

# Avaliação do número de células somáticas do leite de bovinos da raça Jersey durante o primeiro mês de lactação

Raquel Fraga Silva  
 RAIMONDO<sup>1</sup>  
 Fabio Celidonio POGLIANI<sup>1</sup>  
 Fernanda Cavallini CYRILLO<sup>1</sup>  
 Juliana Silva NOGUEIRA<sup>1</sup>  
 Eduardo Harry BIRGEL  
 JUNIOR<sup>1</sup>

1 - Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, São Paulo-SP

## Resumo

Com a finalidade de estabelecer os valores de referência da contagem de células somáticas do leite de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo, durante o primeiro mês de lactação, bem como avaliar a influência da fase colostrar, examinaram-se 418 amostras de leite, provenientes de quartos mamários sadios e sem crescimento bacteriano. O leite foi colhido assepticamente antes da ordenha e a contagem de células somáticas foi determinada por citometria de fluxo e pelo Teste do CMT. Demonstrou-se a significativa influência do primeiro mês de lactação sobre a contagem de células. Verificou-se que a transição da secreção de colostro para leite em relação ao número de células somáticas está finalizado a partir do 15º dia de lactação, sendo recomendado a adoção dos seguintes valores de referência: no colostro, obtidos nas primeiras 24 horas de lactação entre 472.405 e 2.003.921 células/ml, no período compreendido do 2º ao 15º dia de lactação valores entre 103.920 e 1.298.361 células/ml e a partir do 15º dia de lactação entre 37.714 e 205.549 células/ml.

**Palavras-chave:**  
 Leite.  
 Células somáticas.  
 Bovinos.  
 Raça Jersey.  
 Fase colostrar.

**Correspondência para:**  
 Eduardo Harry Birgel Junior - Av. Profº Dr. Orlando Marques de Paiva 87 Cidade Universitária Armando Salles de Oliveira 05508-900 São Paulo – SP, ehbirgel@usp.br

Recebido para publicação: 25/08/2006  
 Aprovado para publicação: 07/03/2008

## Introdução

A influência da fase colostrar e do primeiro mês de lactação no número de células somáticas foi objetivo de estudos de inúmeros autores<sup>1-17</sup> sendo opinião consensual que durante a fase inicial da lactação, principalmente, durante o período no qual a secreção colostrar é gradativamente substituída pela secreção de leite, ocorre significativa diminuição do seu número. O tempo de transição de colostro para leite é controverso, autores relatam que pode ocorrer entre 3º e o 5º dia de lactação<sup>18</sup>, enquanto que outro autor considerou que até a 3ª ordenha a mama produziria colostro e que entre a 5ª e 7ª ordenha produziria uma secreção por ele denominada de leite de transição. Essas intensas modificações na composição do leite geraram recomendações de adoção de valores de referência, especialmente determinados para a primeira semana de lactação.<sup>3</sup>

Apesar da considerável evolução dos

conhecimentos de patologia clínica do leite nas últimas décadas, a análise da literatura evidenciou que praticamente não existem estudos com o objetivo de avaliar as características do leite de bovinos da raça Jersey.<sup>18,19,20,21,22</sup> Neste contexto, somente um estudo foi desenvolvido com o intuito de avaliar a celularidade do leite de bovinos desta raça.<sup>23</sup> Estes fatos evidenciam que não foram estabelecidos, ainda, os padrões de referência para diversos constituintes do leite de vacas sadias da raça Jersey.

O presente estudo teve a finalidade de avaliar a influência da fase colostrar nas características celulares do leite, utilizando o *California Mastitis Test* - CMT e a contagem do número de células somáticas, de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo, procurando estabelecer os valores de referência das mencionadas variáveis durante a fase colostrar e avaliar a influencia dos 30 primeiros dias da lactação.

## Material e Método

Foram utilizadas 418 amostras de leite sem isolamento bacteriano no exame microbiológico proveniente de 127 vacas. As amostras de secreção láctea foram agrupadas em oito momentos de acordo com a fase de lactação em que se encontravam, conforme discriminado na tabela 1.

O material utilizado foi colhido em três propriedades situadas no Estado de São Paulo, sendo as vacas mantidas em sistema de criação semi-extensivo no qual os animais recebiam volumoso, com suplementação de silagem e concentrado comercial. Nas três propriedades adotava-se o sistema de ordenha mecânica. Antes da ordenha era realizada a higiene do úbere por meio da imersão dos tetos em solução anti-séptica a base de cloro, a seguir secados com toalha de papel ou a higiene do úbere era realizada através de pano com solução anti-séptica. Após a ordenha, os tetos eram novamente imersos em uma solução anti-séptica a base de iodophor.

A seleção das glândulas mamárias foi baseada no exame clínico e no histórico das mesmas, não sendo utilizados aquelas que apresentaram episódios recorrentes de

mamite, alterações das características macroscópicas do leite, como presença de grumos, detectadas na prova do fundo escuro, ou que na palpação da glândula mamária, realizada após a ordenha, apresentaram alterações de consistência que pudessem estar relacionadas à existência de processo inflamatório agudo ou crônico, conforme as recomendações de Birgel<sup>24</sup>.

A colheita das amostras foi realizada na sala de ordenha imediatamente antes da ordenha do animal. Após os procedimentos rotineiros de preparo dos animais para a ordenha fazia-se a assepsia da extremidade do teto, particularmente, do orifício do teto utilizando um chumaço de algodão embebido em álcool 70 % de acordo com os padrões recomendados em boletim da *International Dairy Federation*<sup>25</sup>. Após essa assepsia, outros dois ou três jatos de leite eram desprezados, de tal forma a garantir que o leite acumulado nas cisternas do teto e da glândula, no período entre as ordenhas fosse totalmente desprezado, para então se fazer a colheita do material em alíquotas destinadas ao exame microbiológico e a avaliação do número de células do leite.

Para o exame microbiológico foram colhidos, de forma asséptica, cerca de 5 ml de leite, em frascos de vidro, estéreis. Essas

**Tabela 1** - Constituição dos grupos experimentais para estabelecer os valores de referência e avaliação da fase colostrar no número de células somáticas do leite de bovinos da raça Jersey criados no Estado de São Paulo-São Paulo-2006

Grupo Experimental	Fase da Lactação	Número de Quartos	Número de animais
A	0 —  12 horas	27	11
B	12 —  24 horas	41	11
C	1 —  2 dias	47	15
D	2 —  3 dias	50	14
E	3 —  5 dias	86	25
F	5 —  7 dias	48	13
G	7 —  15 dias	62	21
H	15 —  30 dias	57	17
<b>Total de amostras</b>		<b>418</b>	<b>127</b>

amostras foram acondicionadas em caixas de isopor refrigeradas durante o transporte ao laboratório e congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$  no mesmo dia da colheita, sendo o exame microbiológico realizado no laboratório de Microbiologia do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Após a colheita do material para o exame microbiológico foram colhidas amostras de 50 ml em frascos de plástico para a realização do *California Mastitis Test-CMT*. A seguir essas amostras eram acondicionadas em caixas de isopor refrigeradas com gelo reciclável durante o transporte, até o momento de serem processadas e analisadas nos Laboratórios do Centro de Pesquisa e Diagnóstico de Enfermidades de Ruminantes – CPDER do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sendo os exames concluídos antes de 12 horas de conservação.

Na seqüência para a contagem do número de células somáticas cerca de 40ml de leite foram colhidos em frascos de plásticos contendo pastilhas do conservante bronopol (2-bromo 2-nitropropano - 1,3-diol), mantidas a temperatura ambiente, que foram enviados para o Laboratório de Fisiologia da Lactação do Centro de Tecnologia para o Gerenciamento da Pecuária de Leite - Departamento de Produção Animal da ESALQ - USP Piracicaba, onde as análises foram realizadas em até sete dias após a colheita.

Para a contagem do número de células somáticas as amostras de leite, antes do início da análise, foram mantidas em banho-maria a  $38^{\circ}\text{C}$ , durante 15 minutos, e a seguir, homogeneizadas, manualmente, sendo a contagem de células somáticas realizada por citometria de fluxo, utilizando-se o equipamento SOMACOUNT 500.

Para a realização da prova do CMT utilizou-se o reativo de CMT (FATEC®), sendo a prova realizada e interpretada obedecendo as normas preconizadas por

Schalm, Carroll e Jain<sup>16</sup>.

As amostras para o exame microbiológico, após serem descongeladas, foram semeadas em meio de ágar-sangue de ovino desfibrinado e incubadas a  $37^{\circ}\text{C}$ , sendo realizadas leituras com 24, 48 e 72 horas de incubação. Os exames bacterioscópicos foram realizados em lâminas coradas pelo Método de Gram, sendo que o isolamento dos microorganismos foi realizado de acordo com as técnicas descritas por Lennette<sup>26</sup>.

Os resultados foram apresentados em média, desvio padrão, mediana e intervalo de confiança. A análise estatística dos dados foi efetuada, primeiramente, pelo Teste de Levene para avaliar a homogeneidade de variâncias entre os grupos, sendo que após a transformação logarítmica dos dados, verificou-se que a homocedasticidade na variável transformada não foi aceita, mas a razão entre maior e menor variâncias menor do que 5; permitindo que os dados fossem submetidos a análise de variância seguido da comparação dos pares de médias pelo método de comparações múltiplas de Dunnett T3.<sup>27,28</sup>

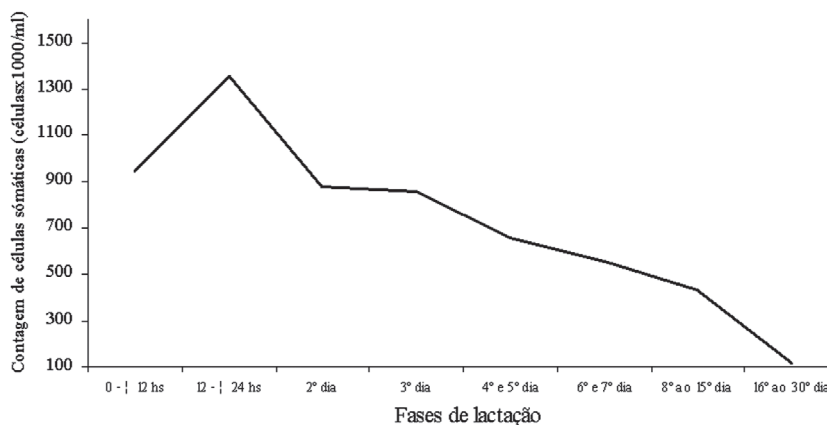
## Resultados e Discussão

Conforme pode ser observado na tabela 2 e figura 1, a fase de lactação exerceu influência significativa no número de células somáticas durante o primeiro mês de lactação e, em especial, durante o período no qual há secreção de colostro. Após oscilarem entre  $946.444 \pm 1.198.319$  e  $1.355.273 \pm 1.829.318$  células/ml nas primeiras 24 horas de lactação, observa-se que o número de células somáticas diminui de forma gradual e estatisticamente significativa durante os 30 primeiros dias de lactação, sendo observado no 2º dia de lactação valores iguais a  $874.677 \pm 1.443.014$  células/ml, entre o 8º e 15º dia de lactação contagem de células somáticas igual a  $433.419 \pm 1.297.486$  células / ml e entre o 16º e 30º dia de lactação contagem de células somáticas iguais a  $121.632 \pm 316.269$  células/ml. Estas observações estão em concordância com àquelas referidas por

**Tabela 2** – Média aritmética, desvio padrão e intervalo de confiança do número de células somáticas (cel/ml) no leite de bovinos da raça Jersey, distribuídos segundo a fase da lactação (colostró e primeiro mês de lactação), criados no Estado de São Paulo-São Paulo-2006

Fase da Lactação	Número de amostras	Média	Desvio Padrão	Mediana	Intervalo de Confiança *
0 — 1/2 dia	27	946.444 a	1.198.319	669.000	472.405-1.420.484
1/2 — 1 dia	41	1.355.273 ab	1.829.318	591.000	706.625-2.003.921
1 — 2 dias	47	874.677 bc	1.443.014	114.000	450.992-1.298.361
2 — 3 dias	50	854.832 bc	1.450.517	181.000	442.520-1.267.008
3 — 5 dias	86	657.316 bc	1.482.760	115.500	339.411-975.220
5 — 7 dias	48	555.553 bc	1.265.531	106.500	188.081-923.025
7 — 15 dias	62	433.419 cd	1.297.486	47.500	103.920-762.919
15 — 30 dias	57	121.632 d	316.269	16.000	37.714-205.549

**abcd** letras não coincidentes significam diferença estatística significativa ( $p \leq 0,05$ ) – Teste de Dunnett T3  
 \* intervalo de confiança, intervalo no qual estão compreendidos 95 % dos valores da população



**Figura 1** - Influência da fase de lactação no número de células somáticas no leite de bovinos da raça Jersey, criados no Estado de São Paulo

diversos autores<sup>1,2, 3, 4, 5, 10, 11, 12,13, 14, 15, 16</sup> que constataram um número de células somáticas maior nos primeiros dias de lactação, ou seja, na fase colostrá, que diminuía com o evoluir da mesma.

Considerando os resultados obtidos na presente pesquisa, verificou-se que somente a partir do 15º dia de lactação o número de células somáticas atingia os patamares propostos para lactação plena.<sup>3,4</sup> Na literatura compulsada foram encontradas referências, nas quais contagens de células semelhantes às encontradas em vacas em

plena lactação podiam ser obtidas em amostras de leite colhidas a partir do 7º dia de lactação<sup>4</sup> ou a partir do 15º dia de lactação.<sup>4</sup>

As significativas modificações da contagem de células somáticas observadas durante o primeiro mês de lactação tornam necessário que sejam adotados valores padrões de referência, especialmente determinados para cada fase. Na fase colostrá, considerando-se as 60 amostras de colostró sem isolamento bacteriano obtidas nas primeiras 24 horas após o parto (1º dia

de lactação) foram estabelecidos, baseados nos intervalos de confiança, os seguintes valores de referência entre 472.405 e 2.003.921 células/ml. Na fase de transição do colostro para o leite, considerando-se as 293 amostras de secreção láctea sem crescimento bacteriano obtidas entre o 2º e 15º dia de lactação devem ser adotados os seguintes valores de referência para o número de células somáticas entre 103.920 e 1.298.361 células/ml.

Embora o objetivo desta pesquisa não fosse a apresentação de valores de referência para o período da lactação plena, verificou-se a existência de apenas uma pesquisa na qual os valores de referência do número de células somáticas do leite de bovinos da raça Jersey foi estabelecida.<sup>23</sup> Face a isso optou-se pela apresentação desses valores de referência, utilizando para tal finalidade os resultados obtidos no grupo composto por amostras de leite obtidas entre 15 e 30 dias de lactação e que variaram, considerando o intervalo de confiança, entre 37.714 e 205.549 células/ml.

Deve, ainda, ser ressaltado que os valores de referência apresentados nesta pesquisa têm validade para amostras colhidas na fase inicial da ordenha, ou seja, após o leite de retenção ter sido eliminado, pois foi verificado que no leite de retenção - acumulado nas cisternas da glândula e do teto entre as ordenhas - ou nas amostras obtidas no final da ordenha sofrem significativo aumento do número de células somáticas.<sup>7,17,24</sup> Assim, os valores padrões de normalidade apresentados na pesquisa não devem ser utilizados como referência para situações nas quais as frações de leite foram utilizadas para constituir amostras correspondentes ao leite de retenção ou de esgotamento, sem que as devidas ressalvas sejam feitas, evitando que erros de interpretação dos resultados sejam cometidos.

Para uma melhor interpretação dos resultados obtidos no California Mastitis Test - CMT, realizou-se, inicialmente, uma comparação entre a intensidade da reação das amostras de leite ao CMT com a

celularidade da amostra testada. Dessa forma, utilizando os critérios propostos para classificar a reação ao CMT foram calculadas a média aritmética da contagem de células somáticas obtidas de 617 amostras de leite provenientes de quartos mamários com e sem isolamento bacteriano e verificou-se que, nas reações negativas ao CMT obtinha-se contagem de células somáticas iguais a 322.983 células/ml, nas reações com discreto aumento de viscosidade (meia cruz - traços) valores médios iguais a 1.372.587 células/ml, nas reações com aumento de viscosidade sem formação de gel (uma cruz - fracamente positivo) valores médios iguais a 1.576.414 células/ml; nas reações com aumento de viscosidade e formação de gel (duas cruzes - nitidamente positivo) valores médios iguais a 2.869.630 células/ml; e nas reações com evidente formação de gel (três cruzes - fortemente positivo) valores médios iguais a 4.964.720 células/ml. Pode-se, ainda, observar que ocorreu uma sobreposição dos valores encontrados nas reações que apresentaram aumento da viscosidade, sendo que a análise estatística, não demonstrou diferenças significantes nas percentagens de reações classificadas como meia cruz e uma cruz concordando com Estrella<sup>4</sup> e desta forma as reações poderiam ser unificadas, simplificando a interpretação dos resultados. Casura, Schukken e Rusch<sup>29</sup> na tentativa de tornar mais objetiva a interpretação do CMT, através da diminuição dos escores propostos por Schalm, Carroll e Jain<sup>16</sup> sugeriram que os resultados fossem classificados como reações negativas e reações positivas. Contudo, resultados apresentados em algumas pesquisas<sup>3,4</sup> sugeriram a partir da classificação proposta por Schalm, Carroll e Jain<sup>16</sup> que as reações fossem classificadas como: reação negativa quando a mistura permanece líquida após a homogeneização dos componentes da reação; reação fracamente positiva, quando há aumento da viscosidade com variada intensidade, porém sem tendência de formação de gel e reação positiva, quando há evidente formação de gel, com intensidade variável.

Nas primeiras 12 horas de lactação a



freqüência de reações negativas ao CMT (96,30%) foi estatisticamente maior quando comparadas com as amostras colhidas nos três primeiros dias de lactação, quando as freqüências foram iguais a 87,80%, 72,34% e 78,00% respectivamente, e com amostras colhidas entre o 5º e 7º dia de lactação (76,59%). No grupo de animais que se encontravam entre o 7º e 15º dia de lactação e o grupo entre o 15º e 30º dia de lactação, a freqüência de resultados negativos aumentam (93,54% e 93,10%) sem que diferenças estatísticas fossem observadas entre os grupos (Tabela 3). Os resultados obtidos nesta pesquisa são semelhantes àqueles relatados por Birgel Junior<sup>3</sup> que nos primeiros sete dias de lactação observaram que entre 63,64 e 74,19 % das amostras não reagiram ao CMT e discordam em parte de Estrella<sup>4</sup> que observou uma menor freqüência de reações negativas no CMT nos primeiros 3 dias de lactação quando comparadas com as freqüências obtidas até o final do primeiro mês de lactação.

Apesar da utilização de testes semi-quantitativos como o CMT, em amostras de leite de vacas recém-paridas tem sido questionada por alguns autores<sup>16,30</sup> que relataram a ocorrência de grande número

de reações positivas na fase colostrar. Os resultados obtidos nesta pesquisa evidenciam que o CMT pode ser utilizado como prova subsidiária pelo clínico em animais na fase de colostro desde que respeitado o fato da prova apresentar sensibilidade na detecção de amostras de leite com contagens celulares altas, acima de um milhão de células por mililitro.<sup>31</sup>

Na presente pesquisa, das 119 amostras de leite obtidas entre o 8º e 30º dia de lactação proveniente de quartos mamários sadios, nas quais não houve isolamento bacteriano, verificou-se que entre 93,10 e 93,54 %; apresentaram reações negativas ao *California Mastitis Test* (CMT), sendo este percentual semelhante ao referido por alguns autores,<sup>3,4,32</sup> porém maior do que o apresentado em outras pesquisas<sup>9,33</sup>.

## Conclusões

A fase colostrar e o primeiro mês de lactação são responsáveis por significativas modificações no número de células somáticas do leite de vacas sadias, nas quais não houve crescimento bacteriano, pois, nesse período ocorreu a diminuição gradual do número de células presentes no leite de

**Tabela 3** - Freqüência da reação do California Mastitis Test (CMT) de bovinos da raça Jersey, distribuídos segundo a fase da lactação (colostro e primeiro mês de lactação), criados no Estado de São Paulo-São Paulo-2006

Fase da Lactação	Reação do CMT									
	— negativo	(+)— traços	+— fracamente positivo	++- nitidamente positivo	+++ fortemente positivo					
0 — 1/2 dia	96,30% (26/27)	a	0,00% (0/27)	ab	0,00% (0/27)	ab	0,00% (0/27)	a	3,70% (1/27)	abd
1/2 — 1 dia	87,80 % (36/41)	bcd	4,87% (2/41)	ab	0,00% (0/41)	ab	0,00% (0/41)	a	7,31% (3/41)	ab
1 — 2 dias	72,34% (34/47)	b	4,25% (2/47)	ab	4,25% (2/47)	ab	8,51% (4/47)	a	10,63% (5/47)	ac
2 — 3 dias	78,00% (39/50)	bd	2,00% (1/50)	ab	2,00% (1/50)	ab	4,00% (2/50)	a	14,00% (7/50)	a
3 — 5 dias	87,20% (75/86)	ac	4,65% (4/86)	ab	3,48% (3/86)	ab	2,32% (2/86)	a	2,32% (2/86)	bd
5 — 7 dias	76,59% (36/47)	bc	6,38% (3/47)	a	8,51% (4/47)	a	6,38% (3/47)	a	2,12% (1/47)	bcd
7 — 15 dias	93,54% (58/62)	ad	0,00% (0/62)	ab	1,61% (1/62)	ab	1,61% (1/62)	a	3,22% (2/62)	bcd
15 — 30 dias	93,10% (54/58)	ad	5,17% (3/58)	b	0,00% (0/58)	b	1,72% <sup>a</sup> (1/58)	a	0,00% (0/58)	d

a,b,c,d – letras não coincidentes na mesma linha, significam diferença estatística significante ( $p \leq 0,05$ ) – Teste de Duas Proporções

bovinos da raça Jersey.

Verificou-se que a transição da secreção de colostro para leite em relação ao número de células somáticas está finalizado a partir do 15º dia de lactação, sendo recomendado a adoção dos seguintes valores de referência para o número de células somáticas na secreção láctea de bovinos da raça Jersey, sem crescimento bacteriano: no colostro, obtidos nas primeiras 24 horas de lactação entre 472.405

e 2.003.921 células/ml, no período compreendido do 2º ao 15º dia de lactação valores entre 103.920 e 1.298.361 células/ml e a partir do 15º dia de lactação entre 37.714 e 205.549 células/ml.

## Agradecimentos

À FAPESP, pelo auxílio financeiro, processo nº 04/12049-5.

## Evaluation of somatic cell number in milk from jersey cows during the first month of lactation

### Abstract

With the aim to establish reference values of the number somatic cell of milk from Jersey cows, raised in the State of São Paulo, during the first month of lactation, as well as to evaluate the influence of the colostrum phase, 418 milk samples were examined obtained from healthy mammary glands without bacterial growth. Milk samples were collected aseptically before milking and number somatic cell determined by electronic counting and by California Mastitis Test. was demonstrated the significant influence the somatic cells in the first month of lactation. It was found that the transition of the colostrum secretion for milk in respect to somatic cells count have been finished in the 15º day of lactation, being recommended the adoption of the following reference values: in the colostrum, getting in the first of 24 hours of lactation between 472.405 and 2.003.921 cells/ml, in the understood period from 2º until 15º day of lactation values between 103.920 and 1.298.361 cells/ml and starting from 15 day of lactation between 37.714 and 205.549 cells/ml.

### Key words:

Milk.  
Somatic cells.  
Cattle.  
Jersey breed.  
Colostrum phase.

### Referências

1 ANDREW, S. M. Effect of composition of colostrum and transition milk from holstein heifers on specificity rates of antibiotic residue tests. **American Dairy Science Association**, v. 84 n. 1, p. 100-106, 2001.

2 BARKEMA, H. W.; DELUYKER, H. A.; SCHUKKEN, Y. H.; LAM, T. J. G. M.; VAN GOUBERGEN, M. F. G.; DE GEE, A. L. W. Somatic cell cont in the first six milkings after calving. In: ANNUAL MEETING OF NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 36., 1997, Albuquerque. **Proceedings...** Mandison: N.M.C, 1997. p. 238-239.

3 BIRGEL JUNIOR, E. H. **Características físico-químicas, celulares e microbiológicas do leite de bovinos das raças Holandesa, Gir e Girolando criados no Estado de São Paulo**. 2006. 335 f. Tese (Livro Docência) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

4 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**. 2001. 162 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

5 HARMON, R. J.; LANGLOIS, B. E. Mastitis due to coagulase-Negative *Staphylococcus* species. **Agri-Practice**, v. 10, n. 1, p. 29-34, 1989.

6 HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factories affecting somatic cell counts **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 1, p. 2103-2112, 1994.

7 HOLDAWAY, R. J.; HOLMES, C. W.; STEFFERT, I. J. A comparison of indirect methods for diagnosis of subclinical intramammary infection in lactating dairy cows. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 51, n. 1, p. 64-82, 1996.

8 LAEVENS, H.; DELUYKER, H.; SCUKKEN, Y. H.; DE MEULEMEESTER, L.; VANDERMEERSCH, R.;

- MUËLENAERE, E.; DE KRUIF, A. Influence of parity and stage of lactation on somatic cell count in bacteriological negative dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 12, p. 3219-3226, 1997.
- 9 MARQUES, R. S. **Avaliação das características físico-químicas e celulares do leite de bovinos da raça girolando, criados no estado de São Paulo**. 2003, 167 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- 10 MAUNSELL, F.; MORIN, D.; CONSTABLE, P.; HURLEY, W.; McCOY, G. C.; KAKOMA, I.; ISAACSON, R. E. Effects of mastitis on the volume and composition of colostrums produced by holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1291-1299, 1998.
- 11 MCDONALD, J. S.; ANDERSON A. J. Total and differential somatic cell counts in secretions from noninfected bovine mammary glands: the peripartum period. **American Journal Veterinarian Research**, v. 42, n. 8, p. 1366-1368, 1981.
- 12 MILLER, R. H.; PAAPE, M. J.; FULTON, L. A. Variation in milk somatic cells of heifers at first calving. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 11, p. 3782-3790, 1991.
- 13 NATZKE, R. P.; EVERETT, R. W. Normal milk somatic cell counts. **Journal of Milk Food Technology**, v. 35, n. 5, p. 261-263, 1972.
- 14 NG-KWAI-HANG, K. F.; HAYES, J. F.; MOXLEY, J. E.; MONARDES, H. G. Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell count with yield and compositional changes of bovine milk. **Journal of Dairy Science**, v. 67, n. 2, p. 361-366, 1984.
- 15 ONTSOUKA, C. E.; BRUCKMAIER, R. M.; BLUM, J. W. Fractionized milk composition during removal of colostrum and mature milk. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 2005-2011, 2003.
- 16 SCHALM, O. W.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. **Bovine mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971. 360 p.
- 17 WHITE, F.; RATTRAY, E. A. S. Diurnal variation in the cell content of cow's milk. **Journal Comparative Pathology**, v. 75, n. 3, p. 253-261, 1965
- 18 PARRISH, D. B.; WISE, G. H.; HUGHES, J. S.; ATKESON, F. W. Properties of the colostrum of dairy cow. V. yield, specific gravity and concentrations of total solids and its various components of colostrum and early milk. **Journal of Dairy Science**, v. 33, n. 6, p. 457-465, 1950.
- 19 CAULFIELD, W. J.; RIDDEL, W. H. The chloride content of cow's milk. **The Cornell Veterinarian**, v. 25, n. 1, p. 333-343, 1935.
- 20 LINZELL, J. L.; PEAKER, M. Efficacy of the measurement of the electrical conductivity of milk for the detection of subclinical mastitis in cows: detection of infected cows at a single visit. **British Veterinary Journal**, v. 131, n. 4, p. 447-461, 1975.
- 21 RAIMONDO, R. F.; D'ANGELINO, J. L. Análise físico-química do leite de vacas da raça Jersey criadas no Estado de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 110, p. 109-117, 2003.
- 22 SANT'ANA, V. A. C. **Proteinograma do leite de vacas: padrões e variabilidade**. 2004. 161 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- 23 BENVENGA, G. U.; D'ANGELINO, J. L. Avaliação celular do leite de vacas da raça Jersey criadas no Estado de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 110, p. 101-108, 2003.
- 24 BIRGEL, E. H. Semiologia da glândula mamária de ruminantes. In: FEITOSA, F. L. **Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico**. São Paulo: Roca, 2004. p. 353-399.
- 25 INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Laboratory methods for use in mastitis work. **Bulletin of IDF**, v. 132, p. 1-27, 1981
- 26 LENNETTE, E. H. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. 9<sup>th</sup> ed. Washington, D. C.: American Society for Microbiology, 2007. 2488 p.
- 27 SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
- 28 SCHEFFÉ, H. **The analysis of variance**. New York: John Wiley, 1959. 477 p.
- 29 CASURA, C. H.; SCHUKKEN, Y. H.; RUSCH, P. Quality assessment of California Mastitis Test as a diagnosis tool in quarter somatic cell count estimation. In: IDF. INTERNATIONAL MASTITIS SEMINAR, 3., 1995, Tel Aviv. **Proceedings...** Haifa: M. Lanchman Printers, 1995. p. 57-58. Session 3.
- 30 SCHALM, O. W.; NOORLANDER, B. S. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 30, n. 5, p. 199-204, 1957
- 31 KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnosis test. **Journal of Dairy Research**, v. 48, n. 1, p. 167-188, 1981
- 32 MARSHAL, R. T.; EDMONNDSON, J. E. Value of California Mastitis Test records to the practitioner. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 140, n. 1, p. 45-49, 1962.
- 33 BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S.; BRITO, M. A. V. P. Sensibilidade e especificidade do "California Mastitis Test" como recurso diagnóstico da mastite em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997.