

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY
RIBEIRO**

THIAGO FARIAS DA SILVA

**QUALIDADE DO LEITE DE UM REBANHO GIR DO ESTADO DO
ESPÍRITO SANTO**

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2011

THIAGO FARIAS DA SILVA

**QUALIDADE DO LEITE DE UM REBANHO GIR DO ESTADO DO
ESPÍRITO SANTO**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.”

Orientador: Prof. Márcio Manhães Folly

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2011

THIAGO FARIAS DA SILVA

**QUALIDADE DO LEITE DE UM REBANHO GIR DO ESTADO DO
ESPÍRITO SANTO**

“Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.”

Aprovada em 09 de maio de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof. José Renato Junqueira Borges (D.Sc. em Med.Veterinária) - UnB

Prof^a. Célia Raquel Quirino (D.Sc. em Melhoramento genético) – UENF

Prof^a. Aparecida de Fátima Madella de Oliveira (D.Sc. em Ciência Animal) - IFES

Prof. Márcio Manhães Folly (D.Sc. em Medicina Veterinária) - UENF
(Orientador)

Aos meus filhos,

Bruno e Bernardo

À minha esposa

Priscila Camargo

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Ao Professor e Orientador Márcio Folly pelos anos de convivência, aprendizado e amizade sincera.

À Professora Célia Raquel Quirino pela prestimosa orientação estatística e incentivo desde a matrícula do curso de mestrado (quando era Coordenadora da Pós) até os dias de hoje.

À CAPES pela apoio financeiro durante o início do doutorado.

Ao Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo pela disponibilidade, incentivo a pesquisa e apoio de toda a Diretoria do Órgão.

À equipe executiva dos Laboratórios do IDAF.

Aos amigos da Pós e do Laboratório de Sanidade Animal.

Aos técnicos e professores do LSA.

Aos funcionários da fazenda e demais agentes envolvidos na coleta.

Ao Professor e amigo Maurício Mancini .

Aos meus familiares pelo apoio durante toda a minha vida.

A Deus e a Jesus que sempre nos amparam.

Muito obrigado!

“Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta.”

(Francisco Cândido Xavier)

RESUMO

Avaliou-se o efeito do mês de lactação de vacas sobre a produção de leite, contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), gordura e proteína e verificou-se as correlações entre as características. Utilizaram-se 192 registros de amostras de leite cru coletadas de 16 vacas da raça Gir leiteiro criadas em uma fazenda localizada no município de Serra – ES pelo período de um ano. O rebanho apresentou uma produção média de leite durante o ano em estudo de 9,67 kg/vaca/dia $\pm 4,35$ sendo janeiro o mês de maior produção e dezembro o de menor produção. Para os principais constituintes do leite, os valores médios de composição durante o ano foram de gordura 4,28% $\pm 0,67$ e proteína 3,49% $\pm 0,31$. Os coeficientes de variação foram de 15% e 7,9%, respectivamente. Para CCS e CBT observou-se aumento progressivo durante os doze meses e as médias encontradas foram de 361×10^3 células/mL e 195×10^3 UFC/mL. A produção de leite apresentou correlações significativas e negativas com CCS e CBT (-0,39; -0,23). Correlações significativas positivas de teores de gordura com a proteína (0,30), de CCS com a CBT (0,66) e de teores de proteína com a CCS e CBT (0,18; 0,30). O coeficiente de regressão linear da produção de leite nos diferentes meses de lactação de CCS foram negativos (-0,522 ; -0,033) e foi positivo para ordem de lactação (1,702). Os resultados demonstram a importância da determinação dos valores de composição CCS e CBT como parâmetros de avaliação da qualidade do leite em vacas da raça Gir leiteiro.

Palavras-chave: células somáticas, contagem bacteriana total, Gir, mastite

ABSTRACT

This study evaluated the effect of months of lactation from Gyr breed on milk yield, somatic cell count (SCC), total bacterial count (TBC), fat and protein to verify the correlations between traits. Were used 192 observations of the variables in a study of raw milk samples collected from 16 cows from Gyr breed raised on a farm in the city of Serra - ES for one year. The herd had an average milk production during year of study $9.67\text{kg}/\text{cow}/\text{day} \pm 4.35$. January is the month of December and the highest production of lower production. For the major components of the average values for milk composition during the year, grease were $4.28\% \pm 0.67$ and protein $3.49\% \pm 0.31$. The coefficients of variation were 15% and 7.9% respectively. SCC and TBC showed a gradual increase during the twelve months and averages were found to 361×10^3 cells/ml and 195×10^3 CFU/ml. The production of milk showed significant and negative correlations, with SCC and TBC (-0.39, -0.23). Positive significant correlations of intake of fat with protein (0.30), CCS with TBC (0.66) and protein contents and SCC and TBC (0.18, 0.30). The linear regression coefficients of milk production in the different months of lactation and SCC were negative (-0.522 ; -0.033) and positive order of lactation (1.702). The results demonstrate the importance of determining the values of composition SCC and TBC as parameters for assessing quality of milk in dairy Gyr cattle.

Key Words: gyr, mastitis, somatic cell, total bacterial count

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<u>Figura 1.</u> Aquisição anual de leite e sua variação – Brasil 1997 a 2010	<u>15</u>
<u>Figura 2.</u> Vaca da raça Gir	<u>17</u>
<u>Figura 3.</u> Equipamento IBC 100	<u>30</u>
<u>Figura 4.</u> Equipamento Bentley 2300	<u>30</u>
<u>Figura 5.</u> Regressão linear da produção de leite com o mês de lactação.....	<u>46</u>
<u>Figura 6.</u> Regressão linear da produção de leite com a ordem de lactação	<u>46</u>
<u>Figura 7.</u> Regressão linear da produção de leite com a CCS	<u>47</u>

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Produção de Leite (kg/vaca/dia) e respectivos desvios padrão nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo 33
- Tabela 2.** Teores de gordura e proteína e respectivos desvios padrão, nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo 34
- Tabela 3.** Contagem de células somáticas e LogCCS, nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo 37
- Tabela 4.** Contagem Bacteriana Total e respectivos desvios padrão, nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo 39
- Tabela 5.** Médias, desvios padrão, valor máximo e valor mínimo de Produção de Leite (kg/vaca/dia) de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação 40
- Tabela 6.** Teor de gordura, de proteína e respectivos desvios padrão de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação 41
- Tabela 7.** Contagem de Células Somáticas, LogCCS e respectivos desvios padrão de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação 42
- Tabela 8.** Contagem Bacteriana Total e desvio padrão de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação 43
- Tabela 9.** Correlações entre as variáveis: Produção de Leite (PL), gordura, proteína, Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total (CBT) 44

ABREVIATURAS E SIGLAS

Ca	Cálcio
CBT	Contagem Bacteriana Total
CCS	Contagem de Células Somáticas
CCTA	Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias
CV	Coeficiente de Variação
cel/mL	Células por mililitro
CMT	California Mastitis Test
FIR	far infra-red
g	gramas
IIM	Infecção Intramamária
IN51	Instrução Normativa 51
Kg	quilogramas
LSA	Laboratório de Sanidade Animal
MIR	mid infra-red
mL	Mililitros
OL	ordem de lactação
P	Fósforo
UENF	Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
°C	Graus Celsius
%	Porcento
\$ USD	Dólar americano
µm	microgramas
±	mais ou menos

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Panorama mundial do leite	14
2.2 A raça Gir	15
2.3 Composição do leite bovino	17
2.4 Características higiênicas.....	19
2.5 Mastites bovinas.....	19
2.5.1 Estágio de lactação	21
2.5.2 Conformação do teto e idade	22
2.5.3 Microrganismos envolvidos	22
2.6 Células somáticas no leite.....	23
2.6.1 Fatores que afetam a CCS.....	25
2.6.2 Efeitos da CCS na produção de leite e composição	25
2.7 Contagem bacteriana total	26
2.8 Legislação brasileira.....	27
2.9 Métodos analíticos atuais	28
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1 Seleção do rebanho	31
3.2 Coleta de amostra	31
3.3 Coleta para análise de CCS e composição	32
3.4 Coleta para análise de CBT	32
3.5 Análise estatística	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

1. INTRODUÇÃO

O interesse pela qualidade nutricional diferenciada do leite e de seus derivados tem aumentado nestes últimos anos, principalmente devido às indústrias de laticínios participarem cada vez mais do mercado internacional. Além de oferecer vantagens diretas para o produtor, a valorização da qualidade é acompanhada do pagamento diferenciado por leite de melhor qualidade, tanto para seus constituintes, tais como a gordura e a proteína, quanto para a redução na contagem de células somáticas e na contagem bacteriana total.

É de fundamental importância a realização de procedimentos higiênicos de produção, o controle sanitário, o correto manejo de ordenha e a desinfecção adequada de equipamentos e utensílios de refrigeração, visando à obtenção de leite com composição normal e com menor risco de transmissão de doenças para o homem. No caso específico do leite, um dos aspectos que desperta preocupação entre os diversos setores do país é a baixa qualidade microbiológica da matéria-prima. O leite, sob condições microbiológicas insatisfatórias, constitui prejuízos para o produtor, a indústria e o consumidor. Para a indústria, esses prejuízos são representados, principalmente, pelo menor rendimento e pela oferta de derivados de baixa qualidade e vida útil. Para o consumidor, destacam-se a aquisição de produtos de baixa qualidade e durabilidade, assim como a ocorrência de infecções e intoxicações associadas ao consumo do leite.

As vacas da raça Gir têm sido utilizadas no Brasil principalmente em cruzamento com gado leiteiro de origem européia, sendo necessário entender as respostas produtivas destes animais a diferentes variações de CCS e CBT. Apesar dos inúmeros estudos internacionais que quantificam a composição do leite e sua produção, trabalhos dessa natureza, especificamente da raça Gir, ainda são escassos na literatura. Isso é um indicativo de que as estimativas acerca das perdas de produção de leite ocasionadas pela mastite no Brasil estão pouco estudadas. Normalmente, essas estimativas são baseadas em dados do exterior e provêm de rebanhos em condições distintas das brasileiras. Logo, existe a necessidade da realização de trabalhos relacionados a essa temática para se dar a devida

importância ao problema, considerando as condições em que os nossos rebanhos são explorados.

Dessa forma, objetivou-se no presente trabalho verificar os efeitos do mês de lactação e da ordem de lactação sobre as características de composição (gordura e proteína) e produção do leite. Foram objetivos específicos avaliar os referidos efeitos sobre a qualidade do leite produzido (CCS e CBT) e as suas respectivas correlações.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Panorama mundial do Leite

As perspectivas do mercado internacional para o Brasil são positivas, pois nos países desenvolvidos a produção de leite está estabilizada ou em declínio, enquanto, no Brasil, tanto a produção como a produtividade têm melhorado a cada ano (EMPRESA..., 2006). Apesar de continentes como Oceania, América (parte Norte) e Europa terem um papel maior na produção e comercialização de lácteos, a América do Sul possui países que se destacam no cenário mundial, além de boas perspectivas para aumento da comercialização de lácteos. No ano de 2008 os países da América do Sul produziram cerca de 59,1 milhões de toneladas de leite de vaca, o que corresponde a aproximadamente 10,2% do total mundial (FAO, 2009). Alguns países deste continente possuem uma produção pouco expressiva se comparada aos grandes produtores. Por outro lado, países como Brasil e Argentina se destacam, ocupando a 6ª e 17ª posição, respectivamente, no ranking mundial de produtores de leite em 2008. Somando a participação da produção de Argentina, Brasil, Chile, Colômbia, Equador, Peru, Uruguai e Venezuela, tem-se aproximadamente 98,8% da produção total do continente, ao passo que somente Brasil e Argentina respondem por 64,7% (FAO, 2009). Analisando os dados referentes à produção e produtividade destes países entre 2000 e 2008, nota-se que houve mudanças expressivas (PINHA, 2010).

A aquisição de leite para consumo interno no Brasil teve aumento de 7,0% no comparativo de 2010 com 2009. Verificou-se que, desde 1997, quando a Pesquisa Trimestral do Leite foi implantada, a aquisição anual de leite pelas indústrias foi crescente, apresentando, variação anual positiva em todos os anos de sua série histórica (Figura 1). A importância da produção de leite brasileira se justifica pelo volume produzido que, segundo o IBGE (2010), é de 20,967 bilhões de litros entregues a estabelecimentos submetidos à inspeção federal, estadual ou municipal, no ano de 2010, o que torna esta atividade essencial para o desenvolvimento nacional e fundamental para a segurança alimentar do país. Outro

aspecto relevante, segundo BERNARDES et al. (1999), é que a alta regularidade do emprego e a elevada relação trabalho/capital também qualificam a pecuária leiteira como atividade estratégica para qualquer política social de promoção de empregos e manutenção do homem no campo.

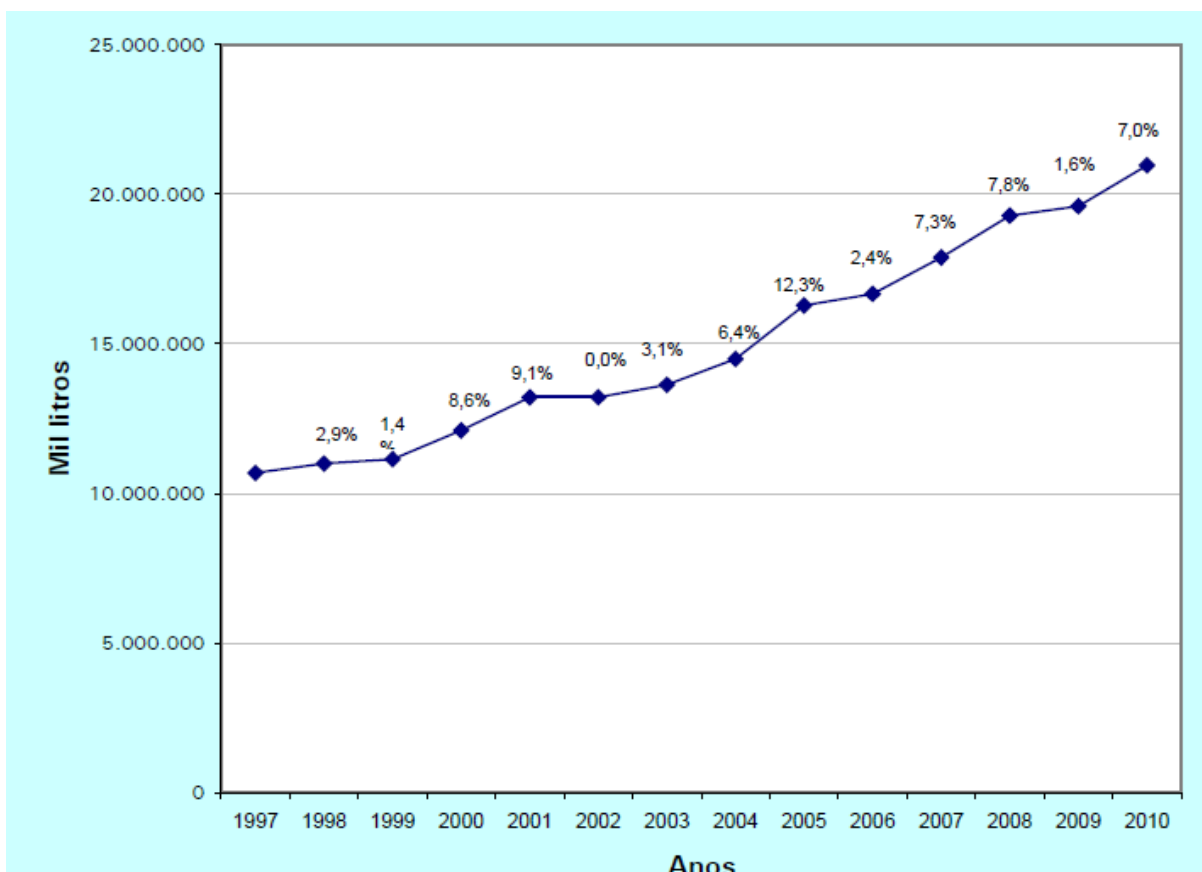


Figura 1. Aquisição anual de leite e sua variação – Brasil 1997 a 2010.
Fonte: IBGE, 2010

2.2 A Raça Gir

Originária da região de montanhas e florestas do Kathiawar, no distrito de Gujarat, Índia, a raça Gir (*Bos indicus*) foi introduzida oficialmente no Brasil mediante importações ocorridas entre 1906 e 1962. Uma vez em território nacional, sua ampla aceitação por criadores, graças à sua rusticidade e adaptabilidade aos mais diversos sistemas de produção, fez com que se espalhasse por todo o país. Inicialmente selecionada para produção de carne, a raça Gir atravessou um momento de auge,

quando foi a raça zebuína mais numerosa no país, e outro de decadência, quando plantéis inteiros de animais foram destinados ao abate. Contudo, foi na seleção para produção de leite, aptidão natural da raça na Índia, que esta “ressurgiu” para se tornar um dos pilares da pecuária leiteira nacional (Figura 2). Atualmente, a raça Gir encontra-se distribuída em quase todas as regiões do país, presente em mais de 80% dos rebanhos leiteiros, constituídos de animais puros e cruzados e é utilizada principalmente por causa de sua rusticidade, adaptabilidade e resistência a endo e ectoparasitas, especialmente em sistemas de pastejo e por ser a mais apta, entre as raças zebuínas, para produção de leite. A participação da raça no mercado de sêmen tem crescido nos últimos anos, sendo líder no comércio de sêmen de origem nacional para o segmento leiteiro. Observa-se, também, crescimento do interesse do mercado internacional para aquisição de material genético da raça, por meio de sêmen, embriões e animais (REIS FILHO, 2006). Até o ano de 2009 já foram testados 186 touros, sendo a primeira raça leiteira brasileira e zebu do mundo com Touros Provados pela Progênie (TPP), avaliando a produção de leite, gordura, proteína, sólidos, células somáticas e as características de conformação e manejo para o cálculo da Capacidade Prevista de Transmissão (PTA). Existem mais 130 touros em processo de avaliação, com resultados a serem liberados entre 2010 e 2015. A produção média do Gir Leiteiro (3.254 kg/305 dias) corresponde a mais de três vezes a média nacional (960 kg), e o mais importante: é leite obtido em gado adaptado às nossas condições climáticas e de manejo. A duração de lactação é de 307 dias (média diária = 12 kg de leite)(ABCGIL, 2011).



Figura 2. Vaca da raça Gir.
Fonte: Arquivo pessoal

2.3 Composição do leite bovino

O leite normalmente é composto por água (87,3%), suspensão coloidal de proteínas (3,4%) ligadas a Ca e P; emulsão de glóbulos de gordura (3,5%), lactose (4,8%), sais minerais (0,8%) e vitaminas. É um alimento altamente perecível, tendo suas características físicas, químicas e biológicas originais facilmente alteradas por uma série de fatores, que podem ocorrer desde a fase de produção primária até a manipulação no processamento industrial (DUUR, 2004).

A característica química e microbiológica do leite é de grande importância para a saúde pública, para o processamento tecnológico e para a qualidade dos produtos lácteos. No entanto, a composição do leite pode ser muito variável e depende de inúmeros fatores, tais como: raça, idade, saúde da glândula mamária, período de lactação, nutrição da vaca, época do ano e tipo de ordenha (DOBRANIC et al., 2008).

A gordura do leite é composta principalmente por triglicerídeos, sendo que 50% dela são sintetizadas nos ácinos da glândula mamária. Essa gordura é formada a partir de ácidos graxos de cadeia curta, aceto e beta hidroxibutirato, produzidos durante a fermentação de carboidratos no rúmen. Os outros 50% são sintetizados a partir de ácidos graxos de cadeia longa obtidos diretamente da dieta e sofrem alterações no trato digestivo ou mobilizados da gordura corporal. A gordura é um dos constituintes do leite que mais sofrem influência de fase de lactação, nutrição, raça, estação do ano e saúde do animal (FONSECA, 2000; SANTOS, 2000).

A proteína total do leite é formada por proteínas sintetizadas na glândula mamária e por proteínas provenientes do sangue. Aproximadamente 90% da proteína total do leite são compostos por caseína e proteínas do soro lácteo, α lactoalbumina e β lactoglobulina, que são sintetizadas nas células alveolares, a partir de aminoácidos essenciais do sangue e aminoácidos não essenciais produzidos pela própria célula secretora. Os outros 10% de proteína total, albumina e globulinas não são sintetizados na glândula mamária e são transportados para o leite via sangue até entrarem no lúmen alveolar (FONSECA e SANTOS, 2000).

A composição do leite varia também dentro da própria espécie, de acordo com a raça, em que as diferenças são especialmente para gordura e proteína. As diferenças podem ser observadas no Quadro 1 adaptado de JENSEN (1995).

Quadro 1. Composição do leite em diferentes raças bovinas.

Raça	Gordura %	Proteína %	Sólidos totais
Ayrshire	4,1	3,6	13,1
Pardo suíço	4,0	3,6	13,3
Guernsey	5,0	3,8	14,4
Holandesa	3,5	3,1	12,2
Jersey	5,5	3,9	15,0
Zebu	4,9	3,9	14,7

2.4 Características higiênicas

Segundo FEHLHABER e JANESTSCHKE (1995), a contaminação microbiana do leite pode ocorrer por duas vias principais: através da incorporação de microrganismos que estão presentes no úbere, diretamente para o leite; ou através do contato do leite com utensílios e equipamentos contaminados durante as operações de ordenha ou da coleta e armazenamento. Como excelente meio de crescimento para muitos microrganismos devido ao seu alto conteúdo de água, pH próximo ao neutro e grande variedade de nutrientes, a contaminação do leite cru pode ocorrer a partir uma variedade de microrganismos e fontes. A quantidade e o tipo de microrganismos presentes no leite cru refletem a saúde da vaca, mas também as condições higiênicas em que o leite foi manuseado desde a ordenha até o armazenamento.

De maneira geral, a qualidade do leite pode ser avaliada através de uma série de propriedades que afetam, direta ou indiretamente, a adequação ao processamento industrial, a segurança e a demanda do produto. Um leite de boa qualidade deve apresentar as seguintes características: sabor agradável, alto valor nutritivo, ausência de agentes patogênicos e contaminantes (antibióticos, pesticidas e adição de água), reduzida contagem de células somáticas e baixa carga microbiana (FONSECA e SANTOS, 2000).

2.5 Mastites bovinas

Mastite é a inflamação da glândula mamária primariamente devido à infecção por microrganismos (embora estes possam não estar presentes na ocasião do exame), caracterizada pelo aumento de leucócitos no leite proveniente da glândula afetada e é considerada a doença de maior custo em propriedades de gado leiteiro, principalmente pela redução da produção e descarte do leite e animais, custo com veterinários, medicamentos, custo de reposição de animais e aumento de trabalho na propriedade. Esta doença continua sendo o principal problema para a indústria

de laticínios, apesar de pesquisas na área e esforços para o seu controle (SEARS et al., 1993; SORDILLO et al., 1997).

A enfermidade reduz a produção e qualidade do leite com imensas perdas econômicas, estimadas em \$200 USD por vaca/ano nos Estados Unidos (SMITH e HOGAN, 2001). Em relação aos animais, três em cada dez vacas leiteiras apresentam inflamação clinicamente aparente da glândula mamária. Entre os animais afetados, 7% são descartados e 1% morre em consequência dessa doença. Mais de 25% de todas as perdas econômicas relacionadas às doenças podem ser diretamente atribuídas à mastite (CULLOR et al., 1993).

Nas Infecções Intramamárias (IIMs), a extensão da resposta inflamatória varia de acordo com a natureza do estímulo e a capacidade de reação do animal. Reações brandas, sem alterações macroscópicas detectáveis, porém com alterações químicas e microbiológicas do leite, evidenciam a mastite subclínica, detectada por testes específicos como o “California Mastitis Test” (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS). A mastite clínica resulta em respostas inflamatórias mais severas com mudanças no aspecto da secreção láctea, incluindo as alterações verificadas na forma subclínica. Contudo, há visíveis mudanças no tecido mamário, e alguns efeitos sistêmicos, como hipertermia, prostração e tremores musculares, conforme menciona HILLERTON (1996).

A mastite continua sendo a enfermidade mais cara para a indústria leiteira mundial, segundo resultados de uma intensiva investigação em rebanhos leiteiros durante as últimas décadas, quando os tratamentos com antibióticos administrados a todas as vacas no momento da secagem e todas as mastites clínicas observadas têm tido resultados modestamente satisfatórios contra microrganismos contagiosos (*Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*). Porém, a rotina de tratamento de todas as vacas tem sido criticada, recomendando-se uma terapia seletiva (com identificação de bactérias), reduzindo-se, assim, os custos de tratamento e a eliminação indiscriminada de patógenos menores, que estariam tornando as vacas mais susceptíveis a patógenos ambientais, como coliformes, geralmente resistentes a todos os antimicrobianos (ERSKINE, 2000).

No Brasil, estima-se que, em função da alta prevalência de mastite nos rebanhos, possa ocorrer perda de produção de leite entre 12 e 15%, o que significa um total de 2,8 bilhões de litros/ano em relação à produção anual de 20 bilhões de

litros (FONSECA e SANTOS, 2000). Nos levantamentos feitos em rebanhos leiteiros de São Paulo e Minas Gerais, 72% das vacas apresentaram mastite subclínica em pelo menos um quarto e a taxa de quartos afetados foi de 46%. A porcentagem de animais com mastite clínica foi de 17,45% (COSTA et al., 1995). Considerando que a mastite subclínica reduz de 3 a 46% a produção de leite no quarto afetado, pode-se perceber que estes rebanhos estão perdendo, em média, cerca de 12% da produção de leite em decorrência da mastite.

2.5.1 Estágio de Lactação

As infecções intramamárias (IIMs) podem suceder-se em diferentes etapas da vida do animal. Parto, lactogênese e período seco constituem eventos reprodutivos que influenciam na susceptibilidade à mastite (ELBERS et al., 1998). Durante o período seco, a glândula mamária passa por uma involução ativa, principalmente nas duas semanas seguintes à secagem da vaca. De acordo com ANDERSON e CÔTÉ (2003), estudos demonstraram que 35% de todas as novas infecções ocorrem durante esse período. PHILPOT e NICKERSON (2002) mencionaram que nessa fase a glândula continua a secretar leite com o máximo acúmulo ocorrendo dois a três dias depois de suspensa a remoção do leite; a pressão originada na glândula promove dilatação do canal do teto, predispondo à entrada de microrganismos para o interior do órgão. As bactérias não são mais removidas pela ordenha, o processo de fagocitose não é eficiente em remover os materiais estranhos e a desinfecção do teto já não é realizada, fatores que favorecem a instalação de IIMs. Conforme ANDERSON e CÔTÉ (2003), nesse período há outra fase crítica, que corresponde as duas últimas semanas que antecedem ao parto, quando ocorre a colostrogênese, processo que acomete alguns mecanismos de defesa; no início da lactação também há susceptibilidade devido ao estresse sofrido no parto (glicocorticóides contribuem para menor resposta das células de defesa). Do ponto de vista microbiológico, BRADLEY e GREEN (2000) mencionaram que enterobactérias, causadoras de infecções durante o período seco, têm habilidade em se manterem quiescentes na glândula mamária até o parto, subsequentemente,

causando mastite clínica durante a fase inicial da lactação. Na lactação e no processo de ordenha em si há maior susceptibilidade de difusão de mastite contagiosa, já no período seco e intervalos entre ordenhas a susceptibilidade recai sobre mastites ambientais.

2.5.2 Conformação do teto e idade

A conformação da glândula mamária e tetos constituem uma característica moderada a altamente herdável; tetos planos e cilíndricos são mais susceptíveis a infecção do que os tetos de formato cônico (mais resistentes). A seleção genética visando incremento na produção de leite foi acompanhada por aumento a susceptibilidade às IIMs (PHILPOT e NICKERSON, 2002). NICKERSON (2001), em investigações sobre mastite em novilhas, verificou uma maior prevalência das IIMs em animais da raça Jersey (67,7%), quando comparado à raça Holandesa (35%). Quanto à idade dos animais, LADEIRA (1998) cita que fêmeas mais velhas (sete a nove anos) são mais susceptíveis às IIMs devido a lesões internas e desgaste sofrido pelo esfíncter do teto e pela glândula em si. JONES e BAILEY Jr (1998) comentaram que a transmissão entre animais pode ocorrer ainda na puberdade, por meio de amamentação cruzada. WAAGE et al. (2001) mencionaram que, em novilhas, a presença antes do parto de edema de úbere, edema de teto, sangue no leite ou vazamento de leite pelos tetos, está associada com aumento do risco de ocorrência de mastite clínica pós-parto.

2.5.3 Microrganismos envolvidos

A etiologia das mastites pode ser tóxica, traumática, alérgica, metabólica ou infecciosa. Vários microrganismos tais como bactérias, fungos, algas e vírus podem causar infecções intramamárias, sendo as bactérias e produtos bacterianos os mais comuns fatores causadores das enfermidades do úbere (WATTS, 1988; COSTA et al., 1995).

As espécies bacterianas mais frequentemente isoladas causadores de mastite bovina são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* (HARMON, 1994).

Neste cenário, o *Staphylococcus aureus* destaca-se como o microrganismo causador de mastite contagiosa de maior importância, de maior ocorrência nos rebanhos mundiais, e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos. Coerentemente, o *S. aureus* é, também, o microrganismo patogênico mais frequentemente isolado no leite cru (ZECCONI e HAHN, 2000).

2.6 Células Somáticas no leite

Segundo BREER et al. (1976) e LANGONI (2000), a determinação da CCS (Contagem de Células Somáticas) através de microscopia ótica direta foi introduzida em 1910, por Prescott e Breed. Estes últimos sugeriram o uso do termo “células corporais”, pois pesquisas ao longo do tempo indicavam que as células do leite eram células epiteliais descamadas; entretanto, depois de 1960 o termo contagem de células “somáticas” (substituindo “corporais”) tornou-se comum (HARMON, 2001).

As células somáticas são, normalmente, células de defesa (leucócitos ou células brancas) do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária com o objetivo de combater agentes agressores, mas podem ser também células secretoras descamadas. Durante a inflamação, o maior aumento da CCS é devido ao fluxo de neutrófilos para a glândula (HARMON, 1994, 2001). A porcentagem dos diferentes tipos de células somáticas do leite, oriundos de glândulas sadias são: (1) macrófagos – 60%, (2) linfócitos – 25% e (3) neutrófilos – 15%. Aproximadamente 99% de todas as células do leite proveniente de um quarto infectado serão de glóbulos brancos do sangue, enquanto 1% remanescente será de células epiteliais secretoras que se originam dos tecidos mamários. Juntos, esses dois tipos de células formam a CCS do leite, que é geralmente expressa em “por mililitro” (PHILPOT & NICKERSON, 2002). A CCS é um indicador geral da saúde da glândula mamária amplamente utilizada como indicador de mastite subclínica, sendo aceita também como medida padrão para determinar a qualidade do leite

(HARMON, 2001). O uso de contagem de células somáticas é um método efetivo para avaliar rebanhos e monitorar os níveis da doença na propriedade (SEARS et al., 1993).

A CCS do tanque de expansão é utilizada como medida de qualidade. Isso se deve ao fato de que o aumento na CCS está associado com a redução da concentração de componentes do leite (caseína, principalmente), reduzindo seu rendimento industrial. Assim, muitos laticínios utilizam um sistema de bônus ou penalizações, para estimular a produção de leite com baixas contagens de células somáticas (EDMONDSON, 2002).

HARMON (2001) afirma que em animais saudáveis a CCS geralmente está abaixo de 200.000 células/mL, mas pode ser menor do que 100.000 células/mL em vacas primíparas. Assim, a elevação acima de 200.000 cels/mL é considerada anormal e indicativo de inflamação do úbere, sendo que esse valor chega a milhões de células/mL nos casos clínicos. SURİYASATHAPORN et al. (2000) especulam sobre a relação entre a CCS e o risco subsequente de mastite clínica.

De maneira complementar, os resultados da CCS de vacas individuais podem ser utilizados para avaliar a sanidade da glândula mamária através da identificação do número de animais com mastite subclínica (vacas com CCS acima de 200.000 células/mL de leite). Em rebanhos com monitoramento mensal individual de todos os animais, pode-se utilizar a CCS para verificar a eficácia do programa de controle de mastite adotado, assim como identificar animais infectados cronicamente que apresentam CCS altas por vários meses. Os dados da CCS obtidos de vacas individuais devem ser organizados de forma a possibilitar a identificação de variações sazonais e definir estratégias de controle para os períodos mais críticos do ano. A CCS é também bastante útil na identificação de algumas poucas vacas que individualmente contribuem significativamente na CCS total do tanque. Estas vacas identificadas com altas contagens de células podem assim ser selecionadas para cultura microbiológica do leite, secagem antecipada, descarte de vacas com mastite crônica e linha de ordenha (ordenha dos animais com CCS alta após a ordenha de todos os animais sadios). Essa medida pode auxiliar na diminuição do aparecimento de novas infecções, pois diminui o risco de transmissão da mastite contagiosa durante a ordenha (SANTOS, 2005b).

2.6.1 Fatores que afetam a contagem de células somáticas

O aumento das células somáticas é um fenômeno biológico dinâmico que está sujeito a variações significativas, uma vez que é travada uma batalha permanente entre as células somáticas e os microrganismos da mastite de um quarto infectado (PHILPOT e NICKERSON, 2002). O fator mais importante que afeta a CCS é o grau de infecção da glândula mamária, embora existam outros fatores menos importantes, como a variação diurna, o estresse, os estágios de lactação, a idade da vaca, o tamanho do rebanho, o nível de produção de leite e a presença de outras doenças (HARMON, 1994; LANGONI, 2000). As concentrações das células somáticas podem variar de dezenas de milhares para dezenas de milhões por mililitro, dependendo dos microrganismos envolvidos e do grau de inflamação existente (PHILPOT e NICKERSON, 2002).

SARGEANT et al (2001) destacaram que a CCS geralmente é elevada logo após o parto e diminui, gradativamente, nas primeiras duas semanas de lactação. Outro fator a ser considerado é a estação do ano, pois a CCS é, geralmente, menor durante o inverno e maior durante o verão, devido, provavelmente, às melhores condições ambientais para o crescimento bacteriano durante o verão (HARMON, 1998). O agente causal da mastite pode também influenciar na CCS, porém só será identificado com isolamento bacteriano (HARMON, 1994).

2.6.2 Efeitos da CCS na produção de leite e composição

Um considerável volume de pesquisas indica que a produção de leite diminui na medida em que a CCS aumenta (HORTET, 1999; FETROW, 2000; SCHALIBAUM, 2001; HAILE-MARIAM, 2001). Vacas de primeira lactação perdem 91Kg de leite por lactação e vacas mais velhas perdem 182Kg de leite por lactação cada vez que a CCS dobra a partir de 50.000 céls/mL (PHILPOT, 1998). Segundo COLDEBELLA (2003), as perdas de produção de leite associadas ao aumento da

CCS são absolutas, isto é, independem da produção de leite, e variam apenas com a ordem de lactação (vacas primíparas ou multíparas).

As alterações de composição do leite ocorrem em consequência da inflamação, que causa diminuição na capacidade de síntese da glândula mamária e aumento da permeabilidade vascular. O leite apresenta redução nos teores de cálcio, lactose, caseína e gordura, além de aumentar os níveis de íons sódio, cloro e de proteínas séricas (SHUSTER et al., 1991; OLIVEIRA et al., 1999).

2.7 Contagem Bacteriana Total

Em condições normais, o leite é estéril ao ser secretado nos alvéolos do úbere (INTERNATIONAL..., 1980). Contudo, ao ser ordenhado, o leite pode se contaminar por um pequeno e bem definido número de microrganismos, provenientes dos canais lactíferos, da cisterna da glândula e canal do teto (FONSECA E SANTOS, 2000). No caso de ordenha higiênica e de animais saudáveis, a contagem bacteriana é baixa, podendo variar de 500 a 1000 UFC/mL. Entretanto, em condições inadequadas da saúde da glândula mamária, do sistema de manejo e das condições de higiene adotadas na fazenda, este número pode se elevar até vários milhares (FONSECA E SANTOS, 2000; MURPHY E BOOR, 2000; EDMONDSON, 2002; HOLM et al., 2004). Segundo BUENO et al. (2004), pesquisas desenvolvidas no Brasil demonstram, de modo geral, que o leite vem sendo obtido em más condições higiênico-sanitárias, revelando altas contagens microbianas e constituindo-se em risco à saúde pública, principalmente quando consumido cru, sem o devido tratamento térmico. Tais estudos demonstraram que elevado número de amostras fora dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação (BRASIL, 2002) tem sido descrito (SOUZA et al., 1999; PICININ, 2003; BUENO et al., 2004; NERO et al., 2005).

2.8 Legislação brasileira

Considerando as evidências de que o leite produzido e consumido no Brasil nem sempre apresenta a qualidade desejada, o Ministério da Agricultura iniciou há cerca de 14 anos uma discussão nacional, envolvendo os setores científicos e econômicos do setor leiteiro. Essa discussão busca alternativas para melhorar a qualidade do leite produzido no país. Essa discussão resultou na Portaria nº166 (BRASIL, 1998), que estabeleceu um grupo de trabalho para analisar e propor um programa de medidas visando o aumento da competitividade e a modernização do setor leiteiro no Brasil. Esse grupo desenvolveu uma versão do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), projeto que já vinha sendo desenvolvido desde 1996, e o submeteu à consulta pública pela Portaria nº56 (BRASIL, 1999).

A versão definitiva das novas normas de produção leiteira foi publicada na Instrução Normativa nº 51 (IN51), de 18 de setembro de 2002, que determina novas normas na produção, identidade e qualidade de leites tipos A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, além de regulamentar a coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel (BRASIL, 2002). Outro incentivo à modernização da produção leiteira no Brasil ocorreu em 2003, pela Resolução nº 3088 (BRASIL, 2003), que aprovou financiamento de equipamentos de resfriamento e coleta a granel para produtores de leite. A principal razão de todas essas medidas foi a necessidade de adequação das normas publicadas no RIISPOA (BRASIL, 1997) às atuais realidades de produção e consumo de leite no Brasil.

Uma importante norma descrita na IN51 é a regulamentação de conservação, coleta e transporte de leite cru refrigerado, independente do tipo. Nas propriedades, o leite deverá ser refrigerado e atingir a temperatura de 4°C (tanques de expansão) ou 7°C (tanques de imersão), num período não superior a 3 horas após o término da ordenha. Também é prevista a permissão de tanques resfriadores comunitários, que visa atender pequenos produtores. O transporte deve ser feito sempre a granel. Caminhões-tanque coletam o leite refrigerado e o encaminham aos laticínios para o processamento. Na recepção dos laticínios, o leite desses tanques não deverá apresentar temperatura superior a 7°C (para leite B) ou 4°C (para leite C). Outro

importante objetivo a ser alcançado é a redução da contagem de células somáticas (CCS), em prazos similares aos estabelecidos para contagem de aeróbios mesófilos. A Instrução Normativa 51/2002 trouxe diversas vantagens e desafios para o setor leiteiro, entre os quais se destaca a necessidade de realização de análises de composição (teores de gordura, proteína e sólidos totais), de contagem de células somáticas e de contagem bacteriana total (CBT) das amostras de leite dos produtores em laboratórios credenciados pelo MAPA (SANTOS, 2005a). Para isso, o MAPA criou a Rede Brasileira de Laboratórios de Análise da Qualidade do Leite (RBQL), que é responsável pela análise de todo o leite cru produzido no país e composta atualmente por oito laboratórios centralizados. Esses laboratórios possuem equipamentos automatizados de última geração e de alto rendimento analítico. Todas essas normas representam um importante passo do PNMQL, que busca a melhoria da qualidade do leite cru produzido no Brasil, resultando num produto final beneficiado de melhor qualidade.

A Instrução Normativa nº 51 preconiza os limites legais de CCS para o leite cru, estipulando diferentes prazos para as diversas regiões do país. Atualmente o valor máximo permitido, nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, é de 750.000 células/mL e a partir de julho de 2011 será de 400.000 células/mL. Os valores máximos permitidos para a contagem bacteriana total, nas mesmas regiões, também passarão por alterações em julho de 2011: de 750.000 para 100.000 UFC/mL (para leite individual) e 300.000 UFC/mL (leite de conjunto) (BRASIL, 2002). Esses padrões visam compatibilizar a qualidade do leite e derivados produzidos no Brasil com os padrões estabelecidos mundialmente (CASSOLI, 2005; NERO et al., 2005).

2.9 Métodos Analíticos atuais

Os métodos analíticos rápidos para contagem bacteriana total (Figura 3) e de células somáticas (Figura 4) em leite utilizam o princípio da citometria de fluxo em equipamentos eletrônicos. A técnica consiste na adição de corante fluorescente ao leite, para que o DNA e o RNA das células sejam corados. Ao receber um feixe de laser, cada célula emite fluorescência, que é captada pelo sistema óptico e, com

isso, o número de células é determinado (SUHREN e WALTE, 2000; BARRIENTOS et al., 2000; CASSOLI et al., 2005).

Já a análise de componentes do leite é realizada por meio de equipamentos de infravermelho que possibilitam analisar um grande número de amostras em curto tempo. A região de infravermelho é a faixa que varia de 0,78 μm a 300 μm do espectro infravermelho. Essa faixa é dividida em três regiões, de acordo com o comprimento de onda ou o número de ondas de radiação: o NIR (near infra-red), que abrange a faixa de 0,7 μm a 2,5 μm , o MIR (mid infra-red), que compreende a região de 2,5 μm a 25 μm e o FIR (far infra-red) que varia de 25 μm a 100 μm (SILVEIRA, 2002 e TSENKOVA et al., 2001). O princípio fundamental de todos os analisadores de infravermelho baseia-se na capacidade de absorção de radiação infravermelha, em diferentes comprimentos de ondas, dos grupos químicos específicos de alguns componentes do leite como gordura, proteína e lactose (BIGGS, 1987). Os grupos carbonilas (C=O) das ligações éster dos triglicérides absorvem radiação no comprimento de onda de 5,76 μm , os grupos carbono-hidrogênio (C-H) em 3,5 μm , os grupos amida (CONH) das ligações peptídicas das proteínas em 6,46 μm e os grupos hidroxila (OH) da lactose em 9,53 μm (INTERNATIONAL..., 1996). Após o preparo das amostras, uma *rack* contendo as mesmas é colocada na esteira do equipamento, posicionando a pipeta sugadora dentro da primeira amostra (Figura 3). Cerca de 10 mL de leite são pipetados automaticamente e bombeados para um homogeneizador dentro do aparelho, onde os glóbulos de gordura são homogeneizados para glóbulos menores com tamanho similar. Em seguida, o leite é transportado até uma cubeta, na qual o feixe de luz infravermelho incide para determinação da quantidade de gordura, proteína e lactose por absorção de luz infravermelha em comprimentos de onda específicos. Os resultados obtidos de cada componente analisado, em g/100 g de leite, são automaticamente impressos (SILVEIRA, 2002; LEITE, 2006).



Figura 3. Equipamento IBC 100 (Arquivo pessoal, 2010)



Figura 4. Equipamento Bentley 2300 (Arquivo pessoal, 2010)

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em uma fazenda de criação comercial de animais da raça GIR leiteiro, situada no município de Serra, Estado do Espírito Santo, localizada na Latitude 20° 07' 43" W e Longitude 40° 18' 28" S.

3.1 Seleção do rebanho

Foi utilizada uma amostra de 16 vacas puras, em lactação, sendo 10 animais de primeira ordem de lactação, três animais de segunda ordem de lactação e três animais de terceira ordem de lactação. As vacas foram criadas em piquetes rotacionados e alimentadas com pastagem de *Panicum maximum* cultivar Mombaça submetidos ao sistema de irrigação.

3.2 Coleta das amostras

Foram registradas 192 observações de coletas de leite realizadas no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2010. As amostras de leite foram coletadas de vacas de semelhante estágio de lactação e diferentes ordens de lactação.

Os animais foram mantidos durante este período sob as mesmas condições de manejo e alimentação e seguindo a rotina de ordenha mecânica. As práticas de controle da mastite adotadas foram o *pré-dipping* e secagem dos tetos com papel toalha, além do tratamento de vacas secas e de casos clínicos.

Em todas as situações, era necessária a presença do bezerro para a primeira mamada antes do início da ordenha, como estímulo para ejeção do leite. A técnica do *pós-dipping* não era aplicada, pois ao final de cada ordenha os bezerros eram soltos junto às fêmeas.

A coleta das amostras de leite de cada animal selecionado foi feita durante a primeira ordenha do dia, uma vez por mês, durante os doze meses de experimento. O procedimento de coleta seguiu a seguinte sequência: teste de detecção de mastite clínica, utilizando-se os primeiros jatos de leite; pré-desinfecção dos tetos com solução de iodo glicerinado 0,3%; secagem dos tetos com papel toalha e, em seguida, a ordenha mecânica, sendo o leite amostrado nos coletores individuais e posteriormente anotado o peso em kg de sua produção.

3.3 Coleta para análise de CCS e composição

Para a avaliação da CCS e composição do leite as amostras foram coletadas em recipientes plásticos de 50 mL, contendo 10 mg do conservante Brononata, previamente identificados com a data da coleta, nome do animal e da fazenda. Após a agitação das amostras, as mesmas foram acondicionadas em caixas de papelão, e encaminhadas para o Laboratório de Monitoramento da Qualidade do Leite do IDAF – Cariacica-ES.

A contagem eletrônica de células somáticas das amostras de leite foi realizada pelo método de citometria de fluxo com o equipamento Somacount 300® (BENTLEY, 1994) e expressa em céls/mL. Para composição do leite (proteína total e gordura) foi empregada a técnica com analisador rápido de infravermelho Bentley 2000 (BARBANO & CLARK, 1989), e expressa em g/100g. Ambas foram realizadas no Laboratório de Monitoramento da Qualidade do Leite do IDAF – Cariacica-ES.

3.4 Coleta para análise de CBT

Para a avaliação da CBT do leite, as amostras coletadas de cada vaca foram acondicionadas em recipientes estéreis de plástico de 50 mL, contendo 10 mg do agente bacteriostático Azidiol, previamente identificadas com a data da coleta, o nome do animal e o da fazenda. Após a agitação das amostras, as mesmas foram

acondiçionadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável, e encaminhadas para o Laboratório de Monitoramento da Qualidade do Leite do IDAF – Cariacica-ES.

A contagem individual eletrônica de bactérias, ditas Unidades Formadoras de Colônias (UFC), das amostras de leite foi realizada pelo método de citometria de fluxo com o equipamento *Bactocount 100*® (BENTLEY, 2004) e realizada no Laboratório de Monitoramento da Qualidade do Leite do IDAF – Cariacica-ES.

3.5 Análise estatística

As características estudadas foram: peso em kg/vaca/dia da produção de leite; gordura (%), proteína (%); CCS (cels/mL); CBT (UFC/mL). Para obter uma distribuição normal, os valores de CCS foram transformados em escala logarítmica na base 10 ($\log_{10}(\text{CCS}+1)$).

O programa estatístico SAS (2002) dispõe de inúmeros procedimentos para vastas funções, que podem ser utilizados por áreas completamente distintas. Para o atual estudo, foram adotados os seguintes procedimentos:

- PROC MEANS, para estimativa das médias reais, desvios padrão (DP), número de observações, valores mínimos e valores máximos;
- PROC GLM (General Linear Model), por intermédio do Método dos Quadrados Mínimos, para obtenção dos níveis de cada classe (ordem de lactação e mês de lactação), para a análise de variância, com os respectivos níveis de significância, e para a estimativa das médias ajustadas com os respectivos erros padrão;
- PROC REG, pelo método de regressão linear, para a estimativa dos coeficientes de regressão;
- PROC CORR, para a estimativa dos coeficientes de correlação entre as características estudadas;

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na tabela 1 apresenta-se a produção de leite (kg/vaca/dia) nos diferentes meses de lactação e os seus respectivos desvios padrão. No mês de janeiro a média e o desvio padrão observados foram de 15,4kg/dia \pm 10,26. O mês de dezembro apresentou a menor produção média dos 15 animais estudados e esse valor poderia ser atribuído ao estágio final de lactação das vacas.

Tabela 1. Produção de Leite (kg/vaca/dia) e respectivos desvios padrão nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo.

Mês de Lactação	n	Produção de Leite (kg/vaca)	Desvio Padrão
Janeiro	7	15,4 ^a	\pm 10,26
Fevereiro	11	9,7 ^{bc}	\pm 4,14
Março	16	12,0 ^b	\pm 4,43
Abril	16	11,4 ^{bc}	\pm 5,18
Mai	16	10,0 ^{bc}	\pm 3,44
Junho	15	10,4 ^{bc}	\pm 4,47
Julho	15	9,9 ^{bc}	\pm 4,51
Agosto	15	9,2 ^{bc}	\pm 2,99
Setembro	15	7,9 ^{bc}	\pm 2,33
Outubro	15	8,1 ^{bc}	\pm 2,16
Novembro	15	7,6 ^{bc}	\pm 1,61
Dezembro	15	7,0 ^c	\pm 1,71
CV (%)	-	38,17	-
MÉDIA		9,67	\pm 3,69

n = número de observações

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK (P<0,05).

O rebanho apresentou uma produção média de leite durante o ano de 2010 de 9,67 kg/vaca/dia \pm 3,69 e observou-se que durante o mês de março a produção apresentou diferença significativa do mês anterior (9,7kg) e dos posteriores, quando a produção leiteira foi diminuindo. Os resultados assemelham-se aos de BIANCHINI SOBRINHO (1988) e GADINI (1985), que encontraram picos de produção em rebanhos Gir no primeiro mês pós-parto. BIANCHINI SOBRINHO (1988) verificou que o pico da produção de leite na lactação de vacas Gir ocorreu antes do décimo

dia, em um rebanho com controle leiteiro diário. Segundo LEDIC (2002), esta pode ser uma singularidade da raça Gir, um *Bos indicus*, que atinge o máximo de produção leiteira já no primeiro mês da lactação. Esta afirmação corrobora os resultados da produção leiteira encontrada neste trabalho, pois o mês de março abrange as vacas que estariam completando o primeiro mês de lactação.

Na Tabela 2 são apresentados os percentuais médios de gordura e proteína segundo o mês de lactação das vacas da raça Gir estudadas.

Tabela 2. Teores de gordura e proteína e respectivos desvios padrão, nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo.

Mês de Lactação	n	Gordura %	Desvio Padrão	Proteína %	Desvio Padrão
Janeiro	3	4,60 ^a	± 0,23	3,65 ^a	± 0,21
Fevereiro	11	3,65 ^b	± 0,57	3,22 ^b	± 0,21
Março	15	4,73 ^a	± 0,94	3,48 ^{ba}	± 0,56
Abril	16	4,29 ^{ba}	± 0,64	3,19 ^b	± 0,37
Maiο	16	4,47 ^{ba}	± 0,57	3,41 ^{ba}	± 0,18
Junho	15	4,25 ^{ba}	± 0,44	3,62 ^a	± 0,17
Julho	11	4,46 ^{ba}	± 0,31	3,54 ^{ba}	± 0,33
Agosto	15	4,06 ^{ba}	± 0,77	3,51 ^{ba}	± 0,22
Setembro	15	4,02 ^{ba}	± 0,81	3,52 ^{ba}	± 0,35
Outubro	15	4,23 ^{ba}	± 0,67	3,65 ^a	± 0,18
Novembro	15	4,33 ^{ba}	± 0,47	3,63 ^a	± 0,07
Dezembro	15	4,34 ^{ba}	± 0,53	3,51 ^{ba}	± 0,12
CV (%)	-	15,03	-	7,93	-
MÉDIA		4,28	± 0,64	3,49	± 0,28

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK (P<0,05).

CV = Coeficiente de Variação

n = número de observações

A Instrução Normativa nº51 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2002) preconiza valores mínimos de composição e qualidade do leite cru refrigerado, que deve apresentar em sua composição no mínimo 3,0 % de gordura, 8,4 % de sólidos totais não gordurosos e 2,9 % de proteína. Os valores médios encontrados de composição centesimal (g/100g) de gordura 4,28 ±0,64 e proteína 3,49 ±0,28 enquadram-se nas exigências de composição da normativa citada e mostram-se superiores aos teores de gordura encontrados por PICININ (2003), com 3,6% e SILVEIRA (2004), com 3,9%, que estudaram o leite de vacas da raça holandesa. Os valores médios de proteína das

amostras (3,49%) obtidas estão próximos da faixa dos teores avaliados, em vacas Gir, por MALEK (2010), que foi de 3,67%. Observou-se que a maior média de porcentagem de gordura no leite dos animais estudados foi obtida no mês de março (4,73%). Nesta fase, a grande maioria dos animais estavam recém paridos, na fase inicial ou no pico de lactação. Somente no mês de fevereiro observou-se diminuição nesses valores, coincidindo com a sexta semana do pós-parto de pelo menos 5 animais. No entanto houve no mês seguinte um aumento significativo, não sendo possível encontrar outros fatores para explicar tal fato na literatura.

A variação encontrada nos resultados obtidos para a gordura (CV= 15%) nas amostras individuais de leite foi também observada por alguns pesquisadores. JENSEN (2002) e GONZÁLEZ (2001) afirmaram ser a gordura o componente de maior variabilidade no leite. O efeito de mês de lactação não apresentou significância sobre os valores de gordura e de proteína estudados e semelhantes resultados foram obtidos por GONZÁLEZ et al. (2004) quando avaliaram os constituintes de animais da raça holandesa no Rio Grande do Sul. MARTINS et al. (2006), estudando vacas da raça Jersey e Holandesa, não encontraram significância para o efeito do mês de coleta sobre os teores de gordura. Entretanto, CARVALHO et al. (1999;2000) demonstraram que há uma forte relação negativa entre o teor de gordura e a produção de leite, pois o incremento no volume de leite produzido leva à diluição da gordura, mesmo que sua síntese esteja favorecida por fatores alimentares, que também aumentam a produção de leite, resultando em redução nos percentuais de gordura, quando há maior volume de leite.

Em São Paulo, a avaliação de amostras de leite provenientes de quartos mamários sadios e nos quais não houve crescimento bacteriano permitiu que ESTRELLA (2001) e MARQUES (2003) estabelecessem os valores de referência dos teores lácteos de gordura de bovinos da raça Holandesa ($1,74 \pm 0,81$ %) e da raça Girolando ($2,98 \pm 1,12$ %). Os valores obtidos no presente trabalho estão acima das médias de gordura encontradas pelos autores supracitados. Como o teor médio da raça Gir neste trabalho foi de 4,28 %, pode-se considerar que a raça Gir está em condições de ser indicada para cruzamentos com outras raças taurinas, o que aumenta a performance da composição do teor da gordura no leite.

A contagem de células somáticas no leite é uma ferramenta valiosa para a avaliação e estimativa das perdas quantitativas e qualitativas da produção do leite e

derivados, como indicativo da quantidade do leite produzido na propriedade e para estabelecer medidas de prevenção e controle da mastite (MÜLLER, 2002). Na Tabela 3, verificou-se que os valores médios da CCS, em relação aos meses de lactação, apresentou um acréscimo numérico progressivo até a fase final da lactação, com exceção dos dois primeiros meses (janeiro e fevereiro), sendo esses diferentes das médias.

Tabela 3. Contagem de células somáticas e LogCCS e respectivos desvios padrão, nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo.

Mês de Lactação	n	CCS x 1.000	Desvio Padrão	LogCCS	Desvio Padrão
Janeiro	4	242 ^{bc}	± 318,79	4,95 ^{cde}	± 1,11
Fevereiro	11	174 ^{bc}	± 303,40	4,18 ^e	± 1,28
Março	16	105 ^c	± 111,33	4,23 ^e	± 0,98
Abril	16	116 ^c	± 134,18	4,35 ^e	± 0,86
Maiο	16	155 ^c	± 131,85	4,81 ^{de}	± 0,68
Junho	15	194 ^{bc}	± 95,07	5,19 ^{bcde}	± 0,39
Julho	11	308 ^{bc}	± 79,98	5,70 ^{abcd}	± 0,29
Agosto	15	389 ^{abc}	± 523,84	5,21 ^{bcde}	± 1,34
Setembro	15	504 ^{abc}	± 600,06	5,50 ^{abcd}	± 1,31
Outubro	15	572 ^{abc}	± 540,89	5,97 ^{abc}	± 0,93
Novembro	15	658 ^{ab}	± 518,11	6,22 ^{ab}	± 0,76
Dezembro	15	799 ^a	± 541,61	6,50 ^a	± 0,60
CV (%)	-	106,6	-	17,63	-
MÉDIA		361	± 385,01	5,26	± 0,93

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK (P<0,05).

CV = Coeficiente de Variação

n = número de observações

Os dados médios da CCS (média aritmética) encontrados neste trabalho para animais da raça Gir foram de $361 \times 10^3 \pm 385$ células/mL sendo inferiores aos valores encontrados por MACHADO et al. (1999) ($641 \times 10^3 \pm 767$), BRITO et al. (2003) ($493 \times 10^3 \pm 413$) e FONSECA (2005) ($483 \times 10^3 \pm 376$), que estudaram animais de outras raças. De acordo com PHILPOT & NICKERSON (1992), perdas na produção por alta CCS no leite ocorreriam a partir de 200×10^3 células/mL, podendo ser detectadas acima de 500×10^3 células/mL. Nas contagens médias obtidas no presente experimento (361×10^3 células/mL), ainda não foram detectadas perdas significativas na produção de leite por presença de processo infeccioso na glândula mamária e isto pode ser verificado pelas médias encontradas nos meses de janeiro a agosto.

PEREIRA et al. (1997) concluem ainda que mudanças significativas nas concentrações dos componentes do leite ocorrem a partir de 1000×10^3 células/mL, para a gordura, e a partir de 500×10^3 células/mL para proteína e lactose, o que não foi relacionado aos índices de CCS encontrados.

MALEK (2010) encontrou semelhantes resultados quando avaliou o LogCCS de vacas Gir sem infecção por um período de um ano (média de $4,85 \pm 0,80$), estabelecendo um novo limiar para a detecção de mastite subclínica em animais da raça Gir que foi de 100×10^3 células/mL. Outros autores, como LAEVENS et al. (1997), BONFOH et al. (2005) e SOUZA et al. (2009) encontraram, respectivamente, LogCCS = 5,80; 5,89 e 1,71. Neste trabalho, a média de LogCCS no período de um ano foi de 5,28 sendo o maior valor no mês de dezembro (6,50) e o menor (4,18) no mês de fevereiro. Possivelmente o maior valor no mês de dezembro foi devido ao aumento de infecções mamárias subclínicas dos animais em estudo.

Os valores médios encontrados para CCS neste estudo atendem aos parâmetros estabelecidos pela IN51 (Brasil, 2002), que são de no máximo 750×10^3 céls/mL até o final do mês de junho de 2011 para a região do experimento. A contagem média de 361×10^3 células/mL atende inclusive aos requisitos de CCS que vigorarão a partir do mês de julho do ano de 2011 na região sudeste do Brasil, que correspondem ao máximo de 400×10^3 céls/mL. Entretanto, houve diferença nas médias de CCS entre os meses de lactação sob estudo, sendo que o mês de dezembro de 2010 apresentou maior média (equivalente a 799×10^3 céls/mL) em relação ao mês de março de 2010 (105×10^3 céls/mL) (Tabela 3).

Considerando o novo regulamento do programa, que entrará em vigor em julho de 2011, os valores encontrados nos meses de setembro, outubro, novembro e dezembro estariam em desacordo (504×10^3 ; 572×10^3 ; 658×10^3 ; 799×10^3 céls/mL, respectivamente) com os valores preconizados. Neste estudo, as maiores contagens de células somáticas foram encontradas no mês de dezembro, porém deve-se considerar que as vacas deste estudo estão no mês correspondente ao fim do período de lactação, podendo acarretar o aumento de células somáticas de acordo como relatado por VOLTOLINI (2001).

Outro fator a ser considerado é a estação do ano, pois a CCS é, geralmente, menor durante o inverno e maior durante o verão, devido provavelmente às melhores condições ambientais para o crescimento bacteriano durante o verão

(HARMON, 1998). WIGGANS e SHOOK (1987) constataram tendência de CCS alta no início, decréscimo até cinco a seis semanas e permanência quase constante (primeira lactação) ou crescimento linear (outras lactações) até o período de secagem das vacas.

Na tabela 4 apresentam-se as médias das contagens bacterianas encontrados em amostras individuais de leite cru de vacas Gir nos diferentes meses de lactação do ano de 2010.

Tabela 4. Contagem Bacteriana Total e respectivos desvios padrão, nos diferentes meses de lactação de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo.

Mês de Lactação	N	CBT x 1.000	Desvio Padrão
Janeiro	7	164 ^d	± 291,67
Fevereiro	11	91 ^d	± 149,53
Março	16	100 ^d	± 110,48
Abril	16	93 ^d	± 112,83
Maió	16	95 ^d	± 78,87
Junho	15	124 ^d	± 93,79
Julho	15	175 ^{cd}	± 131,43
Agosto	15	181 ^{cd}	± 136,87
Setembro	15	235 ^{bcd}	± 160,41
Outubro	15	310 ^{abc}	± 187,95
Novembro	15	358 ^{ab}	± 176,06
Dezembro	15	389 ^a	± 212,73
CV (%)	-	70,12	-
MÉDIA		195	± 136,73

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK (P<0,05).
n = número de observações

A média anual de CBT foi de 195×10^3 UFC/mL. Dos meses de janeiro a junho do ano em estudo as médias mensais mantiveram-se abaixo da média anual, sendo a menor média a do mês de maio (35×10^3 UFC/mL), seguida pela média de fevereiro (91×10^3 UFC/mL). A maior média observada foi a do mês de dezembro (389×10^3 UFC/mL), mais elevada que a média geral e também que as demais médias mensais, em concordância com os resultados obtidos na avaliação da CCS. De acordo com os resultados obtidos neste estudo pode-se dizer que, possivelmente, ocorreu uma infecção bacteriana e esta gerou uma resposta inflamatória que resultou na elevação da CCS. Vale ainda ressaltar que sete animais pariram no mês de março em estudo e que, de acordo com o manejo reprodutivo da

fazenda no mês de dezembro, observaram-se as médias mais altas de CCS e CBT. As vacas observadas estavam em seu nono mês de lactação, o que significa que entravam no processo de secagem. Avaliando os valores médios obtidos para CBT durante o ano pode-se dizer que o leite obtido enquadrou-se nas exigências da IN 51, que permite até 750×10^3 UFC/mL para o ano de 2010.

A Tabela 5 apresenta valores de produção de leite (kg/vaca/dia) em diferentes ordens de lactação no período de avaliação de um ano. O valor médio de produção de leite encontrado nos animais de primeira lactação foi de 8,6kg/vaca/dia e os maiores valores de produção foram encontrados para os animais de segunda e terceira ordens de lactação (11,6kg/vaca/dia). FRUSCALSO (2007), avaliando o mesmo efeito, porém em vacas da raça holandesa, não encontrou diferença significativas para ordem de lactação.

Tabela 5. Médias, desvios padrão, valor máximo e valor mínimo de Produção de Leite (kg/vaca/dia) de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação.

Ordem de Lactação	n	Produção de Leite (kg)	Desvio Padrão	Valor Mínimo	Valor Máximo
1 ^a	109	8,6 ^b	± 4,47	3,8	26,8
2 ^a	32	11,6 ^a	± 3,27	7,0	18,0
3 ^a	30	11,5 ^a	± 3,58	6,0	18,0
CV (%)	-	38,17	-	-	-
MÉDIA		9,67	± 3,69	-	-

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK (P<0,05).

Segundo GABRIEL et al. (1998) e SANTOS et al. (2006), as vacas primíparas ainda não desenvolveram completamente o sistema mamário, tendo menor quantidade de células secretoras de leite e menor volume cisternal da glândula, e consequentemente menor produção. O animal adulto possui capacidades digestiva, circulatória e respiratória bem desenvolvidas, proporcionando-lhe um melhor desempenho. As vacas adultas podem produzir 25% a mais de leite do que as vacas primíparas. O aumento do peso corporal responde por aproximadamente 5% desse acréscimo, ao passo que os outros 20% são resultado do desenvolvimento do úbere durante as gestações decorrentes (LOPES et al., 1996). HORTET et al. (1999) não

encontraram diferenças entre o meses de lactação nas vacas primíparas, mas observaram efeitos de mês de lactação nas múltiparas, com perdas crescentes no decorrer da lactação.

Para o efeito ordem de lactação na gordura (Tabela 6) de vacas da raça Gir, não foram detectadas diferenças ($p>0,05$), entretanto a gordura destaca-se com maior média nos animais de segunda ordem de lactação (4,39%). Para proteína verificou-se diferença entre as médias das vacas de terceira ordem de lactação. Os animais de primeira ordem de lactação apresentaram os menores valores médios de composição para gordura (4,24%) e proteína (3,41%). Observou-se diferença apenas para os teores de proteína, ou seja, vacas primíparas da raça Gir produziram leite com menos proteína.

Tabela 6. Teor de gordura, de proteína e respectivos desvios padrão de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação.

Ordem de Lactação	n	Gordura %	Desvio Padrão	Proteína %	Desvio Padrão
1 ^a	101	4,24 ^a	± 0,58	3,41 ^b	± 0,24
2 ^a	32	4,39 ^a	± 0,75	3,60 ^a	± 0,26
3 ^a	29	4,28 ^a	± 0,85	3,62 ^a	± 0,46
CV (%)	-	15,03	-	7,93	-
MÉDIA		4,28	± 0,64	3,49	± 0,32

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK ($P<0,05$).

O coeficiente de variação (CV) de 15%, referente aos teores de gordura foram semelhantes aos estudos de REIS et al (2007) e PICININ (2001) que avaliaram amostras individuais de vacas holandesas puras e girolandas. Os percentuais de gordura do leite foram os mais instáveis e possivelmente variaram em função do fator estágio de lactação, tornando esta variável mais instável que a variável percentual de proteína.

Os valores médios para a contagem de células somáticas e para o logCCS em diferentes ordens de lactação estão apresentados na Tabela 7. No presente estudo não existem diferenças ($p > 0,05$) entre os valores de CCS e logCCS para as diferentes ordens de lactação (1^a, 2^a e 3^a) em vacas da raça Gir sem presença de mastite clínica.

Tabela 7. Contagem de Células Somáticas, LogCCS e respectivos desvios padrão de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação.

Ordem de Lactação	n	CCS x1.000	Desvio Padrão	LogCCS	Desvio Padrão
1 ^a	101	406 ^a	±533,61	5,22 ^a	±1,29
2 ^a	32	322 ^a	±231,76	5,42 ^a	±0,95
3 ^a	30	253 ^a	±179,36	5,21 ^a	±0,94
CV (%)	-	106,6	-	17,63	-
MÉDIA		361	±385,01	5,26	±0,93

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK ($P < 0,05$).

Diferentemente dos resultados obtidos neste estudo, OSTRENSKY et al. (2000), analisando dados de rebanhos paranaenses, verificaram a existência de tendências de menores médias de CCS para vacas holandesas de primeira ordem de lactação, enquanto as maiores médias foram observadas em animais a partir da quinta lactação. Não foram encontrados trabalhos na literatura que referenciam valores de CCS com diferentes ordens de lactação na raça Gir. SCHUTZ et al. (1990) estudaram animais da raça Holandesa, Guernsey e Jersey, e observaram a CCS para os diferentes estágios de lactação, sendo os maiores valores para o início e o final da lactação. Entretanto, estes autores citam que, nos animais de primeira ordem de lactação, o pico de CCS ocorreu no oitavo dia pós-parto, sugerindo que elevadas CCS nesta fase poderiam estar associadas com mudanças fisiológicas na secreção do leite como, por exemplo, o edema de úbere, enquanto que nos animais de segunda ordem de lactação, o pico ocorreu na secagem, em que estaria envolvida a concentração de células somáticas em um menor volume de leite.

A Tabela 8 apresenta os valores médios encontrados nas diferentes ordens de lactação para CBT. Verificou-se que os animais classificados como de primeira ordem de lactação (primíparas) apresentaram menores contagens bacterianas (149×10^3 UFC/mL) e as maiores contagens foram encontradas nos animais de segunda ordem de lactação (340×10^3 UFC/mL). Estes resultados estão em desacordo com os resultados obtidos por FRUSCALSO (2007) que não encontrou diferenças significativas entre vacas holandesas primíparas e múltíparas ($p=0,629$). Possivelmente os valores de CBT foram maiores em animais de segunda ordem de lactação, devido ao inadequado tratamento de mastite subclínica que as vacas foram submetidas na finalização da última lactação ocorrida.

Tabela 8. Contagem Bacteriana Total e desvio padrão de vacas Gir de uma fazenda no Estado do Espírito Santo, segundo a ordem de lactação.

Ordem de Lactação	n	CBT x1.000	Desvio Padrão
1 ^a	109	149 ^b	±169,08
2 ^a	32	340 ^a	±191,74
3 ^a	30	208 ^b	±129,02
CV (%)	-	70,12	-
MÉDIA		195	±136,70

Médias seguidas de letras distintas diferem pelo teste de SNK ($P<0,05$).

Na avaliação das médias de CBT para as diferentes ordens de lactação, os resultados das análises encontraram-se dentro dos padrões estabelecidos na IN51, que é no máximo 750×10^3 UFC/mL.

Na Tabela 9 apresentam-se as correlações para produção de leite, teores de gordura, teores de proteína, CCS e CBT.

Tabela 9. Correlações entre as variáveis: Produção de Leite (PL), gordura, proteína, Contagem de Células Somáticas (CCS) e Contagem Bacteriana Total(CBT).

Variável	PL	Gordura	Proteína	CCS	CBT
PL (kg)	-				
Gordura (%)	0,03 ^{ns}	-			
Proteína (%)	- 0,07 ^{ns}	0,30 ^{**}	-		
CCS (céls/mL)	- 0,39 ^{**}	0,04 ^{ns}	0,18 ^{**}	-	
CBT (UFC/mL)	-0,23 ^{**}	0,10 ^{ns}	0,30 ^{**}	0,66 ^{**}	-

ns – não significativo ($p > 0,05$); ** significativo ($p < 0,05$)

A produção de leite, porcentagem de gordura e proteína apresentaram correlações próximas de zero, entretanto não significativas. Geralmente a correlação entre produção de leite com gordura e proteína é negativa (GONZALEZ et al, 2004) e isso se deve ao aumento no volume de leite produzido levando à diluição dos teores em estudo, o que não foi observado.

Essa produção de leite, quando avaliada com CCS e CBT, apresentou correlações de média magnitude, negativas e significativas, o que significa que a maior produção de leite se observa uma diminuição na CCS e CBT. GONZALEZ et al (2004) e FRUSCALSO (2007) avaliaram vacas da raça holandesa no sul do Brasil e também encontraram correlação negativa entre a CCS e a produção de leite ($r = -0,653$; $r = -0,58$, respectivamente), corroborando as nossas observações. Tais correlações podem ser atribuídas ao fato de que, altas contagens bacterianas indicam condições higiênicas deficientes no processo de ordenha, o que pode levar ao aumento da ocorrência de mastite e conseqüentemente à elevação da CCS.

Foi observada correlação positiva, de média magnitude e significativa entre gordura e proteína. Diferente disso, REIS (2007) observou correlação negativa (-0,04) e não significativa para os teores em questão. O trabalho de PEREIRA et al. (1999) os autores encontraram correlação positiva da CCS com teores de proteína (0,1230), porém não significativa para gordura. MALEK (2010) obteve correlação positiva em vacas Gir quando avaliou o efeito da CCS nos teores de gordura e proteína (0,18 e 0,12; respectivamente).

A correlação da gordura com CCS e CBT encontradas foram baixas, próximas de zero e não significativas. Diferentemente, ALVES (2006) e REIS (2007) encontraram correlações significativas entre a gordura e CCS (0,42 e 0,23, respectivamente) ao avaliarem vacas holandesas puras e cruzadas com Gir no Estado de Minas Gerais.

A correlação da proteína com CCS e CBT foi positiva, de baixa a média magnitude e significativa, podendo sugerir que o aumento das contagens de células somáticas e bactérias aumentaria os teores de proteína no leite. Essa observação também foi citada por REIS (2007) que encontrou correlação significativa e de semelhante valor entre proteína e CCS (0,18).

Verificou-se que a CCS com CBT apresentou alta correlação e significativa (0,66) e semelhantes resultados foram citados na literatura por ALVES (2006) (0,49) e GIGANTE (2004) (0,52), também indicando que o aumento do número de células somáticas está relacionado à presença de bactérias na glândula mamária, resultando primeiramente num caso de mastite subclínica e, conseqüentemente, no aumento na contagem bacteriana total do leite obtido.

As regressões quadráticas foram testadas e não foram significativas diferentemente das regressões lineares, que foram altamente significativas.

O coeficiente de regressão linear de produção de leite nos diferentes meses de lactação foi negativo (-0,522) indicando que há uma perda de 0,552kg de leite a cada mês (figura 5). TEIXEIRA et al. (2003) e ANDRADE et al (2007) avaliando vacas da raça holandesa em Minas Gerais e São Paulo, respectivamente, encontraram resultados semelhantes, ou seja, conforme avança a lactação, a produção de leite vai diminuindo.

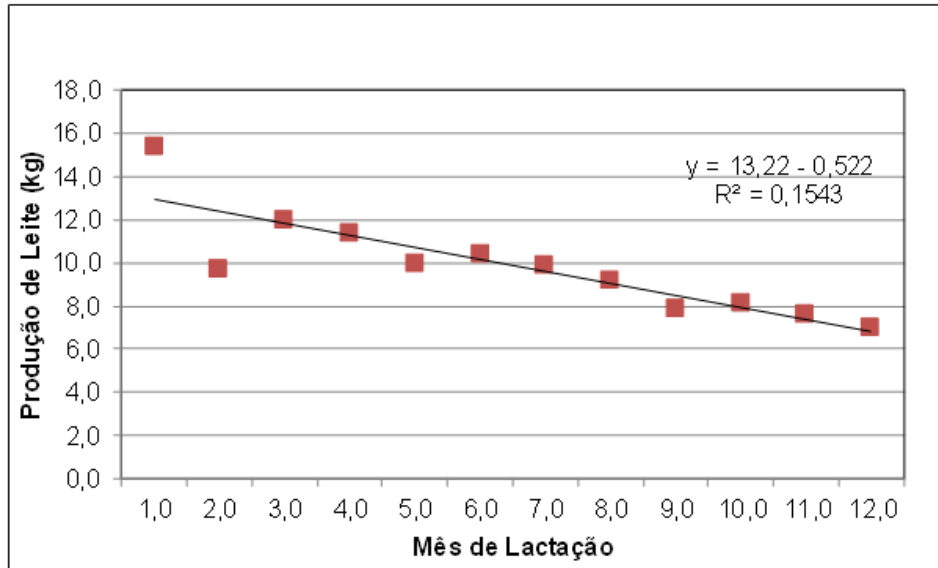


Figura 5. Regressão linear da produção de leite com o mês de lactação

O coeficiente de regressão linear de produção de leite nas diferentes ordens de lactação foi positivo (1,702), indicando que há um ganho de 1,702kg de leite a cada nova ordem de lactação do animal (figura 6).

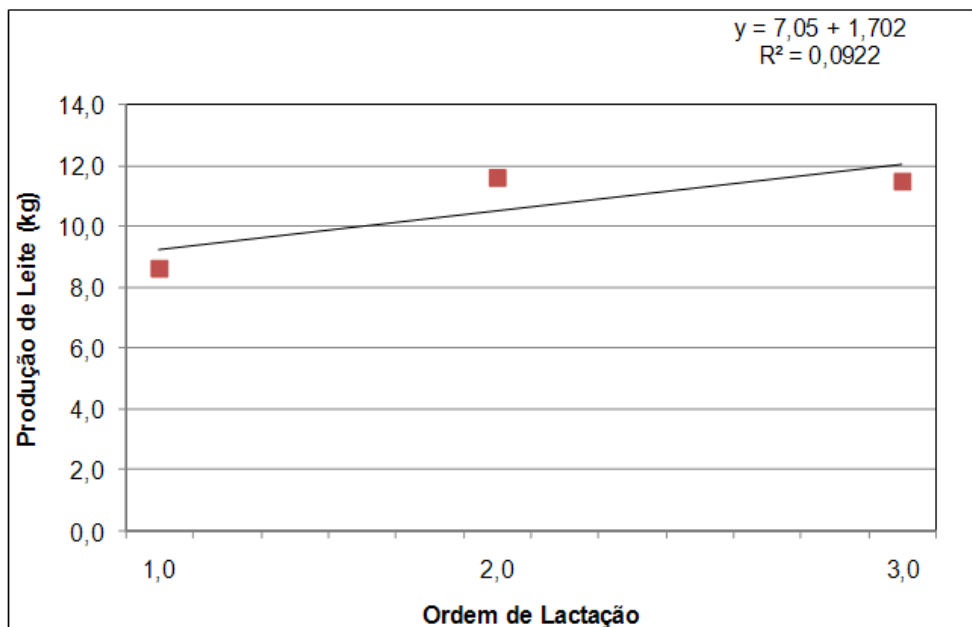


Figura 6. Regressão linear da produção de leite com a ordem de lactação

O coeficiente de regressão linear de produção de leite nos diferentes valores de células somáticas foi negativo (-0,00336), indicando que ocorrem perdas na ordem de 0,003kg de leite a cada aumento de células somáticas (figura 7).

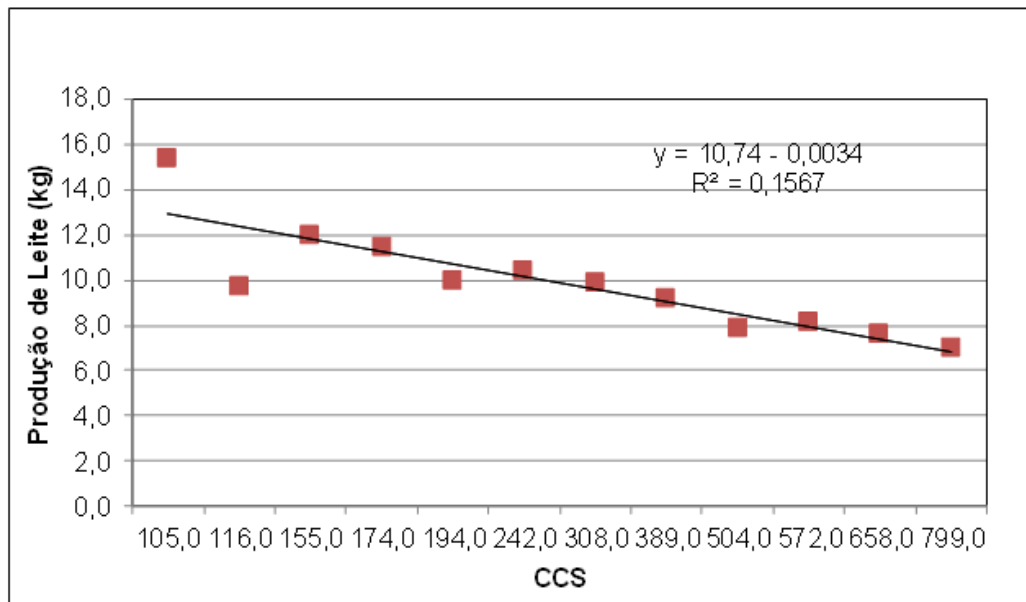


Figura 7. Regressão linear da produção de leite com a CCS

5. CONCLUSÕES

- a) Os valores médios de gordura e proteína foram superiores aos valores exigidos pelas normas brasileiras relativos à composição química do leite;
- b) Verificou-se efeito do mês e ordem de lactação na produção de leite, gordura e proteína dos animais avaliados;
- c) Quanto maior a produção de leite, menor a CCS e CBT do leite.
- d) As correlações entre CCS e CBT permitem dizer que um aumento do número de bactérias acarreta um aumento da contagem de células somáticas indicando a presença de mastite no rebanho, acarretando, em consequência, um aumento de proteína no leite.
- e) O conhecimento da relação entre CCS e CBT possibilita a adoção de práticas de manejo que podem contribuir para a redução de mastites no rebanho.
- f) Os resultados demonstram a importância da determinação dos valores de composição, CCS e CBT como parâmetros de avaliação da qualidade do leite em vacas da raça Gir leiteiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABCGIL – Associação Brasileira dos Criadores de Gir Leiteiro. Disponível em: <<http://www.girleiteiro.org.br/novo/?desempenho>> Acesso em 10 abr 2011.

ALVES, C. **Efeito de variações sazonais na qualidade do leite cru em duas propriedades de Minas Gerais**. 2006, 64p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2006.

ANDERSON, N. G.; CÔTÉ, J. F. **Dry cow therapy** (2003). Disponível em: <<http://www.omafr.gov.on.ca/english/livestock/dairy/facts/03-009.htm>> Acesso em: 10 abr 2011.

ANDRADE, L. M., EL FARO, L. CARDOSO, V. L.; ALBUQUERQUE, L. G; CASSOLI, L. D.; MACHADO, P. F. Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 2, p. 343-349, 2007.

BARBANO, D. M.; CLARK, C. L. Symposium: instrumental methods for measuring components of milk-Infrared milk analysis- challenges for the future. **J. Dairy Sci**, v. 72, n. 6, p. 1627-1636, 1989.

BARRIENTOS, A. A.; ARROYO, J.; CANTÓN, R.; NOMBELA, C. Applications of flow cytometry to clinical microbiology. **Clinical Microbiology Reviews**, n.13, v.2, p.167-195, 2000.

BENTLEY INSTRUMENTS. **Somacount 300**: operator's manual. Chaska, EUA: 1994, 77p.

BENTLEY INSTRUMENTS. **Bactocount 150**: operator's manual. Chaska, EUA: 2004, 35p.

BERNARDES, P. R. et al. O mal do século da atividade leiteira. **Anuário Milkbizz**. São Paulo: Tortuga, p.62-76,1999.

BIANCHINI SOBRINHO, E. **Estimativa da produção total de leite de vacas da raça Gir, baseada em controles semanais, quinzenais, mensais e bimestrais**,

obtenção de fatores multiplicativos, 1988. 90p. Tese (Livre Docente) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1988.

BIGGS, D.A.; JOHNSON, G.; SJAUNJA, L.O. Analysis of fat, protein, lactose and total solids by infra-red absorption. **Bulletin of the IDF**, n. 208. Brussels: International Dairy Federation, p.21-29, 1987.

BONFOH, B. B.; ZINSSTAGA, J.; FARAH, Z.; SIMBIED, C. F.; ALFAROUKHB, I. O.; AEBIE, R.; BADERTSCHERE, R. N.; COLLOMBE, M.; MEYERE, J.; REHBERGERE, B. Raw milk composition of Malian Zebu cows (*Bos indicus*) raised under traditional system. **J. Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 1, p. 29-38, 2005.

BRADLEY, A. J.; GREEN, M. J. A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. **J. Dairy Sci**, n.83, v.9, p.1957-1965, 2000.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. SDA/DIPOA, Brasília, DF, 1997.

BRASIL, Portaria nº166, de 05 de maio de 1988. Cria grupo de trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade... **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1. p.42,1998.

BRASIL, Portaria nº 56, de 10 de dezembro de 1999. Submete a consulta pública os regulamentos técnicos de padrão de identidade e qualidade de leite. **Diário Oficial da União**, Seção 2. p.34, 1999.

BRASIL, Instrução Normativa nº. 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1, n.183, p.13-22, 2002.

BRASIL, Resolução nº. 3.088, de 25 de junho de 2003. Dispõe sobre o programa de incentivo à mecanização, ao resfriamento e ao transporte granelizado de leite. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 2003.

BREER, C.; LUTZ, H.; SUPER, B. S. Counting somatic cells in milk with a rapid flow-through cytophotometer. **J. Milk Food Tech**, n. 39, p.624-627, 1976.

BRITO, J.R.F.; SOUZA, G.N.; BRITO, M.A.V.P. et al. **Panorama da qualidade do leite na Região Sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro.** In: DIAGNÓSTICO DA QUALIDADE DO LEITE, IMPACTO PARA A INDÚSTRIA E A QUESTÃO DOS RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, Cap.5, p.47-61, 2003.

BUENO, V.F.F.; MESQUITA, A.J.; OLIVEIRA, J.P. et al. Influência da temperatura e armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão sobre a qualidade microbiológica do leite cru. **Rev. Higiene Alimentar**, n.121,v.18, p.62-67, 2004.

CARVALHO, M.P.; FONSECA, L.F.L.; PEREIRA, C.C. **Manipulação nutricional da composição do leite:** proteína e gordura. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambú. **Anais...** São Paulo: Inst. Fernando Costa, 1999. p.19-35.

CARVALHO, M. P. **Manipulando a composição do leite:** Gordura. In: 1º CURSO ONLINE SOBRE QUALIDADE DO LEITE. São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2000.

CASSOLI, L. D. **Validação da Metodologia de citometria de fluxo para avaliação da contagem bacteriana do leite cru.** Dissertação (Mestrado em Agronomia) – ESALQ/USP. Piracicaba, SP, 2005, 46p.

COLDEBELLA, A. **Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas.** Tese (Doutorado em Agronomia) – ESALQ/USP. Piracicaba, SP, 2003, 99p.

COSTA, E. O.; MELVILLE, P. A.; RIBEIRO, A. R. et al. Índices de mastite clínica e subclínica nos Estados de São Paulo e Minas Gerais. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n.17, v.5, p.214-217, 1995.

CULLOR, J. S.; TYLER, J. W.; SMITH, B. P. Distúrbios da glândula mamária. IN: SMITH, B. P. **Tratado de medicina interna de grandes animais.** São Paulo: Manole, 1993, 1328p.

DOBRANIC, V.; NJARI, B.; SAMARDZIJA, M.; MIKOVIC, B.; RESANOVIC, R. The influence of the season on the chemical composition and the somatic cell count of bulk tank cow's milk. **J. the Faculty of Veterinary Medicine University of Zagreb**, n. 3, v. 78, p. 235-242, 2008.

DÜRR, J. W. Programa nacional de melhoria da qualidade do leite: Uma oportunidade única. In: **O Compromisso com a qualidade do leite no Brasil**, Passo Fundo: UPF, 2004, 331p.

EDMONDSON, P. W. Estratégias para a produção de leite de alta qualidade. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, Ribeirão Preto, SP. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, p. 61-69, 2002.

ELBERS, A. R. W.; MILTENBURG, J. D.; DE LANGE, D.; CRAUWELS, A. P. P.; BARKEMA, H. W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk Factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the Southern part of the Netherlands. **J. Dairy Sci**, v.81, n.2, p.420-426, 1998.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Centro Nacional de Pesquisa de gado de leite. Disponível em: <<http://www.cnpgl.embrapa.br/nova/sala/jornaldoleite>>, 2006. Acesso em: 10 abr 2011.

ERSKINE, R. J. **Mastitis control in dairy herds**. In: HERD HEALTH-FOOD ANIMAL PRODUCTION MEDICINE. Philadelphia: W. B. Saunders, P. A., p. 397-433, 2000.

ESTRELLA, S. L. G. **Características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça holandesa, criados no estado de São Paulo**: Influência da fase da lactação, dos quartos mamários, do número de lactações e do isolamento bacteriano. 162 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

FAO - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAOSTAT database, 2009. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agriculture>>. Acesso em: 05 abr. 2011.

FEHLHABER, K.; JANESTSCHKE, P. **Higiene veterinária de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1995, 669p.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos editorial, 2000,175p.

FONSECA, C.S.P. **Qualidade do leite cru de tanques refrigeradores de Minas Gerais**. 62 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

FRUSCALSO, V. **Influência da oferta da dieta, ordem e estágio de lactação sobre as propriedades físico-químicas e microbiológicas do leite bovino e a ocorrência do leite instável não ácido**. Porto Alegre, 2007. 132f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, RS, 2007.

GABRIEL, J.E.R.; OLIVEIRA, M.D.S.; TONHATI, H. et al. Análise de algumas características produtivas e reprodutivas da raça holandesa. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, **Anais...**, Botucatu, SP, p.35, 1998.

GADINI, C.H. **Influências genéticas e ambientes sobre a curva de lactação de um rebanho Gir**. 1985. 96p. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto: 1985.

GIGANTE, M.L. Importância da qualidade do leite no processamento de produtos lácteos. In: **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: UPF, p.235-254, 2004.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: USO DO LEITE PARA MONITORAR A NUTRIÇÃO E O METABOLISMO DE VACAS LEITEIRAS, 2001. **Anais...** Passo Fundo: UPF, p.5-21, 2001.

GONZÁLEZ, H.L; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.E.R. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS: Efeito dos Meses do Ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.

HAILE-MARIAM, M.; GODDARD, M.E.; BOWMAN, P.J. Estimates of genetic parameters for daily somatic cell count of Australian dairy cattle. **J. Dairy Sci**, v.84, n.5, p.1255-64, 2001.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cells counts. **J. Dairy Sci**, n.77, p.2103-2112, 1994.

HARMON, R. J. Fatores que afetam a contagem de células somáticas. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, **Anais...** Curitiba: UFPR, p. 7-15, 1998.

HARMON, R. J. Somatic cell counts: a primer. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL ANNUAL MEETING, Reno. **Proceedings**. Madison: National Mastitis Council. p. 3-9, 2001.

HILLERTON, J. E. Controle da mastite bovina. In: WORKSHOP SOBRE PROGRAMA DE CONTROLE INTEGRADO DA MASTITE BOVINA, Juiz de Fora, 1996.

HOGAN, J. S.; SMITH, K. L. Environmental Streptococcal Mastitis. Database 2001 Disponível em: <<http://ohioline.osu.edu/sc169/sc1695.html>> Acesso em: 10 abr 2011.

HOLM, C.; MATHIASSEN, T.; JESPERSEN, L. A flow cytometric technique for quantification and differentiation of bacteria in bulk tank milk. **J. Applied Microbiology**, n.5, v.97, p.935-941, 2004.

HORTET, P.; BEAUDEAU, H.; SEEGERS, H. et al. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600,000 cells/ml in French Holstein cows without clinical mastitis. **Livestock Prod. Sci**, v.61, n.1, p.33-42, 1999.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2010). Disponível em: <www.ibge.gov.br> Acesso em: 10 abr 2011.

INTERNATIONAL Dairy Federation. Factors influencing the bacteriological quality of raw milk. **IDF Standard 120**. Brussels: International Dairy Federation, 1980. 4p.

INTERNATIONAL Dairy Federation. Whole milk – determination of milkfat, protein and lactose content. Guidance on the operation of mid-infrared instruments. **IDF Standard 141 B**. Brussels: International Dairy Federation, 1996.

JENSEN, R.G. **Handbook of milk composition**. San Diego: Academic Press, 1995.

JENSEN, R.G. Invited review: The composition of bovine milk lipids: January 1995 a December 2000. **J. Dairy Sci.**, v.85, p.295-350, 2002.

JONES, G. M.; BAILEY Jr, T. L. Mastitis control in heifers and first lactation. Disponível em: <<http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-281/404-281.html>> . Acesso em 10 abr 2008.

LADEIRA, S. R. L. (1998) Mastite bovina. In: RIET-CORREA, F., SHILD, A.L., MÉNDEZ, M. C. **Doenças em ruminantes e eqüinos**. Pelotas: Universitária/UFPel., Cap. 3: p. 248-260.

LAEVENS, H. *et al.* Influence of Parity and Lactation Stage on the Somatic Cell Count in Bacteriologically negative dairy cows. **J. Dairy Sci.**, Savoy, v. 80, p. 3219-3226, 1997.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Revista Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, n.3, v.3, p.57-64, 2000.

LEDIC, I.L.; TONHATI, H.; VERNEQUE, R.S. *et al.* Estimativas de parâmetros genéticos, fenotípicos e ambientes para as produções de leite no dia do controle e em 305 dias de lactação de vacas da raça Gir. **Revista Brasileira de Zootecnia**, n.5, v.31, p.1953-1963, 2002.

LEITE, M.O. **Fatores interferentes na análise eletrônica da qualidade do leite cru conservado com azidiol líquido, azidiol comprimido e bronopol**, 2006. 62 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

LOPES, M.A.; NEIVA, R.S.; VALENTE, J. *et al.* Aplicação da função tipo gama incompleta no estudo da curva de lactação de vacas da raça holandesa, variedade preto-e-branca, mantidas em sistema intensivo de produção. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, v.25, n.6, p.1086-1101, 1996.

MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIÉS, G.A. Efeitos da contagem de células somáticas na qualidade do leite e a atual situação de rebanhos brasileiros. **Rev. Inst. de Laticínios Cândido Tostes**, v.54, n.309, p.10-16, 1999.

MALEK, C. B. **Avaliação da contagem de células somáticas do leite como indicador da ocorrência de mastite em vacas Gir**. 123 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Produção Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2010.

MARQUES, R. S. **Avaliação das características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça girolando, criados no estado de São Paulo**. São Paulo 2003, 167f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARTINS, P.R.G. et al. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas-RS em diferentes meses do ano. **Ciência Rural**, v.36, n.1, p.209-214, 2006.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, Células Somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, Maringá. **Anais...** Maringá: UEM, p. 206-217, 2002.

MURPHY, S.C.; BOOR, K.J. Troubleshooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk. **Dairy Food and Environmental Sanitization**, n.3, v.20, p.606-611, 2000.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n.1, v.25, p.191-195, 2005.

NICKERSON, S.C. Mastitis control in replacement heifers. Database 2001. Disponível em:<<http://www.wcds.afns.ualberta.ca/Proceedings/1996/wcd96389.htm>> Acesso em: 10 abr 2011.

OLIVEIRA, C. A. F; FONSECA, L. F. L; GERMANO, P. M. L. Fatores relacionados à produção que influenciam a qualidade do leite. **Rev. Higiene Alimentar**, 13:10-16, 1999.

OSTRENSKY, A.; RIBAS, N.P.; MONARDES, H.G. et al. Fatores de ambiente sobre o escore de células somáticas no leite de vacas da raça holandesa do Paraná. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 37., **Anais...** Viçosa, MG, 2000.

PEREIRA, A.R.; MACHADO, P.F.; BARANCELLI, G.; SILVA, L.V.F. Contagem de células somáticas e qualidade do leite. **Rev. dos Criadores**, v.67, n.807, p. 19-21, 1997.

PEREIRA, A.R.; PRADA E SILVA, L.F.; MACHADO, P.F.; SARRIÉS, G.A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite: I- gordura e proteína. **Braz. J. Vet. Res. Ani. Sci.**, v.36, n.3, p.121-124, 1999.

PHILPOT, N. W. Importância da contagem de células somáticas e outros fatores que afetam qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., **Anais...** Curitiba: UFPR, p. 28-35, 1998.

PHILPOT, N. W.; NICKERSON, S. C. **Vencendo a luta contra a mastite**. Piracicaba: Westfalia Surge / Westfalia Landtechnik do Brasil, 2002, 192p.

PICININ, L.C.A. et al. Qualidade físico-química de leite cru resfriado. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 18., 2001, Juiz de Fora, MG. **Anais...** Juiz de Fora: Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.56, 389p. p.294-300 , 2001.

PICININ, L.C.A. **Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais**. 2003. 89f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2003.

PINHA, L.C.; SIQUEIRA, K. B.; TRAVASSOS, G. F.; CARVALHO, G. **Evolução do setor lácteo nos países da América do Sul de 2000 a 2008**. 2010. Informativo eletrônico n°41. Disponível em: <<http://www.cileite.com.br/panorama/conjuntura41.html>>. Acesso em 10 mar 2011.

REIS FILHO, J.C. **Endogamia na raça Gir**. 50 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento Animal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2006.

REIS et al. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, RS: v.37, n.4, p.1134-1138, 2007.

SANTOS, M. V. **Uso da citometria de fluxo para determinar a CBT do leite**. (2005a) Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/mn/radarestecnicos>>. Acesso em: 10 ago 2010.

SANTOS, M. V. Utilizando a CCS e a CBT como ferramenta em tempos de pagamento por qualidade do leite. (2005b) Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/mn/radarestecnicos>>. Acesso em: 10 ago 2010.

SANTOS, J. E. P.; SA FILHO, M. F. Nutrição e reprodução em bovinos. **Bioteχνologias da Reprodução em Bovinos**. In: 2° SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE REPRODUÇÃO APLICADA, Londrina, p.30-54, 1996.

SARGEANT, J. M.; LESLIE, K. E.; SHIRLEY, J. E.; DULKRABEK, B. J.; LIM, G. H. Sensivity and specificity of somatic cell count and CMT for indentifying intramammary infection in early lactation. **J. Dairy Sci.**, v.84, n.9, p. 2018-2024, 2001.

SAS Institute. SAS® User's Guide: Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC., 2002.

SCHUTZ, M.; HANSEN, L.B.; STEUERNAGEL, G.R. Variation of milk, fat, protein, and somatic cells for dairy cattle. **J. Dairy Sci.**, v.73, p.484-493, 1990.

SEARS, P. M.; GONZALES, R. N.; WILSON, D. J.; HAN, H. R. Procedures for mastitis diagnosis and control. In: Update on bovine mastitis. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, USA: W.B Saunders, n.9, v.3, p.445-468, 1993.

SHUSTER, D. E.; HARMON, R. J.; JACKSON, J. A.; HEMKEN, R. W. Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. **J. Dairy Sci.**, n.74, p.3763-3774, 1991.

SILVEIRA, T.M.L. **Comparação dos métodos de referência e de análise eletrônica a determinação da composição e da contagem de células somáticas do leite bovino**, 2002. 42 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2002.

SILVEIRA, T.M.L.; FONSECA, L. M.; CANÇADO, S. V.; FERRAZ, V. Comparação entre os métodos de referencia e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.6, p.782-787, 2004.

SMITH, K. L.; HOGAN, J. S. The World of Mastitis. International Symposium on Mastitis and Milk Quality, 2nd **Proceedings**, 2001, p. 19-35.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DEROSA, D. Symposium: Bovine Immunology. Immunobiology of the mammary gland. **J. Dairy Sci.**, n.80, p.1851-1865, 1997.

SOUZA, M.R.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SENA, M. J.; et al. Avaliação da qualidade do leite resfriado, estocado em propriedades rurais por 48 horas e recebido por uma indústria de laticínios. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v.54, n.309, p.238-241, 1999.

SOUZA, G. N.; BRITO, J. R. F.; MOREIRA, E. C.; BRITO, M. A. V. P.; SILVA, M. V. G. B. Variação da contagem de células somáticas em vacas leiteiras de acordo com patógenos da mastite. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.5, p. 1015-1020, 2009.

SUHREN, G.; WALTE, H.G. First experiences with automatic flow cytometric determination of total bacteria count in raw milk. **Bulletin of the IDF**, n.358, p.36-48, 2000.

SURIYASATHAPORN, W., SHUKKEN, Y.H., NIELEN, M., BRAND, A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. **J. Dairy Sci.**, v.6, n.83, p.1248-1255, 2000.

TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Influência dos fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somáticas do leite em rebanhos no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.4, n.55, p.491-499, 2003.

TSENKOVA, R.; ATANASSOVA, S.; OZAKI, Y. et al. Near-infrared spectroscopy for biomonitoring: influence of somatic cell count on cow's milk composition analysis. **International Dairy Journal**, v.11, n.10, p.779-783, 2001.

VOLTOLINI, T. V. et. al. Influence of lactation stages on the counting of somatic cells of Holstein milk cows and identification of sources of mastitis pathogens in cattle. **Acta Sci. Ani. Sci.**, v.23, p. 961-966, 2001.

WAAGE, S.; ODEGAARD, S. A.; LUND, A.; BRATTGJERD, S.; ROTHE, T. Case-control Study of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. **J. Dairy Sci.**, v.84, n.2, p. 392-399, 2001.

WATTS, J. L. Etiological agents of bovine mastitis. **Veterinary Microbiology**, v.16, n. 1, p. 41-66, 1988.

WIGGANS, G.H; SHOOK, G.E. A lactation measure of somatic cell count. **J. Dairy Sci.**,v.70, p.2666-2672, 1987.

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of IDF**, v. 345, p. 15-18, 2000.