são a redução na produção de leite e significativa alteração em sua composição físico-química o que determina comprometimento da qualidade dos produtos lácteos além do que, está bem estabelecido que o leite e seus derivados podem levar a surtos de distúrbios alimentares, causados pela veiculação de uma variedade de microrganismos patogênicos que encontram no leite um meio ideal para sua multiplicação e desenvolvimento.

A contagem de células somáticas-CCS no leite eleva-se sob diversas situações dentre elas a mastite sendo que, de acordo com o grau de intensidade de agressão à glândula mamária haverá maior ou menor elevação destas células somáticas.

Na atualidade, é significativa a elevação do consumo de produtos lácteos na maioria dos países, incluindo o Brasil, o que determinou nos últimos anos um progresso significativo

das técnicas utilizadas na indústria de laticínios, especialmente Brasil, Argentina, Chile e México. O aumento no consumo e o conseqüente desenvolvimento da tecnologia leiteira nacional provavelmente foram determinados, em grande parte, pela qualidade dos seus produtos, pelo aumento da produção nas propriedades e pelo estímulo adquirido pelos consumidores em comprar produtos lácteos. Para assegurar a produção e comercialização destes produtos lácteos com alta qualidade, é importante utilizar leite “in natura” obtido dentro das normas higiênicas estabelecidas, pasteurizá-lo e armazená-lo a temperaturas adequadas. Esforços devem ser feitos para assegurar que a matéria prima que sai da propriedade produtora de leite seja de alta qualidade, já que, somente desta maneira pode-se chegar a um produto final próprio para o consumo. Por melhor que seja o processamento utilizado, não é possível obter-se um produto final bom partindo-se de uma matéria prima inadequada.

A contagem de células somáticas é um teste estimativo que permite avaliar a qualidade sanitária do leite, ao nível de plataforma de recepção, possibilitando diferenciar o leite e respectivos fornecedores que possuam rebanhos comprometidos quanto à sanidade da glândula mamária.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade sanitária do leite proveniente de propriedades rurais de uma Cooperativa de Laticínios situada em Barra Mansa – RJ, mediante a contagem de células somáticas (CCS) de amostras de leite colhidas na plataforma de recebimento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

A palavra mastite, derivada do grego “mastos”, glândula mamária e do sufixo “ite”, inflamação, caracterizando o processo inflamatório da glândula mamária (COSTA, 1998), e conforme WHEELOCK *et al* (1966), KITCHEN (1981) e HARMON (1994), é resultante na maioria das vezes, da colonização e multiplicação de microrganismos patogênicos na glândula mamária.

Avaliando a prevalência da mastite infecciosa em rebanhos leiteiros, WILSON, GONZALES & DAS (1997), colheram amostras de leite de 105.083 vacas oriundas de 1.601 rebanhos leiteiros do estado de Nova Iorque e região nordeste do estado da Pensilvânia constatando que mais de 75 % das infecções foram causadas por *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase negativo. Também foram encontrados *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli*, *Serratia sp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Pasteurella sp.*, *Proteus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.*, *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma sp.*, outros *Staphylococcus*, algas do gênero *Prothoteca* e fungos.

A etiologia da mastite é bastante complexa, sendo que nas espécies de importância econômica é causada por microrganismos grupados quanto à sua origem e modo de transmissão em microrganismos contagiosos (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus sp*, *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium bovis*) transmitidos principalmente durante a ordenha e microrganismos ambientais tais como *Streptococcus uberis*, *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella sp* e *Serratia sp*), fungos (*Nocardia sp*) e algas do gênero *Prototheca* (*Prototheca zopfii*) (COSTA, 1998).

As mastites infecciosas podem acarretar redução na produção leiteira superior a 20% e cerca de 8% de descarte do leite (SENYK, BARBANO & SHIPE, 1985).

BLOOD *et al* (1991), citaram que em termos de perdas econômicas, a mastite é, sem dúvida a doença mais importante afetando sobremaneira a indústria leiteira, já que estas perdas são ocasionadas muito mais pela queda na produção e alteração da composição do leite do que pelos casos fatais.

Enquanto DALEY *et al* (1991), afirmaram que a mastite infecciosa afeta aproximadamente 5 a 10% do rebanho leiteiro dos Estados Unidos e na maioria dos países,

BLOOD *et al* (1991), registraram prevalência nos rebanhos na ordem de 40 % e LEHMANN & WILHELM (1992) entre 10 e 20%.

A mastite, segundo CASSEL (1994), é amplamente reconhecida como um dos mais dispendiosos problemas sanitários dos rebanhos leiteiros.

Segundo DALEY *et al* (1991), CAMEROM & ANDERSON (1993) e DU PREEZ & GIESECKE apud COSTA (1998) a mastite subclínica é a principal causa de redução na produção leiteira em vista da sua persistência sobre os rebanhos enquanto que a forma clínica pode levar ao descarte prematuro.

HARMON (1998 a) afirmou que nos Estados Unidos a mastite acarreta perdas econômicas de aproximadamente 185,00 dólares (US\$) por vaca anualmente totalizando US\$ 1,8 bilhão a cada ano, sendo que 66% destas perdas resultam da diminuição da produção de leite decorrente das infecções.

A mastite, conforme COSTA (1998), é uma das principais senão a principal causa dos prejuízos na produção leiteira e no Brasil este prejuízo é maior que em outros países tais como os Estados Unidos, sendo da ordem de US\$ 332,00 por vaca anualmente.

Segundo BLOOD *et al* (1991), existe ainda perigo adicional do leite proveniente de vacas acometidas por mastite quando resultante de uma pasteurização inadequada, tornando-o impróprio para o consumo humano devido à contaminação bacteriana e podendo ainda veicular doenças tais como a tuberculose, a brucelose e inflamações da garganta por estreptococos.

Os polimorfonucleares (PMNs), especificamente os neutrófilos desempenham função decisiva na fisiopatologia da mastite, correspondendo a mais de 90% das células somáticas na glândula infectada (OLDHAM *et al*, 1989).

KHERLI & SUSTER (1994) afirmaram que as bactérias presentes liberam produtos oriundos do metabolismo os quais atraem os leucócitos por quimiotaxia.

Complexas modificações que levam à redução da atividade secretora da glândula mamária podem ser observadas tais como alterações na composição do leite e elevação do número de células somáticas (WHEELOCK *et al*, 1966; HAENLEIN *et al*, 1972; SCHULTZ, 1977; HORVÁTH *et al*, 1981; KITCHEN, 1981; SENYK *et al*, 1985; BLOOD *et al*, 1991; HARMON, 1994 e AARESTRUP *et al*, 1995).

MILLER *et al* (1993), KHERLI & SUSTER (1994) e HARMON (1998 a) afirmaram que um dos componentes iniciais à resposta inflamatória, constituindo-se também uma das linhas de defesa do úbere são os neutrófilos e linfócitos que migram para o interior do tecido mamário.

Segundo HARMON (1994) os polimorfonucleares - PMNs em condições normais da glândula mamária fluem livremente através dos capilares com mínima aderência à parede dos vasos, porém durante uma infecção ou inflamação estes PMNs margeiam ou aderem ao endotélio de pequenos vasos sanguíneos passando entre as células da membrana dos vasos. Mensageiros químicos ou agentes quimiotáticos são liberados no leite por leucócitos, e essa liberação ocorre normalmente em situações de lesão tecidual, sendo atraídos para o leite em grande número.

A função do PMN no leite é, conforme RIBAS (1996), fagocitar e digerir o microrganismo invasor podendo também fagocitar outras partículas tais como glóbulos de gordura e caseína. Mesmo assim, os PMNs permanecem como um mecanismo chave de defesa do úbere. Assim, o resultado final deste processo é um aumento na contagem de células somáticas (CCS).

A CCS pode variar com a idade, estágio de lactação, alimentação e estação do ano, porém a variação será menor em úberes livres de infecção (RIBAS, 1994; HARMON, 1998 b).

Ocorrem ainda alterações na composição do leite devido à redução da atividade sintetizadora do tecido mamário, podendo-se observar diminuição de lactose, lactoalbumina e gordura. A quantidade de proteínas totais sofre pequena alteração, porém, o índice de proteínas se altera drasticamente (HARMON, 1994).

O conteúdo de caseína, cálcio, fósforo lactose e gordura se reduzem (LARANJA, 1998).

VIANNI (1986) registrou que o leite proveniente de quartos infectados pelos principais agentes etiológicos da mastite quando comparado ao leite de quartos sadios apresenta alterações físico-químicas diminuindo a densidade, a acidez titulável, os sólidos totais, os sólidos não gordurosos e a caseína e elevando as unidades de pH e o teor de cloretos. Verificou também que o *Staphylococcus aureus* e o *Streptococcus dysgalactiae*

determinaram alterações significativamente maiores na composição do leite do que o *Staphylococcus epidermidis*.

BARBANO (1994), citou que as células somáticas contêm um ativador de plasminogênio o qual é precursor da enzima plasmina, que determina a degradação da caseína. No leite de vacas com mastite, a caseína é quebrada por essa enzima proteolítica e os glóbulos de gordura tornam-se mais susceptíveis à lipólise, com isso a eficiência na produção de queijo é comprometida quando se utiliza leite com CCS superior a 100.000 células por mililitro de leite.

A plasmina é encontrada tanto no sangue como no leite, mas sua concentração aumenta no leite em decorrência da mastite. Ela causa significativos danos à caseína, que é o componente protéico mais importante do leite contribuindo para a produção de queijo através da formação do coágulo (PHILPOT, 1998 b); além disso, há alteração na textura e na qualidade do queijo de acordo com a elevação da CCS do leite (BARBANO, 1994; TAVOLARO *et al*, 1997; PHILPOT, 1998 b).

COSTA (1998), observou no leite de vacas com mastite menor teor de lactose, caseína, gordura, cálcio e fósforo e aumento de imunoglobulinas, cloretos e lipase (que leva ao ranço) o que tornava o leite impróprio para o consumo e rejeitado na plataforma de recepção das usinas de laticínios.

Segundo PHILPOT (1998 b), os efeitos da mastite subclínica sobre a composição do leite são significativos, onde a lactose tem redução de 5 a 20%, enquanto que a principal proteína do leite, a caseína diminui de 6 a 18% e os sólidos totais decrescem de 3 a 12%. Foi possível observar também redução de cálcio, fósforo e potássio enquanto que as concentrações de sódio e cloro aumentam.

A contagem de células somáticas - CCS, estima o número de células presentes no leite, que podem ser do tipo epitelial ou de defesa. As células epiteliais são oriundas da descamação normal do tecido de revestimento e secretor interno da glândula mamária, correspondendo de 2 a 25%. Já as células de defesa representadas pelos leucócitos e presentes fisiologicamente no leite, se elevam de 75 % a 98 % do total da CCS nos processos de agressão como nos casos de infecção (RIBAS, 1999).

MURPHY *et al* (1989) constataram aumento significativo do número de células

somáticas no leite de vacas 24 a 36 horas após a infusão de *Streptococcus agalactiae* no úbere. Aferiu-se também a lipólise e a proteólise antes, durante e após a mastite induzida experimentalmente verificando-se elevação da atividade da protease durante a infecção e aumento da lipólise, porém, não foi observado aumento da atividade da lipase.

Comparando amostras de leite provenientes de vacas acometidas por mastite subclínica com as de vacas sadias, ALENICHKINA *et al* (1993) registraram que o leite oriundo das vacas enfermas apresentava aumento da atividade da fosfatase alcalina e do número de células somáticas. O número de linfócitos, macrófagos e principalmente de neutrófilos foi significativamente maior no leite das vacas infectadas, assim como os níveis de imunoglobulinas (Ig) e albuminas observados, concluindo ainda que durante a mastite, além da presença de Ig plasmáticas, ocorre produção de Ig na glândula mamária.

A correlação positiva entre altas contagens de células somáticas no leite e o comprometimento da saúde do úbere é afirmada por muitos autores (ANDERSON & ANDREWS, 1977; GUTHY, 1982; HASSAN *et al*, 1984; BERNARDI & FERNANDES, 1985; SENYK *et al*, 1985; NADER FILHO, 1988; BLOOD *et al*, 1991; EMANUELSON & FUNKE, 1991; SAMARZIJA *et al*, 1991; FANDREJEWSKA, 1993; HOCEVAR, 1993; BARBANO, 1994; SOBAR *et al*, 1994; AARESTRUP *et al*, 1995; TAVOLARO *et al*, 1997; LARANJA & AMARO, 1998; HARMON, 1998 b; PHILPOT, 1998 b; RIBAS, 1998).

A CCS considerada normal (quartos sem infecção) está geralmente abaixo de 200.000, mas pode ser inferior a 100.000 cel/mL em animais de primeira lactação, segundo aferição de HARMON (1998 a).

Avaliando os efeitos da contagem de células somáticas na qualidade e tempo de prateleira do leite pasteurizado, MA *et al* (2000) constataram que o leite oriundo de quartos com infecção apresentaram aumento significativo da contagem de células somáticas (849.000 células por mililitro) e também aumentos da taxa de ácidos gordurosos livres e da hidrólise da caseína enquanto que os mesmos quartos mamários sem o processo infeccioso apresentavam CCS de 45.000 cels/mL as quais mantiveram alta qualidade organoléptica durante todo o experimento (21 dias); enquanto que nas amostras de leite com altas contagens de células somáticas, entre o 14º e o 21º dia, foi detectado ranço e sabor amargo, resultando em baixa classificação da qualidade do leite.

A sanidade da glândula mamária é uma condição essencial para o aumento da produção leiteira e manutenção da integridade constitucional do leite, sendo que afecções no úbere exercem efeito negativo no conteúdo de gordura e na qualidade de processamento do leite (LEHMANN & WILHELM, 1992).

Para verificar a relação ou não entre a proteólise e o aumento da CCS no leite, SENIK, BARBANO & SHIPE (1985) colheram amostras de vacas oriundas de rebanhos leiteiros com valores de CCS variando entre 41.000 a 2.132.000/mL. A atividade proteolítica no leite cru foi avaliada no momento da colheita, quando armazenado, cru ou pasteurizado, sob refrigeração a 6,2° C durante 72 horas, assim como no leite utilizado para a fabricação de queijos; sendo possível observar que após incubação a 30° C por três ou seis horas, as amostras analisadas apresentaram correlação positiva entre a proteólise e a CCS.

Com o objetivo de determinar a importância da CCS como parâmetro de qualidade na utilização do leite na fabricação de queijo tipo *Mozzarella* e queijo tipo Minas frescal, TAVOLARO *et al* (1997) realizaram ao longo de 15 dias a triagem do leite com o uso do “*Wisconsin Mastitis Test*” (WMT), confirmando-se os valores obtidos pelo uso do contador eletrônico de células somáticas (Fossomatic). Os autores puderam observar que os fatores que mais influenciaram no rendimento industrial de ambos os tipos de queijos foram os teores de gordura e de caseína, sendo que, o teor de gordura exerceu influência ainda maior. Também foi observado que o rendimento industrial do leite utilizado na fabricação de queijo é regulado pelos teores de gordura e caseína, sendo que o leite proveniente de vacas com mastite possui menor concentração de caseína do que o leite normal, assim como a qualidade dos produtos lácteos fabricados com este tipo de leite é inferior a dos fabricados com leite com baixa CCS.

No início da lactação e em casos de mastite clínica, DELUYKER *et al* (1993) comprovaram que a CCS é mais alta, sendo também constatado aumento da CCS dez dias antes do aparecimento clínico da mastite permanecendo esta taxa elevada dez dias após o tratamento da doença. As vacas com CCS igual ou superior a 245.000 cels/mL de leite produziram 6,2 % menos leite quando comparadas com vacas com média igual ou inferior a 90.000 cels/mL de leite.

NYANTWAZA *et al* (1994), compararam o tempo de coagulação de amostras de leite com diferentes contagens de células proveniente de 160 glândulas mamárias sadias ou

não de 40 vacas, concluindo que existia correlação negativa entre a CCS e o tempo da retenção do coágulo.

DEKKERS, VAN ERP & SCHUKKEN (1996) em seu trabalho na cidade de Ontário (Canadá) observaram que a avaliação da qualidade do leite é estabelecida através da contagem de células somáticas e que a probabilidade de penalidades aumenta de acordo com a elevação destas contagens. Os resultados indicaram que os esforços para reduzir a CCS para o limite de 250.000 cel/mL resultaram em receita extra para o proprietário.

Para a indústria de laticínios, a CCS está diretamente ligada ao rendimento do leite para a fabricação de produtos lácteos, em especial, o queijo. A qualidade do produto é expressa principalmente através do tempo de vida de prateleira e pelas características organolépticas dos derivados lácteos. Para o consumidor, a CCS significa maior ou menor tempo de prateleira dos produtos lácteos, portanto, sua qualidade (LARANJA & AMARO, 1998).

Segundo PHILPOT (1998 a), por melhor que sejam os métodos de processamento do leite, estes não podem melhorar o produto final partindo-se de uma matéria-prima inadequada e isto se deve às enzimas liberadas pelos microrganismos presentes nos produtos lácteos com conseqüente degradação das proteínas, dos hidratos de carbono e da gordura do leite.

A qualidade do leite (propriedades nutricionais, composição e condições sanitárias) afeta a habilidade e a eficiência de sua transformação em queijo, iogurte, manteiga e outros produtos assim como a conservação ou a perecibilidade destes produtos antes de chegarem aos consumidores (MONARDES, 1998).

LARANJA & AMARO (1998), constataram que em propriedades nas quais a CCS nos tanques de recepção de leite apresentou-se inferior a 400.000 cels/mL e a probabilidade de haver violações no leite, como a presença de antibióticos era de 1 % contra 4,73 % em propriedades com CCS do tanque superior a 750.000 cels/mL. Verificaram ainda que 60 % das violações nas quais foram encontrados resíduos de antibióticos, a CCS era superior a 400.000 cels/mL.

Com o objetivo de determinar os fatores que afetam a CCS, SCHEPERS *et al* (1997), avaliaram 22.467 amostras de leite de 544 vacas oriundas de 7 rebanhos, verificando que o processo infeccioso foi o fator mais importante na alteração da CCS; a

interação entre o estágio de lactação e ordem de parto também foi significativa, além do que, houve correlação negativa entre a CCS e a produção de leite, permitindo concluir que a adoção do limite de CCS em 200.000 células/mL de leite no que diz respeito ao estágio de lactação pouco melhoria traria para os parâmetros de avaliação da qualidade do leite normalmente utilizado pela indústria.

Estudos realizados por EBERHART *et al* (1979) e LAEVENs *et al* (1997) citados por HARMON (1998 b), revelaram que 80 % das vacas não infectadas apresentavam CCS abaixo de 200.000 cels/mL sendo que, 50 % destes animais apresentaram CCS abaixo de 100.000 cels/mL. Verificaram também, que a média geométrica das CCS de amostras de leite de 44 vacas não infectadas, de primeira a terceira lactação foi 49.400 cels/mL.

A análise de dados referentes ao estágio de lactação mostrou que a CCS de amostras de leite oriundo de quartos não infectados elevou-se de 83.000 no 35º dias pós-parto para 160.000 cels/mL aos 285 dias de lactação enquanto que em quartos infectados com *Staphylococcus aureus* as contagens se elevaram de 234.000 para 1.000.000 cels/mL no mesmo período. Atualmente uma elevação acima de 200.000 cels/mL é considerada anormal, concluindo os autores que todos os quartos, independente da presença ou não de infecção apresentaram altas CCS imediatamente após o parto, porém, nos quartos livres de infecção assim como naqueles acometidos por infecção causada por microrganismos com baixa patogenicidade, houve rápido declínio na CCS ao redor do 35º dia pós-parto (HARMON, 1998 b).

Segundo PHILPOT (1998 a), na Colômbia mais de 90% dos rebanhos estão acometidos por mastite infecciosa, o que determina elevadas contagens de células somáticas em mais de mil propriedades que entregam leite para as três principais indústrias de Bogotá, cujos índices estão acima de 620.000 cels/mL de leite, e em alguns casos estas contagens estavam acima de 4.000.000 de células.

No Brasil, BRITO (1998) verificou em um rebanho livre de infecções por *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, valores máximos de 300.000 cels/mL. Já em um rebanho infectado por *Staphylococcus aureus*, a média geométrica oscilou entre 232.000 e 623.000 de cels/mL enquanto que num rebanho acometido por *Streptococcus agalactiae*, tal valor foi superior a 1.000.000 de cels/mL.

Em muitas fazendas a CCS se elevou com o avançar do estágio de lactação, tal observação foi feita por EBERHART *et al* (1979) apud HARMON (1998 b) os quais demonstraram também no caso das vacas serem separadas em grupos de acordo com o nível da infecção, ficaria óbvio que as alterações nas CCS de vacas não infectadas seriam menores, tanto nas mais velhas como naquelas em final de lactação.

O estresse tem sido responsabilizado em várias situações pelo aumento de CCS, entretanto tentativas para induzir experimentalmente alterações na CCS em vacas não infectadas, através da inoculação de hormônio adrenocorticoide, corticosteróide ou ainda a colocação dos animais em câmaras de ambiente controlado, têm somente mostrado pouco ou nenhum efeito sobre a CCS do leite (HARMON, 1998 b).

Segundo LARANJA (1998) e HARMON (1998 b), a CCS é utilizada internacionalmente como parâmetro de avaliação da qualidade do leite e, por esta razão, tal medida está sendo implantada em países em desenvolvimento, os quais até bem pouco tempo não tinham acesso a esta tecnologia.

Atualmente, a CCS é o índice estimativo de mensuração da sanidade do úbere mais importante, sendo utilizada como parâmetro da qualidade sanitária do leite em vários países, inclusive o Brasil (OSTRENSKY *et al*, 1999).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Semanalmente no período de Março a Maio de 2000, foram colhidas em tubos de ensaio com tampas de borracha 173 amostras contendo cerca de 10 mL de leite, segundo procedimento de análise recomendado por *Couller Eletronics*¹, provenientes de recipientes (latões) na plataforma de recebimento de leite de uma cooperativa agro-pecuária, localizada no município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro. O único critério de seleção adotado foi desprezar amostras de leite reprovadas pelo teste do alizarol o qual era realizado como teste de rotina no recebimento do leite. Cada “latão” era identificado pela cooperativa através de um número logo abaixo da tampa, correspondendo este número a um determinado produtor, quando então era registrada a produção diária de leite assim como o número de latões recebidos por dia, uma vez que tal produção era variável. Durante o período em que as amostras foram colhidas, a média diária de latões recebidos foi de 1.600 correspondendo a 600 produtores.

Após a colheita, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas (isopor) e transportadas de imediato para o Laboratório de Bacterioses do Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro/UFRRJ.

3.2 Métodos

3.2.1 Preparo da amostra

Este volume de 10 mL de leite colhido de cada latão era transferido para tubos de ensaio com capacidade para 20 mL onde de imediato eram adicionadas três gotas de “*Somafix*”[®] cuja finalidade era fixar as amostras no momento de sua colheita. O conteúdo dos tubos era homogeneizado e em seguida os tubos eram fechados com rolhas de borracha,

¹ Procedimento de análise. Coulter Eletronics Indústria e Comércio Ltda.

[®] Solução de eosina e formalina. CC Laboratories, Inglaterra.

colocadas sob refrigeração e nestas condições permaneciam inalterados por um período de até 15 dias.

3.2.2 Mecanismo do aparelho (VIANNI, 1986)

O contador eletrônico de células modelo DN-VET² permite uma rápida determinação do número de partículas ou células em suspensão. Nesse caso, a amostra de leite preparada passa por um orifício situado entre dois eletrodos e as partículas presentes na amostra, com volume conhecido e de baixa condutividade, deslocam pequena quantidade de líquido com elevada condutividade do circuito. Esse deslocamento de líquido aumenta a resistência, eleva a voltagem e produz um pulso registrado pelo monitor. Conseqüentemente, o número de pulsos indica o número de partículas ou células que foram absorvidas pelo orifício do aparelho, com um mesmo volume.

3.2.3 Realização do teste

Por ocasião da realização do teste, as amostras eram novamente homogeneizadas, colocadas por 5 minutos em banho-maria a 60 ° C com a finalidade de fundir os glóbulos de gordura que estavam solidificados devido à refrigeração. Feito isso, utilizando-se uma pipeta de precisão diluiu-se 0,1 mL de leite em 10 mL de *Somaton*³ o qual, segundo VIANNI (1986), além de diluente possui propriedade detergente determinando a dispersão dos glóbulos de gordura e conseqüente redução do diâmetro das partículas de gordura tornando-as menores em relação ao diâmetro do orifício calibrado no aparelho. Depois de preparadas as amostras eram colocadas em banho-maria a 80° C por 10 minutos.

Terminado o aquecimento, a mistura de leite e somaton era vertida em cubeta de polietileno do próprio aparelho, na qual mergulhavam-se os dois eletrodos. Com isso, o orifício situado entre os dois eletrodos permanecia submerso na diluição do leite em somaton, obtendo-se desta forma a contagem eletrônica de partículas em suspensão. O resultado era obtido da média de três leituras consecutivas de cada amostra

² Coulter Eletronics Indústria e Comércio Ltda.

³ Solução de azida sódica (NaN₃) a 0,1%.

3.2.4 Interpretação da leitura

Quando o aparelho absorve uma alíquota de 100 μL , o índice registrado corresponde à milésima parte do número de células existentes em 1 mL de leite. A alíquota absorvida no presente trabalho foi de 500 μL , correspondendo a 1/200 do total de células existentes em 1 mL de leite, portanto a média das três contagens de cada amostra foi multiplicada por 200 nos dando o valor final da contagem de células somáticas por mililitro de leite.

Após o registro das CCS aferidas, as amostras foram divididas de acordo com a região produtora, totalizando seis regiões e correspondendo aos valores 26, 78, 20, 21, 15 e 13 amostras, respectivamente por cada região.

3.2.5 Padrão adotado

Quando as alterações se voltam para a qualidade sanitária do leite DEKKERS, VAN ERP & SCHUKKEN (1996) preconizaram em seu trabalho o limite de 250.000 cel/mL de leite para o leite considerado normal, porém HARMON (1998 a) e PHILPOT (1998 b) citaram que as amostras de leite acima de 200.000 cel/mL de leite já devem ser consideradas provenientes de leite anormal enquanto que LARANJA (1998) sugeriu valor máximo de 300.000 células/mL.

Nos Estados Unidos, PHILPOT (1998 a) citou que as normas estabelecidas exigiam que o leite apresente um valor máximo de 750.000 células por mililitro de leite. Mesmo assim, cada Estado, cooperativa ou indústria leiteira podia estabelecer padrões mais rígidos. Já o Canadá adotou o padrão limite de 500.000 cels/mL de leite, entretanto, atualmente segue o padrão da União Européia que é de 400.000 cel/mL de leite, enquanto que no Brasil ainda não foram estabelecidos oficialmente padrões de qualidade do leite em função da CCS.

Segundo PHILPOT (1998 a) os padrões de qualidade para o leite e produtos lácteos destinados ao mercado internacional devem ser determinados pelo *Codex Alimentarius Commission*, chamado de “Codex”, cujo objetivo é proteger a saúde do consumidor e assegurar práticas justas de comércio entre os países. Numerosos comitês do Codex têm

sido formados e dentre várias a *International Dairy Federation* (IDF), sediado na Bélgica, que é o Conselho Técnico Oficial para o Comitê de Leite e Produtos Lácteos onde os padrões para o leite destinado ao mercado internacional são determinados numa série de regulamentações especiais em saúde e higiene. Atuais exigências para o leite cru quanto a CCS são de menos de 100.000 microrganismos e menos de 400.000 células somáticas por mililitro de leite.

Diante disso, optamos pelo padrão de 400.000 células somáticas por mililitro de leite, valor este recomendado pelo Codex.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 173 amostras foram submetidas a contagens de células somáticas para avaliação da qualidade do leite e os resultados obtidos destas contagens podem ser observados por região na tabela I:

TABELA I – Valores mínimos, máximos e médios da CCS por região.

Região	Valor mínimo da CCS/mL de leite	Valor médio da CCS/mL de leite	Valor máximo da CCS/mL de leite
1	216.900	1.193.256,00	4.026.900
2	56.100	1.187.400,00	8.344.700
3	263.600	1.185.425,00	3.718.800
4	320.100	1.211.014,00	6.981.500
5	286.100	873.460,00	2.235.700
6	245.900	848.010,00	2.972.200
Média Total	231.450	1.077.341,00	4.713.300

Os valores expressos na Tabela I evidenciam que os índices mínimos e máximos foram registrados na região 2, respectivamente 56.100 e 8.344.7000 cels/mL de leite.

Quando observamos as contagens médias, é possível notar que nenhuma das médias obtidas nas seis regiões se apresentou dentro dos padrões recomendados, quais sejam 400.000 cels/mL conseqüentemente determinou também um valor global médio acima do preconizado, correspondendo a 1.077.341,00 cels/mL de leite.

DELUKYER *et al* (1993) verificaram que vacas com CCS iguais ou superiores a 245.000 cel/mL de leite produziram 6,2% menos leite do que vacas que apresentaram CCS igual ou inferior a 90.000 cel/mL, enquanto que EBERHART *et al* apud HARMON (1998 b), estimaram perdas de 6 % na produção de leite em rebanhos com CCS de 500.000 células por mililitro e 18 % quando a CCS atingia 1.000.000 cels/mL de leite, evidenciando que tais índices foram semelhantes àqueles encontrados pelo autor.

Tomando como base a contagem de células somáticas como parâmetro para avaliação da produção de leite, no presente trabalho esta perda foi da ordem de 18%.

Uma análise global mostra que das 173 amostras avaliadas, 38 (21,96%) amostras apresentaram-se dentro do padrão adotado enquanto que 135 (78,04%) amostras mostraram valores acima deste padrão de 400.000 cel/ml.

TABELA II – Número de amostras, média das CCS, porcentagem das amostras acima do padrão e percentual acima da média total por região.

Região	Nº de amostras	% de amostras acima do padrão	Média das CCS	% acima da média (1.077.341)
1	26	76,92	1.193.256,00	10,76
2	78	79,48	1.084.715,00	0,69
3	20	65,00	1.185.425,00	10,03
4	21	95,24	1.211.014,00	12,41
5	15	86,67	873.460	
6	13	76,92	848.010	
Total	173	78,04	1.077.341,00	

A tabela II evidencia os valores de CCS obtidos por região avaliada, onde é possível observar o número de amostras, a média de CCS, os valores percentuais acima do padrão e os valores percentuais acima em relação à média total estabelecidos por região.

Considerando individualmente cada região, é possível verificar que na região 1 o total de 26 amostras, das quais 20 (76,92 %) apresentaram mais de 400.000 cels/mL de leite e a média das CCS (1.193.256,00 cels/mL) foi 10,76 % mais elevada que a média total obtida (1.077.341,00 cel/mL).

Na região 2 foi constatado que do total de 78 amostras, em 62 (79,48 %) a CCS apresentou-se acima do padrão, enquanto que a média (1.084.715,00) foi também 0,69 % superior a média total.

Na região 3 foram colhidas 20 amostras das quais 13 (65%) evidenciaram CCS acima do padrão enquanto que a média foi de 1.185.425,00 valor este 10,03% superior a media total.

Médias de CCS abaixo da média total somente foram encontrados nas regiões 5 e 6, respectivamente, 873.460 e 848.000 cel/mL.

Do total de 21 amostras da região 4, 20 delas (95,24%) tiveram a CCS acima do padrão e a média (1.211.014,00) apresentou-se 12,41% mais elevada que a média total. Esta foi a região que apresentou os piores resultados, ou seja, maior número de amostras fora do padrão e a média mais elevada.

Foi possível constatar também que, das 15 amostras da região 5, 13 (86,67%) apresentaram valores acima do padrão, enquanto que a média das amostras (873.460,00) foi 18,93 % inferior a média total obtida.

Pode-se ainda observar que o percentual de amostras acima do padrão na região 6 apresentou o mesmo valor que da região 1, ou seja, (76,92%), correspondendo a 10 amostras.

Pelos dados apresentados observou-se neste trabalho que a menor contagem de células somáticas aferida foi 56.100 cels/mL, valor este 36,30% e 24,70 % superiores aos valores mínimos encontrados por SENIK, BARBANO & SHIPE (1985), e por MA *et al* (2000), respectivamente 41.000 cel/mL e 45.000 cel/mL.

Por outro lado, BRITO (1998) registrou média da CCS superior 1.000.000 de cels/mL em um rebanho infectado por *Streptococcus agalactiae*, PHILPOT (1998 a) obteve média superior a 620.000 cels/mL em rebanhos Colombianos e MA *et al* (2000) verificaram que amostras de leite oriundas de quartos com infecção apresentaram 849.000 células por mililitro, os quais consideraram elevadas tais contagens de células somáticas. A média das CCS obtidas das 173 amostras de leite foi de 1.077.341,00 cels/mL, totalizando 24,28% (42 amostras) acima da média, além de tal índice estar 7,70%, 173,77% e 26,90% respectivamente mais elevados do que aqueles citados por BRITO (1998), PHILPOT (1998 a) e por MA *et al* (2000), porém, os mesmos, não foram

tão discrepantes quando comparados àqueles apresentados por SENIK, BARBANO & SHIPE (1985).

Ressalta-se no presente trabalho que a maior CCS encontrada foi 8.344.700 cels/mL correspondendo a 208,62% mais elevado que o valor de 4.000.000 cel/mL registrado por PHILPOT (1998 a) na Colômbia, valor já considerado elevadíssimo e 1.000% acima dos padrões estabelecidos pelo International Dairy Federation (IDF).

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram concluir que:

- a) Das seis regiões estudadas, todas apresentaram a média das contagens de células somáticas acima do padrão estabelecido pelo Codex , qual seja, 400.000 cel/mL de leite;
- b) A região 6 foi a que apresentou índice mais próximo do valor estabelecido como padrão;
- c) Os valores médios obtidos permitem estimar que a qualidade sanitária do leite da bacia leiteira do Vale do Rio Paraíba está aquém daquele exigido; e

A título de sugestão, recomendamos que medidas higiênicas efetivas necessitam ser adotadas pelas autoridades sanitárias, visando à melhora da qualidade do leite destinado ao consumo público.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AARESTRUP, F., M; JENSEN, N., E.; OSTERGARD, H. Physiology and management: Analysis of association between major histocompatibility complex (BoLA) class I haplotypes and subclinical mastitis of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, n. 8, p. 1684-1692, 1995.
2. ALENICHKINA, G, E.; SE VAST', Y., V., M.; BELOV, A., D. The cytomorphology of milk and some metabolites in cows with mastitis. **Vosprosy-Veterinari-Biologii**, p. 335, 1993.
3. ANDERSON, M.; ANDREWS, A., T. Progressive changes in individual milk protein concentrations associated with high somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, V. 44, p. 0223-0235, 1977.
4. BARBANO, D., M. Overview – influence of mastitis on cheese yield. Cheese yield and factors affecting its control. In: INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION SPECIAL ISSUE. Abstract. 1994.
5. BERNARDI, M., L.; FERNANDES, J., C., T. Estimativa de perdas de leite relacionadas com alteração do conteúdo celular. **Arquivos da Faculdade de Veterinária**, UFRGS, Porto Alegre, v. 13, p. 005-009. 1985.
6. BLOOD, D., C.; RADOSTITS, O., M.; ARUNDEL, J., H.; GAY, C., C. **Clínica Veterinária**, 7ª. Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1991.
7. BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Aprovado pelo Decreto nº 30.691, de 29 de Marco de 1952. Alterado pelo Decreto nº 2.244, de 04 de Junho de 1997. Alteração do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal.
8. BRITO, J., R., F. Experiencias brasileiras em analises centralizadas de qualidade do leite: o caso da Embrapa Gado de Leite. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p. 071-077.
9. BURCHARD, J., F.; BLOCK, E. Nutrição do gado leiteiro e composição do leite. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p.016-019.
10. CAMERON, A., R.; ANDERSON, G., A. Relationship between milk production and somatic cell count in dairy cows in East Gippsland. **Australian Veterinary Journal**, v. 70, n. 1, p. 0013-0017, 1993.

11. CASSEL, B., G. Using somatic cell score evaluations for management decisions. **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2130-2136, 1994.
12. COSTA, E., O. Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**. São Paulo, fascículo 1, v. 1, p. 003-009, 1998.
13. DALEY, M., J.; OLDHAM, E., R.; WILLIAMS, T., J.; COYLE, P., A. Quantitative and qualitative properties of host polymorphonuclear cells during Experimentally induced *Staphylococcus aureus mastitis* in cows. **American Journal Veterinary Research**, v. 52, n. 3, p. 0474-0479, 1991.
14. DEKKERS, J., C.; VAN ERP, T.; SCHUKKEN, Y., H. Economic benefits of reducing somatic cell count under the milk quality program of Ontario. **Journal of Dairy Science**, v. 79, p. 0396-0401, 1996.
15. DELUYKER, H., A.; GAY, J., M.; WEAVER, L., D. Interrelationships of somatic cell count, mastitis and milk yield in a low somatic cell count herd. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 3445-3452, 1993.
16. EMANUELSON, U.; FUNKE, H. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 2479-2483, 1991.
17. FANDREJEWSKA, M. Somatic cell count in quarter foremilk of cows from small herd with a high level of subclinical mastitis. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v. 2, n. 1-2, p. 0015-0026, 1993.
18. GUTHY, K. A influência da técnica e do trabalho de ordenha sobre a saúde do úbere e o conteúdo de células somáticas do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**. Tradução do Dr. Alan Wolfschoon-Pombo. Revisão técnica do Prof Hobbes Albuquerque. v. 37, n. 223, p. 0037-0043, 1982.
19. HAENLEIN, G., F., W.; SCHULTZ, L. H.; ZIKAIUS, J., P. Composition of proteins in milk with varying leucocyte contents. In: SYMPOSIUM: MASTITIS AND GENETIC EVALUATION FOR SOMATIC CELL COUNT. **Journal of Dairy Science**, v. 56, n. 8, p. 1017-1024, 1972.
20. HARMON, R., J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 7, p. 2103-2112, 1994.
21. _____. Aspectos econômicos da mastite bovina. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p.036-039.
22. _____. Fatores que afetam as contagens de células somáticas. In: _____. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p.007-015.

23. HASSAN, G., A., BADRAN, A., E.; SHARABY, M., A. Susceptibility of cows and buffaloes to mastitis infection: I. Milk cells and mastitis detection tests. **Indian Veterinary Journal**, v. 61, p. 0480-0485, 1984.
24. HOCEVAR, J. Somatic cell count as a tool for detecting subclinical mastitis in cows kept in stables. In: PRVI SLOVENSK VETERINARSK KONGRES. Zbornik Portoroz, p. 18-20, November 1993.
25. HORVÁTH, G.; MOHAMED, A., I., H.; VARGA, J.; SZEMERÉDI, G.; QUARINI, L. Effect of subclinical mastitis on milk composition. **Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae**, Tomus 29, n. 3, p. 0271-0276, 1981.
26. KHERLI, M., E.; SHUSTER, D., E. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 2, p. 0619-0627, 1994.
27. KITCHEN, B., J. Review of progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v. 48, p. 0167-0188, 1981.
28. LARANJA, L., F. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p. 054-056.
29. LARANJA, L., F.; AMARO, F. Contagem de células somáticas: conceitos e estratégias de controle. **REVISTA BALDE BRANCO**. Outubro, p. 028-032, 1998
30. LEHMANN, G., WILHEM, G. High cell count – diseased udders. **Neue-Landwirtschaft**, v. 11, n. 66, 1992.
31. MA, Y.; BARBANO, D., M.; GALTON, D., M.; RUDAN, M., A.; BOOR, K., J. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 0264-0274, 2000.
32. MILLER, R., H.; PAAPE, M., J.; FILEP., R.; LINK, S. Flow cytometric analysis of neutrophils in cows' milk. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 12, 1993.
33. MONARDES, H. Programa de pagamento de leite por qualidade em Quebec, Canadá. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p. 040-043.
34. MURPHY, S., C., CRANKER, G., F. BARBANO, D., M., SAEMAN, A., I, GALTON, D., M. Influence of bovine mastitis on lipolysis and proteolysis in milk. **Journal of Dairy Science**, v. 72, n. 3, p. 0620-0626, 1989.

35. NADER FILHO, A. Variação do número de leucócitos polimorfonucleares em amostras de leite de vacas mastíticas recém-tratadas. **Ciência Veterinária**, v. 2, n. 1. Jaboticabal, p. 004, 1988.
36. NYANTWAZA, M.; SCHUTZ, M.; STAHLHUT, K., H.; ZIEMANN, R.. effect of somatic cell count and of some minor milk constituents on rennet coagulation of milk with subclinical disease. **Deutsche-Milchwirtschaft**, v.45, n. 4, p. 0203-0205, 1994.
37. OLDHAM, E., R.; DALEY, D., A.; D'ANGELO, S.R.; WILLIAMS, T.J. Quantitative and qualitative properties of bovine polymorphonuclear neutrophils during *Staphylococcus aureus* infection. **Journal of Dairy Science**, v. 72, suppl. 1, p. 0010-0011, 1989.
38. OSTRENSKY, A.; RIBAS, N., P.;ALMEIDA, R; MONARDES, H., G.; HORST, J. A. Efeitos de ambiente sobre a contagem de células somáticas (CCS) e sobre o escore da CCS no leite de vacas da raça holandesa no Paraná. XIV CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, **III CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DO CONE SUL E VII EXPOSIÇÃO DE PRODUTOS E SERVIÇOS EM MEDICINA VETERINÁRIA**. Gramado. Resumo. Gramado, RS, Outubro de 1999, p. 182.
39. PHILPOT, W., N. Programas de qualidade do leite no mundo. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p. 001-006.
40. _____. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam a qualidade do leite. In: _____. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p. 028-035.
41. RIBAS, N., P. A mastite e a contagem de células somáticas. **REVISTA BATAVO**, Encarte, nº 60, p. 004-006, 1996.
42. _____. Importância da contagem de células somáticas para a saúde da glândula mamária e qualidade do leite. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE. Curitiba. Anais. Curitiba: UFPR 1998. p. 028-035.
43. SAMARZIJA, D.; LUKAC, J.; ANTUNAC, N. Somatic cell count and milk quality. **Mljekarstvo**, v. 41, n. 8, p. 0221-0224, 1991.
44. SCHULTZ, L., H. Somatic cells in milk-physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. **Journal of Food Protection**, v. 40, n. 2, p. 01250131, 1977.
45. SENYK, G., F.; BARBANO, D., M.; SI-HPE, W., F. Proteolysis in milk associated with increasing somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 68, n. 9, p. 2189-2194, 1985.

46. SCHEPERS, A., J.; LAM, T., J.; SHUKKEN, Y., H.; WILMINK, J., B.; HANEKAMP, W., J. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. (8), p. 1833-1840, 1997.
47. SOBAR, B., KAVCIC, S., KASTELIC, D., MIKLIC, M. The relationship between milk yield, milkability and mastitis. **Mljekarstvo**, v. 44, n. 2, p. 0141-0146, 1994.
48. TAVOLARO, P.; LARANJA, L., F., F.; PANETTA, J., C.; SOUSA, C., L., Q.; VARGAS, O., L.; RODRIGUES, P., H., M. Avaliando da importância da contagem de células somáticas sobre o rendimento industrial do leite para a fabricação de queijos. In: XLV CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS. Juiz de Fora. Anais. Juiz de Fora. CEPE – ILCT – EPAMIG, Juiz de Fora, Minas Gerais, p. 0153-0159, 1997.
49. VIANNI, M., C., E.. **Influência de agentes etiológicos da mastite subclínica bovina sobre as características físico-químicas do leite**. 1986. 111 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Itaguaí: Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.
50. WHEELLOCK, J., V.; ROOK, J., A, F.; NEAVE, F., K; DODD, F., H. The effect of bacterial infections of the udder on the yield and composition of cow's milk. **Journal of Dairy Research**, v. 33, p. 0199-0214, 1966.
51. WILSON, D., J.; GONZALES, R., N.; DAS, H., H. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of Dairy Research**, v. 80, p. 2592-2598, 1997.