

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS (UFAM)
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE
ALIMENTOS**

**RELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE CÉLULAS
SOMÁTICAS A COMPOSIÇÃO DO LEITE DE BÚFALAS
(*Bubalus bubalis*) E O RENDIMENTO DE QUEIJO COALHO
PRODUZIDO EM AUTAZES, AMAZONAS**

RICARDO CAXIAS CELESTINO DE LIMA

MANAUS – AM

2012

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS (UFAM)
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DE ALIMENTOS**

RICARDO CAXIAS CELESTINO DE LIMA

**RELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS A
COMPOSIÇÃO DO LEITE DE BÚFALAS (*Bubalus bubalis*) E O
RENDIMENTO DE QUEIJO COALHO PRODUZIDO EM AUTAZES,
AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências de Alimentos, área de concentração Ciência de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Tonissi Moroni

MANAUS – AM

2012

RICARDO CAXIAS CELESTINO DE LIMA

**RELAÇÃO ENTRE A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS A
COMPOSIÇÃO DO LEITE DE BÚFALAS (*Bubalus bubalis*) E O
RENDIMENTO DE QUEIJO COALHO PRODUZIDO EM AUTAZES,
AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciências de Alimentos, área de concentração Ciência de Alimentos.

Aprovado em 23 de março de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Tonissi Moroni
Professor UFAM

Prof. Dra. Jerusa de Souza Andrade
Professora INPA

Prof. Dra. Expedita Maria de Oliveira Pereira
Professora UFAM

DEDICO,

Aos meus pais Pedro Celestino e Cenira
Caxias, pela prática do Amor;

À minha esposa Raquel Lima e aos meus
filhos Rebecca Lima, Hadassa Lima e
Pedro Lima pelo o apoio e carinho em
todos os momentos desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Aproveito a oportunidade para expressar a minha gratidão às pessoas e instituições que tornaram possível este ideal e, em particular:

A Deus, princípio, meio e fim;

À minha esposa, Raquel Lima, e meus filhos, Rebecca Lima, Hadassa Lima e Pedro Lima pelo amor e compreensão nos momentos de minha ausência;

À minha mãe, Cenira Caxias, e meu pai, Pedro Celestino;

Aos meus irmãos e irmãs Ronistton, Pedrinho, Renato, Cely e Silvana;

Aos Professores Dr. Edson Lessi, Dr. Fábio Tonissi Moroni e Dr. Elton Nunes Britto.

Aos amigos Odemar da Silva Souza, Elen Souza;

À Universidade Federal do Amazonas - UFAM;

Ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA;

À Indústria de Laticínios AUTALAC;

A todos os Professores da pós-graduação em ciência de alimentos;

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram durante a minha jornada acadêmica.

AGRADEÇO.

O caminho de Deus é perfeito; a palavra
do Senhor é provada: é um escudo para
todos os que nele confiam.

Porque quem é Deus senão o Senhor? E
quem é rochedo senão nosso Deus?
Deus é o que me cinge de força e
aperfeiçoa o meu caminho.

Salmos 18:30-32

RESUMO

A contagem de células somáticas (CCS) no leite é um parâmetro para avaliar a qualidade, pois está relacionada com a composição, rendimento industrial e segurança alimentar da matéria-prima dos derivados do leite. O objetivo do presente trabalho foi analisar a correlação da quantidade de células somáticas presentes no leite de búfalas com a composição centesimal e o rendimento de queijo coalho produzido no município de Autazes-AM. As amostras de leite foram coletadas de 73 búfalas. A composição e contagem de células somáticas do leite foram analisadas utilizando equipamentos eletrônicos. Em função da CCS os animais foram divididos em dois grupos, um com CCS inferior de 400.000 células mL⁻¹ e outro com CCS superior a 400.000 células mL⁻¹, de leite para produção dos queijos de coalho e calculado o rendimento de produção. A contagem de células somáticas apresentou correlação significativa positiva com o teor de gordura e significativa negativa com a concentração de lactose no leite. Os queijos de coalho produzidos com leite bubalino contendo CCS acima de 400.000 células mL⁻¹ apresentaram rendimento 1,08% inferior ao de queijos produzidos com leite bubalino contendo CCS abaixo de 400.000 células mL⁻¹.

Palavras-chave: bubalino, qualidade, mastite, somacount®, bentley®.

ABSTRACT

Somatic cell count (SCC) is a parameter of quality due to its relationship for composition, productivity and safety of milk and dairy products. The objective of this study was to analyze correlation of somatic cell count in milk of buffaloes to its composition and yield of curd cheese produced in Autazes, AM. Seventy-three samples of buffalo milk were collected and analyzed for composition and somatic cell count. For determining milk composition it was used spectroscopy analysis associated with flow cytometry procedures. The animals were sorted in two groups, one with SCC below 400.000 cell mL⁻¹ and another with SCC above 400.000 cell mL⁻¹. The curd cheese was produced by using milk from animals of two different groups and yields were calculated on percent weigh basis. The somatic cell count showed positive correlation with fat and negative correlation with lactose present in milk. The yield of curd cheese produced from buffalo milk containing SCC above 400.000 cell mL⁻¹ was 1.08% lower than cheese produced with buffalo milk containing SCC below 400.000 cell mL⁻¹.

Keywords: buffalo, quality, mastitis, somacount®, yield.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Procedimento de Análise no leite com California Mastitis Test (CMT)....	24
Figura 2. Foto do Kit completo utilizado para Wisconsin Mastitis Test – WMT....	25
Figura 3. Imagem de fotografia de microscopia direta de células bacterianas coradas por azul de metileno 0,6% (ampliação microscópica de 100 X).....	25
Figura 4. Foto do equipamento eletrônico Somacount 300 da Bentley Instruments Incorporated®, Chaska, Estados Unidos da América, para contagem de células somáticas em amostras de leite.....	26
Figura 5. Desenho esquemático do procedimento de amostragem para a realização dos procedimentos analíticos.....	33
Figura 6. Desenho esquemático do procedimento de amostragem para a produção dos queijos coalho.....	34
Figura 7. Desenho esquemático do processo de fabricação do queijo coalho.....	35

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1. Dados comparativos entre o leite de bubalinos e bovinos, quanto à composição de seus constituintes, a partir de dois trabalhos publicados no Brasil....	15
Tabela 2. Valores médios dos constituintes do leite de búfalas no Brasil e em outros países.....	16
Quadro 1. Limites máximos da contagem de células somáticas estabelecidos pela Instrução Normativa (IN) nº 51, de 18 de setembro de 2002, e IN nº 62, de 29 de dezembro de 2011, no Brasil.....	22
Tabela 3. Percentuais médios de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite, de acordo com o intervalo da contagem de células somáticas (CCS) de amostras analisadas, no município de Autazes-AM.....	36
Tabela 4. Análise de correlação (r), probabilidade (P) e coeficiente de determinação (r^2) entre a Contagem de Células Somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e sólidos totais em 73 amostras de leite de búfalas.....	38
Tabela 5. Rendimento de queijo coalho nos diferentes intervalos de contagem de células somáticas (CCS) do leite.....	38

LISTA DE ABREVIATURAS

%	Porcentagem
µL	Microlitro
AM	Amazonas
Ca	Cálcio
CCS	contagem de células somáticas
Cl	Cloro
cm²	centímetro quadrado
CMT	California Mastitis Test
DP	Desvio Padrão
EUA	Estados Unidos da América
g	Gramas
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IN	Instrução Normativa
INPA	Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
K	Potássio
kg	Kilograma
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abasteciemnto
Mg	Magnésio
mg	Miligrama
mL	Mililitro
Na	Sódio
n^o	Número
P	Fósforo
P	probabilidade
pH	Potencial de Hidrogênio
r	Análise de correlação
r²	coeficiente de determinação
RBQL	Rede Brasileira de Qualidade do Leite
ST	Sólidos Totais
UAT	Ultra Alta Temperatura
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
WMT	Wisconsin Mastitis Test

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
2.1 Composição físico-química do leite de búfalas.....	15
2.2 Células Somáticas.....	18
2.2.1 Definição.....	18
2.2.2 Fatores que afetam a concentração de células somáticas no leite.....	19
2.2.3 Contagem de células somáticas como índice de qualidade.....	21
2.2.4 Métodos utilizados para a contagem de células somáticas.....	23
2.2.5 Influência das células somáticas na qualidade do leite e queijo.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	32
3.1 Amostragem.....	32
3.2 Análise da composição e contagem de células somáticas.....	32
3.3 Produção de queijo coalho de búfala.....	33
3.4 Obtenção do rendimento de queijo.....	35
3.5 Análises estatísticas.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
5 CONCLUSÕES.....	40
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1 INTRODUÇÃO

A produção e a composição do leite são de fundamental importância para o sucesso da exploração leiteira. Há uma grande preocupação por parte dos grandes laticínios com a qualidade da matéria prima utilizada para a fabricação de queijos especiais e outros derivados a partir do leite de búfala, não somente pelo comprometimento da produção, mas também por questão de saúde pública (LOPES, 2009).

A contagem de células somáticas (CCS) tem sido considerada, medida padrão de qualidade, pois está relacionada com a composição, rendimento industrial e segurança do leite. Em trabalhos com leite de vacas, alta CCS indicaram diversas mudanças na composição do leite e perdas na produção do leite e derivados (ANDREATTA *et al.*, 2009). Tem sido encontradas perdas na produção leiteira de 1,02 a 21% quando a CCS varia de 171.000 a 2.488.000 células mL⁻¹ e perdas superiores quando o animal apresenta mastite clínica (MAGALHÃES *et al.*, 2006).

As células somáticas são compostas de células de defesa, principalmente leucócitos, que garantem a imunidade tecidual contra agentes patogênicos, bem como células epiteliais oriundas da descamação natural no tecido secretor da glândula mamária. Logo, a contagem de células somáticas do leite da búfala pode indicar, de maneira quantitativa, o grau de mastite (HARMON, 1994).

Dada a importância da contagem de células somáticas, a União Européia e a Austrália estabeleceram um limite máximo de 400.000 células mL⁻¹ para o leite ser comercializado. No Canadá e nos Estados Unidos, os padrões são de 500.000 células mL⁻¹ e 750.000 células mL⁻¹, respectivamente (RIBAS, 1999). No Brasil, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) fixou, por meio da Instrução Normativa (IN) nº 62, de 29 de dezembro de 2011, os requisitos mínimos de qualidade para o leite cru nas propriedades

rurais, estabelecendo o limite máximo legal de 750.000 células mL⁻¹, de julho de 2010 até dezembro de 2012, de 600.000 células mL⁻¹, de janeiro de 2013 até junho de 2015, de 500.000 células mL⁻¹, de julho de 2015 até junho de 2017 e de 400.000 células mL⁻¹, a partir de julho de 2017 para as regiões Norte e Nordeste (BRASIL, 2011).

O município de Autazes destaca-se por ser a maior bacia leiteira no Estado do Amazonas, possuindo a maior produção de leite de búfala do Brasil, com 1,7 milhões de litros de leite produzidos em 2006 (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2006). A criação de bubalinos no Amazonas é geralmente de forma extensiva, utilizando os mesmos parâmetros utilizados para a criação de bovinos da região. Os pecuaristas e empresários do ramo de laticínios, desta região, desconhecem a importância da CCS como um método de análise da qualidade do leite.

O objetivo deste trabalho foi analisar a relação entre a contagem de células somáticas com a composição do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) e o rendimento do queijo coalho produzido no município de Autazes, AM.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Composição físico-química do leite de búfalas

O leite de búfala apresenta algumas peculiaridades em comparação ao leite bovino, destacando-se o sabor adocicado e a coloração branco opaca, provocada pela ausência de pigmentos carotenóides. As micelas de caseína do leite de búfalas são maiores do que as encontradas no leite de vaca fazendo com que a coalhada elaborada com leite de búfalas retenha menos água do que a do leite de vacas, durante a ação do coalho Ganguli (1979) citado por Amaral (2005). A concentração total de colesterol de leite de búfala é menor do que a encontrada no leite de vaca (275 mg versus 330 mg por 100 g de gordura), e é 1,5 a 1,9 vezes mais calórico do que o leite de vacas. Em relação ao teor de minerais, ele é mais rico em Ca (1,99 g por kg versus 1,17 g por kg) e Mg (0,18g por kg versus 0,11 g por kg) do que o leite de vacas, porém é mais pobre em Na, K, e Cl. Adicionalmente a relação Ca/P é 1,71, enquanto que no leite de vacas é de 1,31 (DE FRANCISCIS e DI PALO, 1994). Na análise de aminoácidos, o leite de búfalas apresenta 25,5% de aminoácidos essenciais a mais do que o leite de vaca (VERRUMA e SALGADO, 1994).

Na Tabela 1 encontram-se dois estudos comparativos, realizados no Brasil, entre a composição do leite de búfalas e de vacas e a Tabela 2 os valores médios dos constituintes do leite de búfalas encontrados.

Parâmetros determinados	Hühn <i>et al.</i> (1982)*		Verruma e Salgado (1994)**	
	Leite de búfalas (Mediterrânea)	Leite de vacas (Sindi)	Leite de búfalas (Jafarabadi)	Leite de vacas (Mestiças)
Densidade (g/cm ³ a 15°C)	1,0327	1,0320	-	-
Gordura (%)	6,85	4,77	8,16	3,68
Proteína (%)	3,68	2,60	4,50	3,70
Cinzas (%)	0,83	0,72	0,70	0,70
Sólidos Totais (%)	17,50	12,19	17,00	12,00
Lactose (%)	3,83	3,74	-	-

Umidade (%)	-	-	83,00	88,00
Vitamina A (U.I)	-	-	204,27	185,49
Calorias por mL	-	-	104,29	62,83

* Metodologias: Densidade - Lactodensímetro; Gordura - Gerber; Proteína - Kjeldahl; Lactose - Licor Fehling.

** Metodologias descritas pela Association of Official Analytical Chemists (1990).

Tabela 1. Dados comparativos entre o leite de bubalinos e bovinos, quanto à composição de seus constituintes, a partir de dois trabalhos publicados no Brasil.

Fonte: Amaral *et al.* (2005)

Autor	País	Raça	Gordura (%)	Proteína (%)	Sólidos totais (%)	Lactose (%)
Swaminathan e Parpia (1968)	Índia	-	7,50	3,80	-	4,40
Eltawil <i>et al.</i> (1976)	Egito	Egípcia	6,63	3,99	16,48	-
Alim (1978)	Egito	Egípcia	6,57	-	15,66	-
Furtado (1980)	Brasil	Murrah X Mediterrânea	6,60	4,79	17,09	5,52
Sharma <i>et al.</i> (1980)	Índia	Jafarabadi	7,40	4,01	-	-
		Meshana	7,40	3,92	-	-
		Murrah	7,40	3,94	-	-
		Mestiços	7,30	4,01	-	-
Pandey <i>et al.</i> (1986)	Índia	Murrah	7,23	4,33	17,32	-
Antunes <i>et al.</i> (1988)	Brasil	Murrah	6,15	4,10	16,60	-
Dubey e Gupta (1989)	Índia	-	6,80	3,90	16,26	4,37
Rahman e Gill (1990)	Índia	Murrah	7,33	-	16,21	-
Fraciscis e Di Palo (1994)	Itália	Mediterrânea	8,10	4,54	-	-
Spanghero e Sumel (1996)	Itália	Mediterrânea	8,55	4,27	-	5,15
Dubey <i>et al.</i> (1997)	Índia	Murrah	7,65	3,81	17,01	4,83
Kholif (1997)	Egito	-	7,13	3,76	17,07	5,08
Peeva (1997)	Bulgária	Murrah e Mestiços da Bulgária	7,93	4,50	17,94	4,95
		Mediterrânea	6,59	4,13	17,01	-
Faria <i>et al.</i> (1997)	Brasil	Mediterrânea	6,12	3,80	-	-
Tonhati (1999)	Brasil	Jafarabadi	6,32	3,66	-	-
		Murrah	7,07	4,42	-	-
		Mediterrânea	6,14	3,83	-	-
		Jafarabadi	6,82	3,96	-	-
Fundora <i>et al.</i> (2001)	Cuba	Mestiços	6,93	3,81	-	-
		Murrah	6,98	5,40	15,55	-
Tzankova (2001)	Bulgária	Murrah da Bulgária	7,36	4,19	17,47	5,08
Peeva (2001)	Bulgária	Murrah da Bulgária	7,94	4,49	17,72	4,86
Duarte (2001)	Brasil	Murrah e Mestiços	6,96	4,20	17,42	5,19
Mesquita <i>et al.</i> (2002)	Brasil	Média geral das raças	6,80	4,01	17,30	5,52
Catillo <i>et al.</i> (2002)	Itália	Mediterrânea	9,10	5,06	-	-
Amaral <i>et al.</i> (2004)	Brasil	Média geral das raças	6,83	4,19	17,19	4,93
Patiño (2004)	Argentina	Murrah X Mediterrânea	7,22	3,85	16,35	4,49

Tabela 2. Valores médios dos constituintes do leite de búfalas no Brasil e em outros países.

Fonte: Amaral *et al.* (2005)

O período de lactação dos animais, o tempo de duração da ordenha, o clima da região, a raça e a alimentação, dentre outros fatores foram considerados como possíveis de influenciarem a composição físico-química do leite (PATEL, 1993). Vários autores atestaram a necessidade da realização de pesquisas regionais que promovam o conhecimento das reais características do leite dos animais criados nas regiões, com vistas inclusive à adoção de padrões de referência para diagnósticos clínicos e, principalmente para a efetivação do controle de qualidade do leite produzido e destinado ao consumo dos seres humanos (MESQUITA *et al.*, 2002).

Em um trabalho realizado na região da bacia leiteira de Goiânia, Mesquita *et al.* (2002) encontraram valores médios de pH, gordura, proteína, lactose e sólidos totais: 6,76; 6,8 g%; 4,01 g%; 5,52 g% e 17,3 g% respectivamente.

Dubey *et al.* (1997) ao avaliarem os fatores que poderiam afetar a composição do leite de búfalas Murrah, concluíram que os valores da composição do leite variavam significativamente com os meses de evolução da lactação. Pois, os teores de gordura, proteína e sólidos totais lácteos decresceram após a instalação da lactação, atingindo valores mínimos (respectivamente 7,12g%; 3,65g% e 16,33g%) ao final de quatro meses de lactação; aumentando nos meses subsequentes. Somente a concentração láctea de lactose apresentou, na primeira fase descrita, aumento: de 4,83g% passou a 4,9g% e, a seguir decresceu, suavemente, até o final da lactação.

Macedo *et al.* (2001), demonstraram que a gordura e os sólidos totais lácteos foram os componentes mais influenciados pela fase e número de lactações. A porcentagem média dos teores de gordura foi de 6,59 g% e o de sólidos totais igual a 17,01g%. Avaliando os teores de proteína encontraram a média de 4,13g% e verificaram que a produção de leite ocorria estável até o segundo mês de lactação, decrescendo a seguir gradativamente até o final da lactação.

Nader Filho *et al.* (1984) citado por Bastos (2004), analisando valores de proteínas, gordura e sólidos totais em amostras de leite de búfalas encontraram os valores 5,41g%; 7,83g% e 19,0g%, respectivamente.

TOLEDO *et al.* (1998) verificaram, em estudo realizado no Vale do Ribeira – Estado de São Paulo, valores de proteína e teores de gordura, menores do que os determinados por De Franciscis e Di Palo (1994) na Itália, com valores médios iguais a 3,77g%; 6,5g% e 4,29g%; 8,0g%, respectivamente. Guarino (1996) citado por Bastos (2004) verificou os seguintes valores para a constituição da secreção láctea de búfalas: 8,09g%, 4,58g%, 4,86g%, 17,54g% e 6,61, para os teores de gordura, proteínas, lactose, sólidos totais e pH, respectivamente.

2.2 Células Somáticas

2.2.1 Definição

O conjunto de células de defesa (leucócitos) e células epiteliais presentes no leite é denominado de células somáticas (PHILPOT e NICKERSON, 1991; MACHADO *et al.*, 2000). Alguns tipos de leucócitos (granulócitos, monócitos e alguns linfócitos) são formados na medula óssea e outros (linfócitos e plasmócitos), no tecido linfóide. Após sua formação, são transportados pelo sangue para as áreas de inflamação, fornecendo uma defesa rápida e potente contra qualquer agente infeccioso presente (NASCIF JR., 2001).

Do total das células somáticas, 75 a 98% correspondem às células de defesa, que têm a função de englobar e fagocitar os micro-organismos invasores da glândula mamária e, também, para reparação do tecido secretório mamário (LANGONI, 2006).

As células epiteliais são oriundas da descamação normal do tecido de revestimento e secretor interno da glândula mamária e compreendem de 2 a 25% do total de células somáticas (PHILPOT e NICKERSON, 1991; PHILPOT, 1998).

2.2.2 Fatores que afetam a concentração de células somáticas no leite

Na interpretação da CCS no leite, devem ser considerados todos os fatores que possam influenciar os resultados; porém, está bem definido que a presença de infecção da glândula mamária, denominada mastite, é o fator que mais interfere na CCS no leite (HARMON, 1994; SOUZA *et al.*, 2005; ANDRADE *et al.*, 2007; WELLNITZ *et al.*, 2009).

A mastite é considerada a doença que acarreta grandes prejuízos econômicos à produção leiteira, pela redução da quantidade e pelo comprometimento da qualidade do leite, ou até pela perda total da capacidade secretora da glândula mamária. Caracteriza-se por uma inflamação da glândula mamária, geralmente de caráter infeccioso, podendo ser classificada em clínica e subclínica (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Segundo MAGALHÃES *et al.* (2006), quando na forma clínica, a mastite é de fácil diagnóstico e apresenta sinais clínicos como formação de edema no úbere, endurecimento das glândulas afetadas, aumento da temperatura do teto infectado, reação ao toque em razão da dor, além de grumos, pus e sangue no leite, que se torna mais aquoso e sofre descoloração. Porém, o tipo de mastite que mais preocupa é a subclínica, pois é difícil de ser identificada e não apresenta sintomas visíveis, tornando-se responsável por 70% das perdas econômicas decorrentes de mastite.

Sabe-se que as enzimas de origem microbiana presentes no leite não são desnaturadas no processo de pasteurização e permanecem nos produtos lácteos, diminuindo a vida de prateleira (MAGALHÃES *et al.*, 2006). Outro fator importante é que os micro-organismos

que colonizam o úbere, causando infecção na glândula mamária, podem favorecer a formação de aminas biogênicas. SOMERS *et al.* (2003) observaram que o leite com elevada CCS é mais susceptível a atividade proteolítica, o que pode liberar aminoácidos e favorecer a formação de aminas biogênicas.

Entre os micro-organismos isolados com maior frequência em vacas com mastite, destacam-se: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli* (HARMON, 1994; BRITO, 2003; WHIST *et al.*, 2009).

Além da mastite, vários fatores fisiológicos e ambientais podem influenciar a contagem de células somáticas (CCS) no leite; dentre eles, podem ser citados: estágio de lactação, idade da vaca, número de lactações, estação do ano, práticas de manejo, qualidade da ordenha, alimentação e intervalo entre as ordenhas (HARMON, 1994; MAGALHÃES *et al.*, 2006).

Com relação ao estágio de lactação, Sheldrake *et al.* (1983) citado por Rigueira (2010) observaram grande variação da CCS no início e final do período de lactação, em vacas livres de infecção. No início, verificou-se um acréscimo na CCS devido à presença de imunoglobulinas e, conseqüentemente, de células de defesa. No final da lactação, também foi verificado um acréscimo da CCS, devido à maior descamação natural do epitélio da glândula mamária.

No que se refere à idade das vacas, as mais velhas geralmente, apresentam uma elevada CCS, fato que se deve às maiores chances de infecção pela prolongada exposição aos patógenos envolvidos, e também à maior descamação de células epiteliais ao longo de várias lactações (LANGONI, 2006).

Com relação à estação do ano, MAGALHÃES *et al.* (2006) observaram uma CCS mais alta no verão (janeiro a março). Neste período, ocorre um aumento na umidade e maior

estresse térmico, que aumentam a susceptibilidade do animal a infecções e o número de patógenos aos quais estaria exposto, favorecendo a incidência de mastite nesses meses (HARMON e RENEAU, 2006).

Estudo realizado por Bueno *et al.* (2005), relacionando a CCS do leite com a estação do ano no estado de Goiás, mostrou uma correlação significativa da temperatura ambiental com maiores médias de CCS ocorrendo na estação seca (setembro e outubro). A ocorrência da maior CCS no leite produzido nestes meses também poderia estar associada à existência de várias vacas no final da lactação, período no qual há maior incidência de casos de mastite. Outra hipótese seria a escassez de pastagem, causando um comprometimento na qualidade e quantidade da dieta das vacas o que, segundo Noro *et al.* (2004), poderia estar relacionado com a elevação na CCS.

No estado do Paraná, Braga *et al.* (2006) verificaram menores CCS nos leites ordenhados no inverno, período marcado de temperaturas mais baixas, quando comumente há ocorrência de temperaturas negativas. O período contribuiu para os menores índices de CCS e também de menores desvios-padrão, ou seja, menor variabilidade de resultados.

A influência dos fatores ambientais na variação mensal de CCS em rebanhos no estado de Minas Gerais foi estudada por Teixeira *et al.* (2003), no período de janeiro de 1999 a dezembro de 2001, pelo exame de 102.098 amostras individuais. A CCS aumentou nos meses de fevereiro a junho, diminuindo para o mínimo em outubro.

2.2.3 Contagem de células somáticas como índice de qualidade

Considerando a relação direta entre a ocorrência de mastite e a perda das características do leite, justifica-se o crescente interesse na realização de estudos que avaliem o impacto da CCS sobre a qualidade de leite e derivados (FERNANDES, 2008).

A contagem de células somáticas no leite é usada como indicadora da qualidade do leite, para controle da mastite e, indiretamente, como indicadora da produção higiênica do leite (WICKSTRÖM *et al.*, 2009). Sendo assim, muitos países têm estabelecido limites máximos de CCS do leite de rebanho para assegurar a higiene e qualidade do leite. Os Estados Unidos e Canadá estabeleceram um limite de 500.000 e 750.000 células mL⁻¹, respectivamente, enquanto na União Européia, Nova Zelândia e Austrália, o valor é de 400.000 células mL⁻¹ (PHILPOT, 1998; SANTOS, 2002).

O MAPA fixou por meio da IN n° 51, de 18 de setembro de 2002 os requisitos mínimos de qualidade para o leite cru nas propriedades rurais, incluindo pela primeira vez na legislação brasileira os limites máximos para CCS. Em 2011, o MAPA estabeleceu por meio da IN n° 62, de 29 de dezembro de 2011, novas datas e limites máximos de CCS no leite das regiões Norte e Nordeste do país, conforme o Quadro 1.

IN n° 51 de 18 de setembro de 2002				
REGIÃO	Sul, Sudeste e Centro-oeste			Norte e Nordeste
PERÍODO	2005-2008	2008-2011	a partir de Julho 2011	2005-2010
LIMITE MÁX. CCS (células mL ⁻¹)	1.000.000	750.000	400.000	1.000.000
IN n° 62 de 29 de dezembro de 2011				
REGIÃO	Norte e Nordeste			
PERÍODO	Julho 2010 a Dezembro 2012	Janeiro 2013 a Junho 2015	Julho 2015 a Junho 2017	a partir de Julho 2017
LIMITE MÁX. CCS (células mL ⁻¹)	750.000	600.000	500.000	400.000

Quadro 1. Limites máximos da contagem de células somáticas estabelecidos pela Instrução Normativa (IN) n° 51, de 18 de setembro de 2002, e IN n° 62, de 29 de dezembro de 2011, no Brasil.

Fonte: Brasil (2002; 2011)

Além das implicações legais, a saúde da glândula mamária pode estar relacionada com o bem estar dos animais, visto que em casos de mastite clínica pode ocorrer o desconforto. Entidades de defesa dos direitos dos animais apontam esse desconforto como indesejáveis para os animais (SCHUKKEN *et al.*, 2003). A CCS está relacionada com o aumento do risco

de ocorrência de resíduos de antimicrobianos em rebanhos leiteiros, em função da maior utilização de tratamentos intramamários (RUEGG, 2005).

Nos últimos anos, várias pesquisas foram realizadas em diferentes regiões do Brasil com intuito de avaliar a qualidade do leite com relação à CCS. Na região sudeste Souza *et al.* (2010) avaliaram a qualidade do leite em relação a CCS, de 2005 a 2008, e verificaram uma variação de 78,4 a 80,4% das amostras com contagem inferior a 750.000 células mL⁻¹. Aproximadamente 20% das amostras estavam acima de 750.000 células mL⁻¹, porém, a partir de julho de 2011 o limite foi reduzido para 400.000 células mL⁻¹, e o percentual de amostras acima deste limite aumentou para 50%.

Lacerda *et al.* (2010) analisaram 2.236.700 e 2.629.950 amostras de leite cru de agosto a dezembro de 2006 e janeiro a julho de 2007, respectivamente, no estado do Maranhão. Das amostras analisadas em 2006 e 2007, 65% e 85%, respectivamente, estavam com contagem acima do estabelecido pela legislação (1.000.000 células mL⁻¹). No entanto, Carvalho *et al.* (2010) analisaram 541 amostras em Rondônia e valor médio de CCS obtido foi de 289.000 células mL⁻¹. Todas as amostras estavam com os valores de CCS dentro do estabelecido pela legislação (BRASIL, 2002).

2.2.4 Métodos utilizados para a contagem de células somáticas

Os níveis de células somáticas no leite bovino podem ser determinados utilizando-se várias técnicas de diagnóstico, que são divididas em métodos diretos e indiretos. Como exemplo dos métodos indiretos podem ser citados o California Mastitis Test (CMT), o Wisconsin Mastitis Test (WMT) e a medida da condutividade elétrica. Como exemplo dos métodos diretos tem-se a contagem de células somáticas por microscopia direta e os analisadores eletrônicos (TRONCO, 2003).

O California Mastitis Test (CMT) proposto por Schalm e Noorlander (1957), fornece uma estimativa do número de células somáticas do leite. O detergente aniônico, um dos componentes do reagente utilizado no CMT, rompe as células do leite, liberando os ácidos nucléicos celulares que, em contato com o detergente, formam um complexo que modifica a viscosidade da mistura, leite e reagente. Quanto maior a viscosidade da mistura, maior a intensidade da positividade da prova para qual Schalm e Noorlander estabeleceram cinco níveis e relacionaram ao número de células somáticas: negativo (com no máximo 200.000 células mL^{-1} e 25% polimorfonucleares); traço ou suspeito (150.000 – 500.000 células mL^{-1} , com 30 a 40% de polimorfonucleares), uma cruz ou fracamente positivo (500.000 – 1.500.000 células mL^{-1} , com 40 – 60% polimorfonucleares), duas cruzes ou francamente positivo (800.000 – 5.000.000 células mL^{-1} , com 60 – 70% polimorfonucleares) e três cruzes ou fortemente positivo (com mais de 2.500.000 células mL^{-1} , com 70 – 80% polimorfonucleares). É um método de triagem barato, de fácil execução e interpretação, capaz de detectar mastite subclínica, e pode ser realizado no campo.



Figura 1. Procedimento de Análise no leite com California Mastitis Test (CMT)

O WMT (Wisconsin Mastitis Test) ou teste do viscosímetro. Pode ser realizado na propriedade e possui o mesmo princípio do CMT, ou seja, há uma reação proveniente da ação do reagente sobre as células somáticas presentes no leite, tornando-o gelatinoso. O teste é realizado com tubo de acrílico ou plástico, graduado e com tampa de metal com um pequeno

orifício e sua estimativa é mais precisa do que o CMT, pois sua interpretação não é subjetiva (ITAMBÉ, 2011).



Figura 2. Foto do Kit completo utilizado para Wisconsin Mastitis Test – WMT

Fonte: Retirado de <<http://www.itambe.com/Cmi/Media.aspx?2735>> acesso em 20 de maio de 2011.

A microscopia direta é o método de referência para a determinação da contagem de células somáticas em leite cru. Uma alíquota de leite (0,01 mL) é distribuída homogeneamente em uma área delimitada (1 cm²) na superfície de uma lâmina com o auxílio de uma pipeta automática calibrada. Após a secagem, as lâminas devem ser coradas com uma solução de azul de metileno 0,6% (corante de Newman Lampert modificado por Lebowitz-Weber) e, em seguida, as células coradas são contadas por meio da observação em um microscópio óptico (MARSHALL, 1992). O número de células contadas na área delimitada é multiplicado pelo fator de trabalho do microscópio e expresso em número de células por mililitro.



Figura 3. Imagem de fotografia de microscopia direta de células bacterianas coradas por azul de metileno 0,6% (ampliação microscópica de 100 X).

Fonte: Evangelhista (2008)

Em escala industrial a CCS pode ser realizada em equipamentos eletrônicos, a exemplo do Somacount (Bentley Instruments Incorporated®) e Fossomatic® (Foss Electric®, Hillerod, Dinamarca). Esses equipamentos são, inclusive, utilizados pela Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL) como alternativa para aperfeiçoar o controle leiteiro e a qualidade do leite (SILVEIRA, 2002; PAULA *et al.*, 2004; FONSECA, 2005; LEITE, 2006).

O equipamento Somacount, baseia-se no princípio da citometria de fluxo (Figura 4). Na análise, uma alíquota da amostra é coletada pelo instrumento, aquecida a 67°C e levada a uma seringa contendo o corante tampão (brometo de etídeo). Em seguida, 50 µL da amostra são carreados até o cell por um líquido carreador, onde ocorre a incidência de raio laser sobre a amostra. Os núcleos corados emitem fluorescência, a qual passa por uma série de filtros ópticos e lentes focalizadas em comprimentos de ondas apropriados e é captada como pulso elétrico. Este pulso é ampliado, filtrado eletronicamente e convertido em contagem de células somáticas (BENTLEY 2000, 1997; SILVEIRA, 2002; FONSECA, 2005; LEITE, 2006).



Figura 4. Foto do equipamento eletrônico Somacount 300 da Bentley Instruments Incorporated®, Chaska, Estados Unidos da América, para contagem de células somáticas em amostras de leite.

Fonte: Evangelista (2008).

2.2.5 Influência das células somáticas na qualidade do leite e queijo

Os mais importantes efeitos negativos do aumento no número de células somáticas para os produtos de laticínios incluem: baixo rendimento industrial, aumento do tempo de coagulação do leite, maior perda dos componentes do leite para o soro, defeitos de textura e diminuição da vida de prateleira, devido a alterações sensoriais, causadas principalmente pela ação de enzimas proteolíticas e lipolíticas (KITCHEN, 1981; SANTOS *et al.*, 2003a; 2003b). As enzimas proteolíticas e lipolíticas podem gerar sabor amargo e rançoso, respectivamente, no leite e seus derivados (MURPHY, 1989; MATIOLI, 2005).

A elevada CCS ocasiona diversas mudanças na composição do leite, afetando sua qualidade, pois altera a permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula e reduz a secreção dos componentes do leite sintetizados na glândula mamária (proteína, gordura e lactose) pela ação direta dos patógenos ou de enzimas sobre os componentes secretados no interior da glândula (MACHADO *et al.*, 2000; SILVEIRA *et al.*, 2004).

BUENO *et al.* (2005) analisaram a CCS e os teores de gordura, proteína, lactose e sólidos totais de leite cru armazenado em tanques de refrigeração no estado de Goiás e verificaram que a elevada CCS estava relacionada à redução destes componentes do leite.

Em virtude da ação de lipases leucocitárias e lipoprotéicas, a concentração de gordura no leite com elevada CCS tende a diminuir (HARMON, 1994; AULDIST *et al.*, 1995; BRITO e DIAS, 1998). No entanto, Pereira *et al.* (1999) encontraram maior concentração de gordura no leite de vacas com mastite. Machado *et al.* (2000) observaram que a partir de 1.000.000 células mL⁻¹ ocorria significativo aumento na concentração desse componente, em amostras colhidas em tanques de expansão. Bueno *et al.* (2005) constatou que praticamente não houve variação dos teores médios de gordura entre os diferentes níveis de CCS.

Resultados de trabalhos realizados no Brasil enfocando a relação entre a quantidade de células somáticas e a concentração de proteína no leite são contraditórios. Pereira *et al.* (1999) observaram que o teor de proteína era maior em amostras de leite com CCS acima de 283.000 células mL⁻¹, enquanto Machado *et al.* (2000) verificaram que a partir de 500.000 células mL⁻¹ ocorria redução no teor protéico. Bueno *et al.* (2005) verificou que o teor médio de proteína total reduziu significativamente à medida que a CCS aumentou.

CUNHA *et al.* (2008) verificaram um aumento de 6,2% na porcentagem de proteína entre os leites com CCS de 100.000 e 3.000.000 células mL⁻¹. Entretanto, este aumento na concentração de proteína não deve ser considerado favorável à qualidade do leite, pois se deve a alteração da permeabilidade dos capilares sanguíneos que permitem influxo de proteínas séricas na glândula mamária. Durante o processamento industrial do leite, as proteínas são perdidas, enquanto a concentração de caseína, que realmente é de interesse ao processo, é diminuída pela ocorrência da mastite (BRITO, 2003). Desta forma, sistemas de pagamentos baseados em porcentagem de proteína total, sem levar em conta a CCS, apresentam limitações, uma vez que o rendimento industrial do leite está associado principalmente à fração de caseína (MA *et al.*, 2000).

Segundo Harmon (1994), a redução da concentração de lactose no leite com alta CCS equivale a 10% do valor normal. BRITO e Dias (1998) mencionaram que a intensidade da redução varia de 5% a 20%. Machado *et al.* (2000) observaram redução significativa na concentração de lactose em amostras colhidas em tanques de expansão com CCS acima de 500.000 células mL⁻¹. Silva *et al.* (2000) verificaram redução no teor de lactose de 4,68% para 4,49%, considerando amostras de leite de vacas com CCS abaixo e acima de 283.000 células mL⁻¹, respectivamente.

Silva *et al.* (2000) observaram uma redução significativa na concentração de lactose no leite com elevada CCS, porém, não houve alteração na concentração de sólidos totais. Essa

redução da lactose ocorreu devida a menor síntese ocasionada pela destruição do tecido secretor, à perda de lactose da glândula para a corrente sanguínea decorrente do aumento da permeabilidade da membrana que separa o leite do sangue e à utilização da lactose pelos patógenos intramamários (SHUSTER *et al.*, 1991).

Machado *et al.* (2000) verificaram que, em amostras colhidas em tanques de expansão, com CCS abaixo de 500.000 células mL⁻¹, o teor médio de sólidos totais correspondia a 12,37%. BRITO e Dias (1998) afirmaram que a presença de mastite acarreta redução na concentração de sólidos totais em intensidade variável entre 3% e 12%. Machado *et al.* (2000) e Silva *et al.* (2000) não verificaram diferença significativa na concentração de sólidos totais à medida que ocorria elevação da CCS.

HA – LA BIOTEC (1994) citado por TRONCO (2003) detectou que o leite com elevada contagem de células somáticas apresenta uma quantidade de sódio 36% maior do que o leite normal, já a quantidade de potássio apresenta 9% menor. KITCHEN (1981) citado por Germano e Germano (2003) encontrou cálcio e potássio 77% e 9% menor em leite com alta CCS que no leite normal respectivamente.

FERNANDES (2008) verificou que o leite cru com elevada CCS utilizado na fabricação de leite UAT (Ultra Alta Temperatura) pode prejudicar a qualidade do produto final, devido, sobretudo, às alterações decorrentes da proteólise. No leite UAT, a proteólise associada ao aumento da CCS promove desestabilização das micelas de caseína, o que pode contribuir para aumentar a susceptibilidade a gelificação.

O leite pasteurizado obtido a partir de leite cru com elevada CCS apresenta aproximadamente três vezes mais lipólise e duas vezes mais hidrólise da caseína quando comparado com o leite contendo baixa CCS. A qualidade sensorial é também comprometida, podendo ter uma vida de prateleira até 30 a 40% mais curta do que o leite de boa qualidade

(MA *et al.*, 2000). Portanto, é evidente a necessidade do controle da CCS no leite cru para evitar o comprometimento da qualidade do produto final.

Vianna *et al.* (2008) verificaram que queijos Prato obtidos a partir de leite cru contendo alta CCS (> 700.000 células mL^{-1}) apresentaram maior umidade quando comparados aos queijos de CCS baixa (< 200.000 células mL^{-1}). Com relação à análise sensorial, que foi avaliada pelos atributos firmeza, sabor e gosto residual amargo, os queijos de baixa CCS apresentaram maior aceitação geral por parte dos provadores.

Marino *et al.* (2005) verificaram um aumento da proteólise no leite e queijo Cheddar adicionado de células somáticas, além da influência na composição química do queijo. As células somáticas resuspendidas em tampão fosfato-salino pH 6,8 foram adicionadas antes da pasteurização do leite e observou-se uma elevada contribuição na atividade proteolítica. Ou seja, a pasteurização reduziu, mas não eliminou a atividade enzimática relacionada com as células somáticas. A adição das células somáticas também pode contribuir para um aumento da umidade do queijo, o principal indicador da qualidade do queijo Cheddar.

De acordo com Andreatta *et al.* (2009), o leite destinado à fabricação de queijo Mussarela deve apresentar CCS até 500.000 células mL^{-1} , de maneira a evitar alterações na qualidade dos produtos ao longo do período de armazenamento.

Segundo Cooney *et al.* (2000), durante o processamento de queijos tipo Suíço, como Emmental e Gruyère, a atividade das proteinases endógenas do leite é claramente aumentada com o aumento da CCS. Além disso, observaram uma diminuição na quantidade de proteína total e maiores perdas de proteínas no soro. O queijo Prato produzido a partir de leite com CCS maior que 500.000 células mL^{-1} apresentou menores teores de caseína e maior taxa de proteólise (MAZAL *et al.*, 2007).

Barbano *et al.* (1991) verificaram uma redução na concentração de caseína do leite com CCS superior a 100.000 células mL⁻¹. A perda de caseína no soro também aumentou durante a fabricação de queijo Cheddar.

A elevada CCS no leite ocasiona alterações no volume de leite produzido e em sua composição, como descrito anteriormente. Sendo assim, o perfil de aminos bioativas no leite também pode sofrer alterações, visto que Motyl *et al.* (1995) demonstraram que a concentração de poliaminas no leite de vaca está diretamente relacionada com o volume de leite produzido.

De acordo com as informações descritas anteriormente, observa-se que o leite com elevada CCS tem todos os elementos desejáveis como caseína, gordura e lactose reduzidos. Além disso, a elevada CCS favorece o aumento da atividade proteolítica em queijos, proporcionando uma redução no rendimento e na vida de prateleira do produto.

Além das alterações acima citadas, pesquisas já foram realizadas para avaliar os efeitos da CCS sobre as características físico-químicas, microbiológicas e sensorias em diferentes tipos de queijos como Cheddar (GRANDISSON e FORD, 1986), queijo Prato (MAZAL *et al.*, 2007; VIANNA *et al.*, 2008), queijo Cottage (KLEI *et al.*, 1998) e queijos Mussarela e Minas Frescal (ANDREATTA *et al.*, 2007; COELHO, 2007; ANDREATTA *et al.*, 2009). No entanto, mais estudos são necessários para verificar a existência de correlação entre aminos bioativas e os teores de células somáticas e a qualidade de leite e queijos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostragem

O leite foi ordenhado de 73 búfalas mestiças pertencentes a duas propriedades do município de Autazes, AM. Os animais foram selecionados de acordo com os seguintes critérios: estágio de lactação superior a 10 dias; não estava em tratamento por antibióticos, respeitando o período de carência da base terapêutica empregada. As búfalas foram ordenhadas manualmente, pela manhã e foi retirada uma amostra de leite (20 mL) da produção de cada búfala.

As amostras de leite foram acondicionadas em frasco de plástico estéril contendo uma pastilha de Bronopol[®] (D e F Control Systems, CA, EUA). Após a dissolução das pastilhas as amostras foram transportadas, sob condições isotérmicas, em caixas contendo gelo, até o Laboratório do Leite do Centro Universitário UNIVATES para realização da análise da composição e CCS do leite obtido.

3.2 Análise da composição e contagem de células somáticas

A análise da composição, tal como a contagem de células somáticas, foi realizada por espectrofotometria associado à citometria de fluxo, utilizando o equipamento Bentley Combi System 2300[®] (Bentley Instruments Incorporated[®], Chaska, EUA), composto por uma unidade do equipamento Bentley 2000[®] e uma do equipamento Somacount 300[®], calibrado para analisar leite bovino (COELHO *et al.*, 2004).

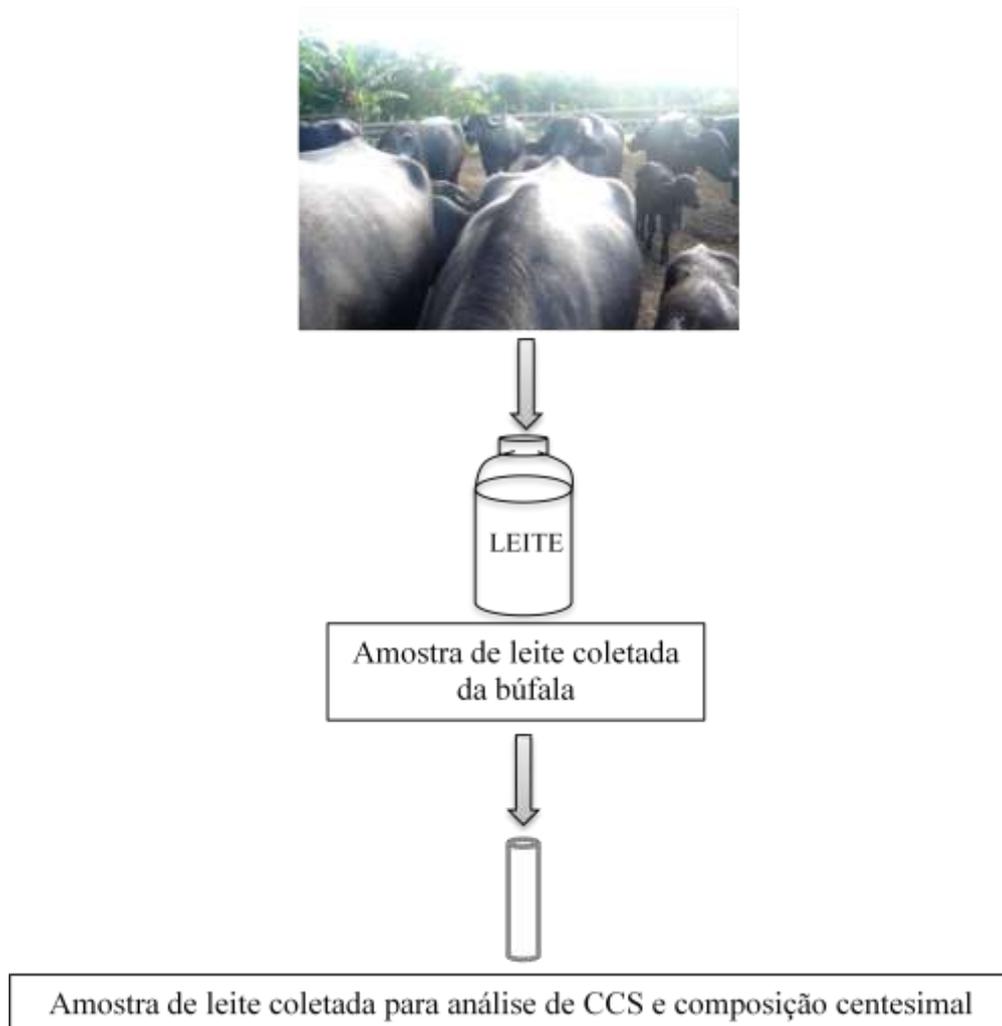


Figura 5. Desenho esquemático do procedimento de amostragem para a realização dos procedimentos analíticos.

3.3 Produção de queijo coalho de búfala

Em função da contagem de células somáticas os animais foram divididos em dois grupos de leite de búfalas: Intervalo 1 ($CCS < 400.000 \text{ células mL}^{-1}$) e Intervalo 2 ($CCS > 400.000 \text{ células mL}^{-1}$) para a obtenção do leite necessário para a fabricação do queijo.

Sete dias após a primeira coleta de amostras, as búfalas escolhidas foram submetidas à ordenha manual pela manhã, sendo que cada grupo foi ordenhado separadamente. O leite de cada grupo de búfalas foi colhido em galões de polipropileno higienizados, com capacidade para 50 litros, de onde foi retirada uma amostra (20 mL), a qual foi acondicionada em frasco

de plástico estéril contendo uma pastilha de Bronopol[®], para a realização da análise da composição e CCS. Os galões foram transportados imediatamente a Fábrica de Laticínios Autalac, localizada no município de Autazes, Amazonas, Brasil. Este procedimento foi realizado durante três dias consecutivos para a obtenção de dois queijos por dia, sendo um queijo de cada grupo de búfalas.

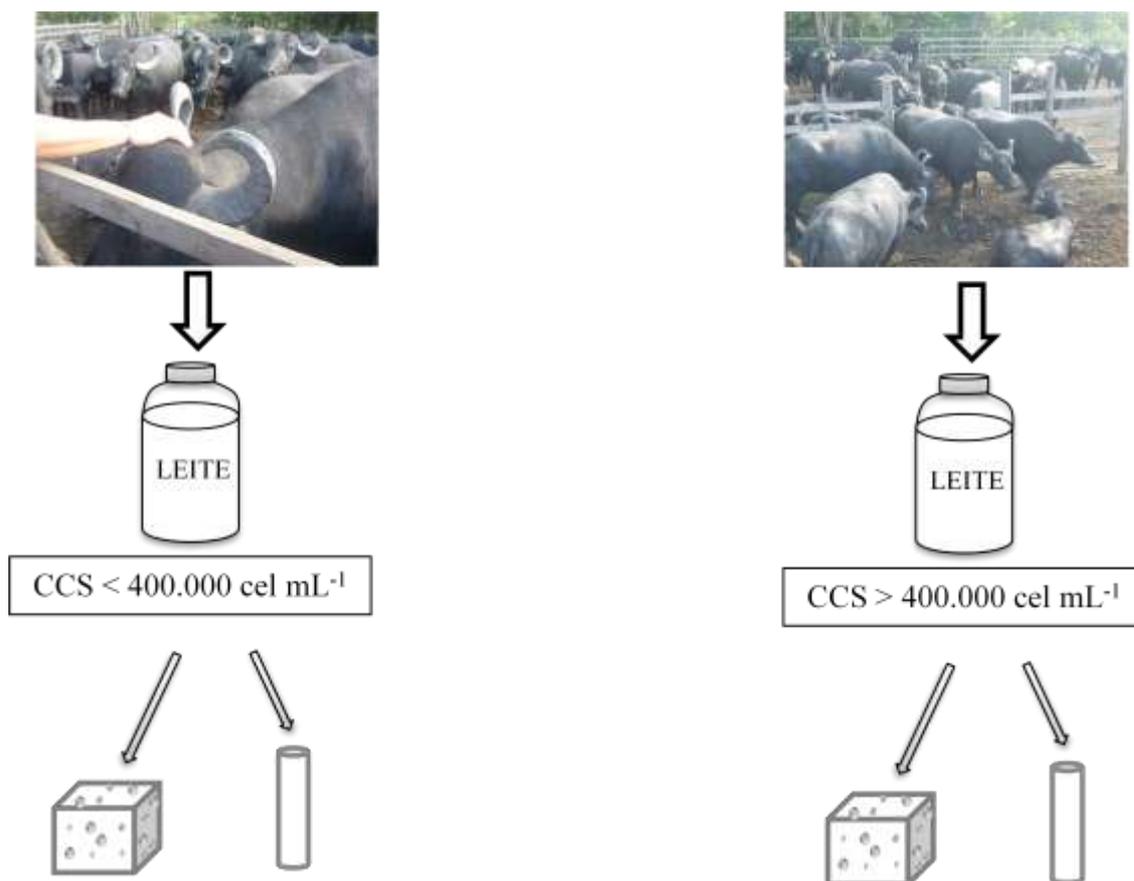


Figura 6. Desenho esquemático do procedimento de amostragem para a produção dos queijos coalho.

Os queijos de coalho foram produzidos, segundo a técnica descrita por Cavalcante (2007), a qual consistiu de pesagem do leite, pasteurização, adição de solução de cloreto de cálcio 50%, adição de solução de coalho em pó conforme recomendação do fabricante, coagulação, corte da coalhada, dessoragem, salga, enformagem, prensagem, pesagem, embalagem e armazenamento.

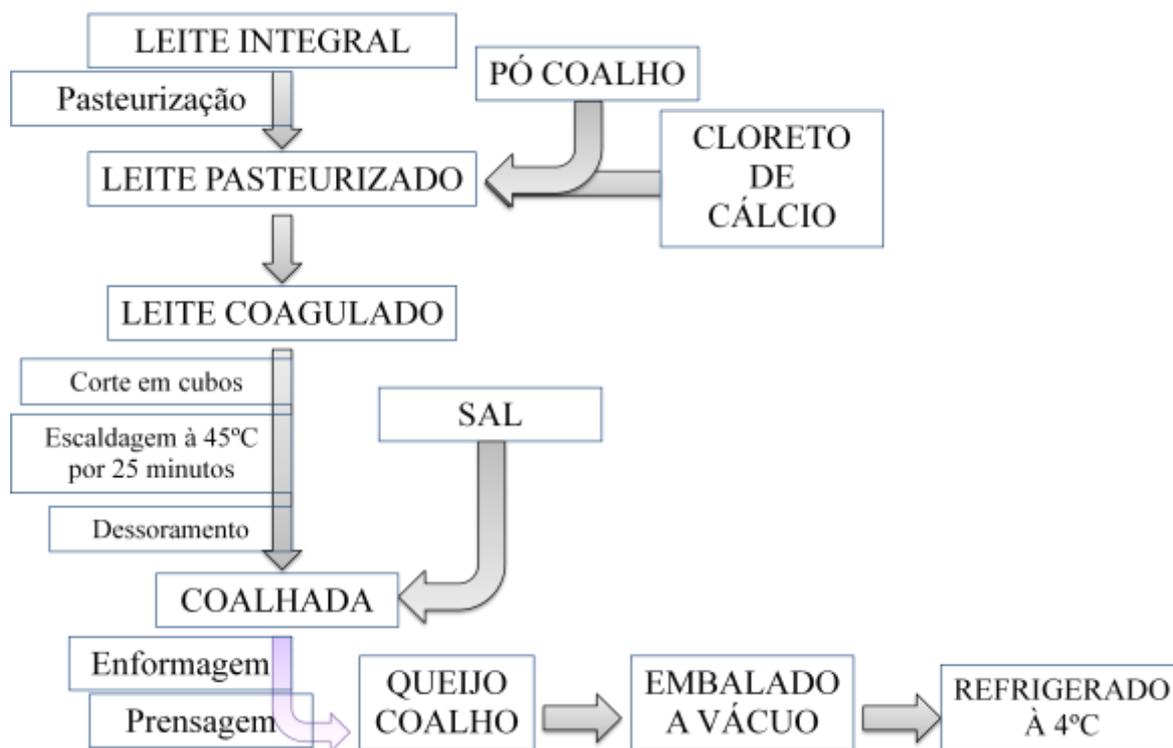


Figura 7. Desenho esquemático do processo de fabricação do queijo coalho.

3.4 Obtenção do rendimento de queijo

O rendimento bruto da obtenção dos queijos nos diferentes tratamentos, foi determinado de acordo com Yunes e Benedet (2000), através da fórmula:

$$R(\%) = \frac{Pq}{Pf} \times 100$$

Onde: R = rendimento; Pq = peso do queijo terminado; Pf = peso da formulação (leite acrescido dos ingredientes).

3.5 Análises estatísticas

Foram avaliadas as correlações entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e sólidos totais (ST) utilizando o programa Statistical Analysis System (RANGEL *et al.* 2009).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os percentuais médios de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite, de acordo com o intervalo da CCS, encontram-se na Tabela 3. Nas 73 amostras analisadas, a CCS variou de 4.000 a 1.311.000 células mL⁻¹. Observando os teores médios de gordura nos diferentes intervalos da CCS, notou-se que no intervalo 2 (n=6), o teor de gordura foi significativamente maior do que no intervalo 1 (n=6). Isso foi diferente do observado em trabalhos, que em leite bovino relataram a ocorrência de redução do teor de gordura conforme aumento da CCS (HARMON, 1994; AULDIST *et al.*, 1995; BRITO e DIAS, 1998). E em leite de búfalas, que não foi encontrada correlação entre a CCS e o teor de gordura do leite (JORGE *et al.*, 2005; TRIPALDI *et al.* 2010; BARRETO *et al.*, 2010). Porém, a diferença observada, assemelha-se aos resultados de trabalhos que mencionaram maior concentração de gordura no leite de vacas com mastite que no leite de vacas sadias (PEREIRA *et al.*, 1999; COELHO, 2007).

Intervalos de CCS	Gordura	DP	Proteína	DP	Lactose	DP	ST	DP
1 (< 400.000 células mL ⁻¹)	5,78 ^b	1,25	4,26 ^a	0,36	5,19 ^a	0,26	16,22 ^a	2,86
2 (> 400.000 células mL ⁻¹)	7,33 ^a	0,92	4,56 ^a	0,25	4,63 ^b	0,40	17,44 ^a	0,79

Médias seguidas por letras minúsculas iguais na mesma coluna não diferem entre si.

DP = desvio padrão. ST = sólidos totais;

Tabela 3. Percentuais médios de gordura, proteína, lactose e sólidos totais do leite, de acordo com o intervalo da contagem de células somáticas (CCS) de amostras analisadas, no município de Autazes-AM.

A alta CCS altera a permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula mamária e reduz a secreção dos componentes do leite (proteína, gordura e lactose). No entanto, quando a diminuição da produção ocorre de maneira mais acentuada que a síntese, o teor de gordura sofre um aumento proporcional, o que pode ter ocorrido no presente estudo (MACHADO *et al.*, 2000).

Os trabalhos enfocando a relação entre a contagem de células somáticas e o teor de proteína são contraditórios. Pereira *et al.* (1999) observaram que o teor de proteína era maior

em amostras de leite de vacas provenientes de tanques com CCS superior a 283.000 células mL⁻¹, enquanto outros autores observaram que a partir de 500.000 células mL⁻¹ ocorria uma redução do teor de proteína (BUENO *et al.*, 2005; MACHADO *et al.*, 2000).

Pode-se verificar na Tabela 3 que o teor médio de proteína total não houve diferença significativa entre os intervalos de células somáticas. No leite de búfalas, não há correlação entre a CCS e os teores de proteína bruta no leite (RANGEL *et al.*, 2009; BARRETO *et al.*, 2010; TRIPALDI *et al.*, 2010).

Em relação à lactose, observa-se na Tabela 3 que, a concentração foi significativamente menor ($p < 0,05$) para o intervalo 2. Os valores encontrados foram de 4,63 e 4,95% para o intervalo 2 e o intervalo 1, respectivamente. Os resultados do presente estudo foram semelhantes aos trabalhos que observaram correlação significativa negativa da concentração de lactose no leite de búfalas conforme o aumento da CCS (SINGH e LUDRI, 2001; CERON-MUÑOZ *et al.*, 2002; TRIPALDI *et al.*, 2010).

Em relação ao teor de sólidos totais, há trabalhos que relataram uma tendência de redução do teor de sólidos totais à medida que a CCS aumentava, no entanto sem diferença significativa (BRITO e DIAS, 1998). Na Tabela 3 do presente estudo, observa-se que a concentração de sólidos totais aumentou conforme o aumento da CCS, porém a diferença não foi significativa. A concentração de sólidos totais é influenciada pelo aumento significativo do teor de gordura no leite conforme o aumento de CCS, uma vez que, os lipídeos constituem uma fração dos sólidos totais do leite (RIBAS *et al.*, 2004). Isso explica a correlação positiva mostrada na Tabela 4, diferente do que ocorreu nos trabalhos que não encontraram diferença no teor de sólidos totais conforme o aumento da CCS (SILVA *et al.*, 2000; COELHO, 2007).

Na Tabela 4 observa-se a confirmação dos dados apresentados na Tabela 3, o coeficiente de correlação entre a CCS e o teor de lactose (n=73) foi significativo (-0,45). A redução na porcentagem de lactose pode ser explicada pela perda de lactose da glândula

mamária para o sangue, devido a mudanças na permeabilidade da membrana da glândula mamária (MACHADO *et al.*, 2000).

Associação	<i>P</i>	R	<i>r</i> ₂
CCS x gordura	0.0202*	0.2713	0,0736
CCS x proteína	0.0802	0.2061	0,0424
CCS x lactose	0.0001*	-0.4475	0,2002
CCS x sólidos totais	0.0183*	0.2755	0,0759

* Correlação significativa ($p < 0,05$).

Tabela 4. Análise de correlação (*r*), probabilidade (*P*) e coeficiente de determinação (*r*₂) entre a Contagem de Células Somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e sólidos totais em 73 amostras de leite de búfalas.

Em relação ao rendimento de queijo ($n=3$), com base na Tabela 5, calculamos que foi necessário uma maior quantidade de leite com CCS superior a 400.000 células mL⁻¹ (4,446 kg) para a produção de um quilograma de queijo coalho, comparado ao leite contendo CCS inferior a 400.000 células mL⁻¹ que apresentou um rendimento de 4,241 kg de leite por quilograma de queijo coalho. O queijo Minas Frescal produzido com leite de vaca contendo mais de 400.000 células mL⁻¹ apresenta menor rendimento quando comparado ao queijo produzido com leite contendo até 200.000 células mL⁻¹ (ANDREATTA *et al.*, 2009). Em um estudo, o rendimento em kg L⁻¹ de leite utilizado na produção de queijo Mussarela processado com leite de vaca contendo CCS superior a 600.000 células mL⁻¹ teve um decréscimo de 13,4% em relação ao queijo elaborado com CCS inferior ou igual a 600.000 células mL⁻¹ (COELHO, 2007).

CCS	Rendimento
< 400.000 células mL ⁻¹	23,41%
> 400.000 células mL ⁻¹	22,33%
Variação	1,08%

]Tabela 5. Rendimento de queijo coalho nos diferentes intervalos de contagem de células somáticas (CCS) do leite.

No presente trabalho, houve uma perda de 1,08% na produção de queijo coalho processado com leite contendo CCS acima de 400.000 células mL⁻¹ em relação ao queijo processado com leite contendo CCS abaixo de 400.000 células mL⁻¹. A perda foi considerada bem inferior a que ocorreu no trabalho de Coelho (2007), isto pode ser explicado, devido o aumento significativo do teor de gordura no leite com CCS superior a 400.000 células mL⁻¹, pois os glóbulos de gordura são retidos na massa e juntamente com a caseína participam decisivamente no rendimento de queijos fabricados com leite de búfalas (AMARAL *et al.*, 2005; ROSA *et al.*, 2010).

A perda é significativa, pois, quando transformada em valores de moeda brasileira, considerando o preço médio/kg de leite de búfala da região (R\$ 1,50), significaria uma perda de aproximadamente R\$ 307,50/t de queijo produzido com leite contendo CCS > 400.000 células mL⁻¹.

A perda de rendimento se deve, principalmente, a menor quantidade de caseína recuperada durante o processo de fabricação. A relação caseínas solúveis/caseínas micelares aumenta no leite com CCS alta devido, sobretudo, à passagem da β -caseína da fração micelar para a fração solúvel. Esse trânsito refere-se também às frações κ - e α -caseínas, porém, em menor proporção (AMARAL *et al.*, 2005; ROSA *et al.*, 2010). A caseína solúvel é mais susceptível à proteólise e, portanto, uma menor quantidade de caseína será incorporada ao retículo durante a formação do coágulo, prejudicando o rendimento do produto (MAZAL *et al.*, 2007).

5 CONCLUSÕES

Conforme o aumento da contagem de células somáticas ocorre o aumento do teor de gordura e sólidos totais, e a redução do teor de lactose na composição do leite de búfalas.

Queijos de coalho produzidos com leite bubalino contendo CCS superior a 400.000 células mL⁻¹ apresentam rendimento inferior que os queijos produzidos com leite bubalino contendo CCS abaixo de 400.000 células mL⁻¹.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARAL, F. R. *et al.* Qualidade do leite de búfalas: composição. *Rev Bras Reprod Animais*, Belo Horizonte, v.29, n.2, p.106-110, abril/jun. 2005.

ANDRADE, L.M. *et al.* Efeitos genéticos e de ambiente sobre a produção de leite e a contagem de células somáticas em vacas holandesas. *R. Bras. Zootec.*, v. 36, p. 343-349, 2007.

ANDREATTA, E. *et al.* Effects of milk somatic cell count on physical and chemical characteristics of mozzarella cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, v.62, p.166, 170, 2007.

ANDREATTA, E. *et al.* Quality of minas frescal cheese prepared from milk with different somatic cell counts. *Pesq. Agropec. Bras*, v.44, p.320-326, 2009.

AULDIST, M. J. *et al.* Changes in the compositional of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Melbourne, v.35, n.4, p.427-436, 1995.

BARBANO, D. M.; RASMUSSEN, R. R.; LYNCH, J. M. Influence of milk somatic cell count and milk age on cheese yield. *J. Dairy Sci.*, v. 74, p. 369-388, 1991.

BARRETO, M. L. J. *et al.* Análise de correlação entre a contagem de células somáticas (CCS), a produção, o teor de gordura, proteína e extrato seco total do leite bubalino. *Agropecuária científica no semi-árido*. v. 06, p.47-53, 2010.

BASTOS, P. A. S. *Constituição físico-química, celular e microbiológica do leite de búfalas (Bubalus bubalis) criadas no Estado de São Paulo*. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Clínica Médica, 2004.

BENTLEY 2000. *Operator's manual*. Chaska: Bentley Instruments, 1997. 77p.

BRAGA, G. C. *et al.* Contagem de células somáticas em leite formal de produtores de Marechal Cândido Rondon – PR. *Arch. Vet. Sci.*, v. 11, p. 80-85, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa n. 62 de 29 de dezembro de 2011*. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 30 dez. Seção 1. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa n. 51 de 18 de setembro de 2002*. Dispõe sobre regulamentos técnicos aplicados ao leite cru e pasteurizado. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1. 2002

BRITO, J. R. F.; DIAS, J. C. *A qualidade do leite*. Embrapa/Tortuga, Juiz de Fora, 1998. 98p

BRITO, J.R.F. Células somáticas no leite: uma revisão. *CBLQ em Revista* v. 1, p. 1117, 2003.

BUENO V.F.F. *et al.* Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.35, n.4, p.848-854, 2005.

CARVALHO, G.L.O. *et al.* Avaliação dos componentes do leite e contagem de células somáticas de rebanhos bovinos localizados na microrregião de Ji-Paraná, Rondônia. In: IV Congresso Brasileiro da Qualidade do Leite. Florianópolis, 2010.

CAVALCANTE, J.F.M. *et al.* Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, v.27, n.1: 205-214, 2007.

CERON-MUÑOZ, M. *et al.* Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *Journal of Dairy Science*, 85:2885-2889. 2002.

COELHO, K. O. *Efeito do nível de células somáticas no leite sobre o rendimento de queijo tipo mussarela.* 2007. 56f. Tese de Doutorado. Escola de Veterinária - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás.

COELHO, K. O. *et al.* Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automáticos. *Ciência Animal Brasileira*, 5:167-170. 2004.

COONEY, S.; TIERNAN, D.; JOYCE, P.; KELLY, A. Effect of somatic cell count and polymorphonuclear leucocyte content of milk on composition and proteolysis during ripening of Swiss-type cheese. *J. Dairy Res.*, v. 67, p. 301-307, 2000.

CUNHA, R.P.L. *et al.* Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas Holandesas. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 60, p.19-24, 2008.

DE FRANCISCIS G, DI PALO R. *Buffalo milk production.* In: World Buffalo Congress, 4, São Paulo, SP. Proceedings ... São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos. p.137-145. 1994.

DUBEY, P.C. *et al.* Factors affecting composition of milk of buffaloes. *Indian J Anim Sci*, v.67, p.802-804, 1997.

EVANGELISTA, D. T.. *Comparação entre métodos de referência e eletrônico por citometria de fluxo na contagem bacteriana total (CBT) e de células somáticas (CCS) em leite submetido a diferentes tratamentos térmicos.* 2008. 55f. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.

FERNANDES, A.M. *et al.* Casein fractions of ultra high temperature milk with different somatic cell counts. *Pesq. Agropec. Bras.*, v. 43, p.149-152, 2008.

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

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. *Higiene e Vigilância sanitária de alimentos.* 2ª ed. São Paulo, 2003.

GRANDISSON, A.S; FORD, G.D. Effects of variations in somatic cell count on the rennet coagulation properties of milk and on the yield composition and quality of Cheddar cheese. *J. Dairy Res.*, v. 53, p. 645-655, 1986.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HARMON, R. J.; RENEAU, J. K. Factors affecting somatic cell counts in milk. In: MAGALHÃES, H.R. et al. Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. *R. Bras. Zootec.*, v. 35, p. 415-421, 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. 2006. Disponível em: <www.ibge.gov.br> Acesso em 25 de julho de 2010.

ITAMBÉ. TESTE WMT: *Determinação estimada de CCS*. Disponível em <http://www.itambe.com/Cmi/Pagina.aspx?2250>. Acesso em 20 de maio de 2011.

JORGE, A. M. *et al.* Correlação entre o California Mastitis Test (CMT) e a Contagem de Células Somáticas (CCS) do leite de búfalas Murrah. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 34:2039-2045. 2005.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis milk compositional changes and related diagnostic tests. *J. Dairy Res.*, v. 48, p. 167188, 1981.

KLEI, L. *et al.* Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. *J. Dairy Sci.*, v. 81, p. 1205-1213, 1998.

LACERDA, L. M.; MOTA, R. A.; DE SENA, M. J. Contagem de células somáticas, composição e contagem bacteriana total do leite de propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú – Mirim e Santa Rita, Maranhão. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.77, p.209-215, 2010.

LANGONI, H. *Estudos sobre contagem de células somáticas (CCS) no Brasil – Uma revisão*. In: *Perspectiva e Avanços da qualidade do leite no Brasil*, Anais de Congresso, Goiânia, 2006.

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.

LOPES, F. A. *Caracterização da Produtividade e da Qualidade do Leite de Búfalas na Zona da Mata Sul de Pernambuco*. 2009. 48f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Pernambuco.

MA, Y. *et al.* Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.*, v. 83, p. 264-274, 2000.

MACEDO, M. P. *et al.* Composição físico-química e produção do leite de búfalas da raça Mediterrâneo no Oeste do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. Viçosa. v. 30, n. 3. sup. 1, 2001.

MACHADO, P. F. M.; PEREIRA, A. R.; SARRIES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.29, p.2765-3768, 2000.

MAGALHÃES, H. R. *et al.* Influência de fatores de ambiente sobre a contagem de células somáticas e sua relação com perdas na produção de leite de vacas da raça Holandesa. *R. Bras. Zootec.*, v.35, n.2, p.415-421, 2006.

MARINO, R. *et al.* Contribution of proteolytic activity associated with somatic cells in milk to cheese ripening. *Int. Dairy J.*, v.15, p. 1026-1033, 2005.

MARSHALL, R.T. *Standard methods for the examination of dairy products*. Baltimore: American Public Health Association, 1992. 546p.

MATIOLI, G.P. *Influência da contagem de células somáticas na qualidade do leite e nas propriedades do queijo Minas Padrão ao longo da maturação*. 2005. 100f.Tese (Doutorado). Lavras: Universidade Federal de Lavras.

MAZAL, G. *et al.* Effect of somatic cell count on Prato cheese composition. *J. Dairy Sci.*, v. 90, p. 630-636, 2007.

MESQUITA, A. J. *et al.* *Qualidade físico-química e microbiológica do leite cru bubalino*. Goiânia: Universidade Federal de Goiás/CEGRAF, 2002. 75p.

MOTYL, T. *et al.* Polyamines in cow's and sow's milk. *Comp. Biochem. Physiol.*, v. 111B, p. 427-433, 1995.

MURPHY, S.C. Influence of bovine mastitis on lipolysis and proteolysis in milk. *J. Dairy Sci.*, v. 72, p. 620-626, 1989.

NASCIF JR., I.A. *Diagnóstico da mastite subclínica bovina pela condutividade elétrica do leite, CMT e contagem de células somáticas: influência das estações do ano, fases da lactação e ordenhas da manhã e da tarde*. Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista, 2001. 47f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista.

NORO, G. *et al.* *Fatores ambientais que afetam a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas na região Noroeste do Rio Grande do Sul: 1. células somáticas*. In: DÜRR, J.W. *et al.* O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo : Universitária. p.141-145. 2004.

PATEL, D. A.; SILVA, C. V.; SANNABHADTI, S. S. Sources of microbial contamination of raw Milk. *Indian Journal of Dairy Science*, v. 6, n. 2, p. 67-70, 1993.

PAULA, M.C. *et al.* Contagem de células somáticas em amostras de leite. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.33, n.5, p.1303-1308, 2004.

PEREIRA, A.R. *et al.* Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite I – gordura e proteína. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.36, n.3, p.429-433, 1999.

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

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

RANGEL, A. H. N. *et al.* Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. *Revista verde*, 4:57-60. 2009.

RIBAS, N. P. *Importância da contagem de células somáticas para a saúde da glândula mamária e qualidade do leite*. In: INTERLEITE – SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. Anais... São Paulo, São Paulo, 77-87. 1999.

RIBAS, N. P. *et al.* Sólidos Totais do leite em amostras de Tanque nos Estados do Paraná, Santa Catarina e São Paulo. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 33:2343-2350. 2004.

RIBEIRO, M.E.R. *et al.* Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteira na região sul do Rio Grande do Sul. *R. Bras. Agrociência*. v. 9, p. 287-290, 2003.

RIGUEIRA, J. C. S. *Influência da contagem de células somáticas no perfil de aminos bioativas e na qualidade do leite cru e queijo mussarela*. 2010. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia – Belo Horizonte.

ROSA, L. S.; Queiroz, M. I.; Augusto, M. M. M. Efeito da pré-fermentação e ultrafiltração nas características físico-químicas do queijo tipo prato. *Alimentação e Nutrição*. 21:119-128. 2010.

RUEGG, P.L. Relationship between bulk tank milk somatic cell count and antibiotic residues. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings: National Mastitis Council, p. 28-35, 2005.

SANTOS, M.V. *Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e derivados lácteos*. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DA MASTITE, 2., Ribeirão Preto. Anais... Ribeirão Preto: p.179-188. 2002.

SANTOS, M.V.; MA, Y.; BARBANO, D.M. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. *J. Dairy Sci.*, v. 86, p. 2491-2503, 2003a.

SANTOS, M. V. *et al.* Sensory threshold of off-flavors caused by proteolysis and lipolysis in milk. *J. Dairy Sci.*, v. 86, p. 1601-1607, 2003b.

SCHALM, O. W.; NOORLANDER, D.O. Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *Journal of American Veterinary Medical Association*, v.130, n.5, p.199, 1957.

SCHUKKEN, Y. H. *et al.* Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.*, v. 34, p.579-596, 2003.

SHUSTER, D.E. *et al.* Suppression of milk production during endotoxin-induced mastitis. *J. Dairy Sci.*, v. 74, p. 3763-3774, 1991.

SILVA, L.F.P.; PEREIRA, A. R.; MACHADO, P. F.; SARRIÉS, G. A. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite II – lactose e sólidos totais. *Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v.37, n.4, p.330-333, 2000.

SILVEIRA, T.M.L. *Comparação dos métodos de referência e de análise eletrônica na 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.

SILVEIRA, T.M.L. *et al.* Comparação entre os métodos de referência e a análise eletrônica na determinação da composição do leite bovino. *Arq. Bras. Med. Vet.*, v. 56, p. 782-787, 2004.

SINGH, M.; LUDRI, R. S. Somatic cell counts in Murrah buffaloes (*Bubalus bubalis*) during different stages of lactation, parity and season. *Asian-Australian Journal Animal Science*. 14:189-192. 2001.

SOMERS, J. *et al.* Heterogeneity of proteolytic enzyme activities in milk samples of different somatic cell count. *J. Dairy Res.*, v. 70, p. 45-50, 2003.

SOUZA, G. N. *et al.* Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento sobre a contagem de células somáticas no leite. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 57, p. 830-834, 2005.

SOUZA, G. N. *et al.* *Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na região sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, janeiro/2007 a junho/2008*. <http://www.terraviva.com.br/cliقة/IIIcbql.pdf>. Acesso em: 25 julho de 2011.

TEIXEIRA, N. M.; FREITAS, A. F.; BARRA, R. B. Influência de fatores de meio ambiente na variação mensal da composição e contagem de células somática do leite em rebanhos do estado de Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v. 55, p. 491-499, 2003.

TOLEDO, L. T. *et al.* *Produção e composição físico-química do leite de búfalas na região do Vale do Ribeira, Estado de São Paulo*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35, 1998, Botucatu. Anais...Botucatu: SBZ, p.282-284. 1998

TRIPALDI, C. *et al.* Effects of mastitis on buffalo milk quality. *Asian-Australian Journal Animal Science*. 23:1319–1324. 2010.

TRONCO, V. M. *Manual para inspeção da qualidade do leite*. 2ª ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2003.

VERRUMA MR, SALGADO JM. Análise química do leite de búfala em comparação ao leite de vaca. *Sci Agric*, v.51, p.131-137, 1994.

VIANNA, P.C.B. *et al.* Microbial and sensory changes throughout the ripening of Prato cheese made from milk with different levels of somatic cells. *J. Dairy Sci.*, v.91, 1743-1750, 2008.

WELLNITZ, O. *et al.* Prediction of total quarter milk somatic cell counts based on foremilk sampling. *J. Dairy Res.*, v. 76, p. 326-330, 2009.

WHIST, A.C.; OSTERA, O.; SOLVEROD, L. Association between isolation of *Staphylococcus aureus* one week after calving and milk yield, somatic cell count, clinical mastitis, and culling through the remaining lactation. *J. Dairy Res.*, v. 76, p.24-35, 2009.

WICKSTRÖM, E. *et al.* Relationship between somatic cell count, polymorphonuclear leucocyte count and quality parameters in bovine bulk tank milk. *J. Dairy Res.*, v. 76, p.195-201, 2009.

YUNES, V . M. BENEDET , H. D. Desenvolvimento experimental de queijo fresco de leite da espécie bubalina. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 20, n. 3, p. 285-90, 2000.