

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ESTUDO GENÉTICO E QUANTITATIVO DA CONTAGEM DE
CÉLULAS SOMÁTICAS EM BUBALINOS LEITEIROS**

Geovanny Mendoza-Sánchez
Médico Veterinário e Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Novembro de 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**ESTUDO GENÉTICO E QUANTITATIVO DA CONTAGEM DE
CÉLULAS SOMÁTICAS EM BUBALINOS LEITEIROS**

Geovanny Mendoza-Sánchez

Orientador: **Prof. Dr. Humberto Tonhati**

Co-orientadora: Dra. Lenira El Faro

Co-orientador: Prof. Dr. Mario Fernando Cerón-Muñoz

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Genética e Melhoramento Animal.

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Novembro de 2007

S237e Mendoza-Sánchez, Geovanny
Estudo genético-quantitativo da contagem de células somáticas em Bubalinos / Geovanny Mendoza-Sánchez. -- Jaboticabal, 2007
xiii, 72 f. ; 28 cm

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007

Orientador: Humberto Tonhati

Banca examinadora: Danísio Prado Munari, Lucia Galvão de Albuquerque, Maria Eugênia Zerlotti Mercadante, Vera Lúcia Cardoso.
Bibliografia

1. Avaliação genética. 2. Bubalinos – células somáticas. 3. Componentes de variância - herdabilidade. I. Título. II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 631.531:634.0

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação – Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

GEOVANNY MENDOZA-SÁNCHEZ – Solteiro, nascido em 09 de Março de 1978, na cidade de Manizales-Colômbia, filho de Ricaurte Mendoza-Cuervo e Maria Elcira Sánchez-Murillo. Iniciou em fevereiro de 1997 o curso de Medicina Veterinária e Zootecnia na Universidade de Caldas – Manizales-Colômbia e em 30 de julho de 2004 obteve o título de Médico Veterinário Zootecnista. Em agosto de 2004 ingressou no Programa de pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal na Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP – Campus de Jaboticabal-SP, obtendo o grau de Doutor em 05 de Novembro de 2007 sob orientação do Prof. Dr. Humberto Tonhati.

A Deus pela vida

Aos meus amados pais, Ricaurte e Maria Elcira por minha formação, criação, pelo apoio, força, incentivo e por estarem sempre a meu lado nos bons e ruins momentos.

Ao meu irmão Jhon Fredy.

À minha querida sobrinha Alejandra.

À minha namorada Carla.

A todos os meus amigos e familiares.

Dedico e Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, pela oportunidade.

A Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo FAPESP pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Humberto Tonhati pela orientação, apoio, confiança, amizade. Obrigado.

Ao Dr. Mario Fernando Cerón-Muñoz, pela ajuda, orientação, paciência, ensinamentos, apoio no desenvolvimento do trabalho, amizade e confiança.

A Dra. Lenira El Faro, pela ajuda, orientação, apoio no desenvolvimento final do meu trabalho.

Ao programa de Controle Leiteiro do Departamento de Genética e Melhoramento Animal da UNESP/Jaboticabal; a Clínica do Leite, Departamento de Zootecnia – USP/ESALQ e a Associação Brasileira dos Criadores de Búfalos, pela concessão dos dados e informações que geraram este trabalho.

Aos professores do Departamento de Zootecnia, Ciências Exatas e Genética e Melhoramento Animal, pelos ensinamentos transmitidos.

Aos meus colegas e amigos do Departamento de Genética e Melhoramento Animal Raúl, Beto, André, Roberta, Rafael, Leo, Priscilla, Henry, Luisga, Fernando, Marcio, Marcos, Monyka, Annaizapela ajuda e amizade.

Aos meus amigos colombianos Andrey, Luisga, Henry, Jhon, Pedro, Wilson e Yuli por serem a minha família e a minha torcida no Brasil.

A família Facco Costa, pelo carinho, amizade, ajuda e apoio. Muito Obrigado.

Ao Paulo Tosta, pela amizade e pelos ensinamentos no mundo das artes.

Ao Zeus, Negro e Hussein, pelo carinho incondicional e por serem a minha companhia durante tanto tempo.

A família Muzeti Lazaro, pela acolhida, pelo carinho e pelo calor de lar que sempre recebi.

A Carlita minha namorada por ser minha companhia, amiga, pelos muitos momentos compartilhados, múltiplos ensinamentos, pelo seu apoio, confiança, carinho e por estar comigo em todos os momentos. Obrigado.

Aos amigos Daniel, Harold, Marcelo, Serna, Octavio pela amizade incondicional de sempre.

A minha Família, Tios, Tias, primos e primas, por acreditarem sempre em mim.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente fizeram possível atingir as metas e objetivos estabelecidos.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	11
Objetivos	11
Revisão de Literatura	12
Referências Bibliográficas	20
 CAPÍTULO 2 – CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E A SUA RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO DE LEITE EM BUFALOS (<i>Bubalus bubalis</i>).....	 30
Resumo	30
Palavras-Chave	31
Introdução	32
Material e Métodos	34
Resultados e Discussão	37
Conclusões	42
Referências bibliográficas.....	43
 CAPÍTULO 3 – PARÂMETROS GENÉTICOS PARA A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CORRELAÇÃO COM A PRODUÇÃO DE LEITE AOS 270 DIAS	 50
Resumo	50
Palavras-Chave	51
Introdução	52
Material e Métodos	54
Resultados e Discussão	57
Conclusões	65
Referências bibliográficas.....	66

ESTUDO GENÉTICO E QUANTITATIVO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS EM BUBALINOS LEITEIROS

Resumo - Considerando-se que a contagem de células somáticas (CCS) de amostras de leite é um valioso indicador da saúde do úbere de búfalas, foi desenvolvido este trabalho com o objetivo de estimar a relação existente entre a CCS e a produção de leite (PL). Foram analisadas informações de 9404 amostras de controles de CCS e PL, referentes a 2198 lactações de animais da raça Murrah com idades entre 2 e 15 anos, filhas de 187 reprodutores, que ocorreram entre os anos 1997 e 2005. Para quantificar as perdas de PL em relação à CCS, nas análises de variância para a variável PL, foram incluídos no modelo os efeitos fixos de fazenda, ordem e ano de parto e estação do parto o escore da contagem de células somáticas (ECCS) como covariável, o efeito de animal dentro da fazenda foi considerado como aleatório. Para a estimação de parâmetros genéticos para a CCS, utilizaram-se “test day models”, a média da contagem de células somáticas na lactação (CCSt270) e a produção de leite aos 270 dias (PL270); os componentes de (co) variância foram estimados usando método de máxima verossimilhança restrita. A CCS de cada mês da lactação foi considerada como uma característica distinta, em análises uni e bicaracterísticas, o modelo incluiu como efeitos aleatórios, o genético aditivo direto e de ambiente permanente e residual. Além disso, foram considerados como efeitos fixos: grupo de contemporâneos, número de controle e idade da vaca ao parto como covariável (efeito linear e quadrático). Para a CCSt nos diferentes meses, os grupos de contemporâneos foram definidos como rebanho-ano-mês do controle, e para CCSt270 e PL270 como rebanho-ano-estação do parto. Encontrou-se que todos os efeitos influenciaram a expressão do ECCS; nas fêmeas de primeiro parto não se encontrou relação entre a PL e a CCS, mas, os resultados indicaram que as maiores perdas são observadas em fêmeas multíparas, devendo esta categoria receber uma especial atenção em relação à saúde do úbere. Os efeitos de fazenda, ano e ordem de parto devem ser considerados na comparação entre animais. Os resultados dos parâmetros genéticos mostraram que nas

estimativas de herdabilidade obtidas pelas análises para uni-características oscilaram entre 0,06 e 0,50 para a CCSt270 e 0,28 para a CCSt270; as estimativas de herdabilidade obtidas por análises bi-características oscilaram entre 0,65 e 0,28 para a CCSt e 0,60 até 0,66 para a média da CCSt270. Todas as correlações entre a CCSt e a CCSt270 foram positivas variando de 0,50 até 0,91 para o componente genético e de 0,59 até 0,82 para o componente fenotípico. As correlações genéticas entre a CCSt e PL270 variaram de 0,10 até -0,52; as fenotípicas de 0,0 até -0,37. As correlações genéticas entre a CCSt270 e PL270 foram de -0,11 e de -0,15 para as correlações fenotípicas.

Palavras Chaves: Avaliação genética, bubalinos, Componentes de variância, Dados longitudinais, Herdabilidade, Mastite.

GENETIC AND QUANTITATIVE STUDY OF THE SOMATIC CELLS COUNT IN DAIRY BUFFALOES

Summary – Considering that the somatic cells count (SCC) of samples of milk is a valuable indicator of the health of the buffaloes' udder, this work was developed with the objective of estimating the relationship between SCC and milk yield (MY). Information on 9404 SCC and MY controls were analyzed. Data contained 2198 lactations of Murrah animals aging between 2 and 15 years, daughters of 187 sires, from 1997 and 2005.

To quantify the decreases of MY in relation to SCC, the analyses of variance for the variable MY, included in the model a random animal effect nested in farm and the fixed effects of farm, order and year of parity and season of parity, somatic cells count score (SCCE) as covariate.

For estimating genetic parameters for SCC, "test day models" were used. For average of somatic cells count in the lactation (SCCt270) and milk yield to 270 days (MY270); the (co) variance components were estimated using Restricted Maximum Likelihood (MTDFREML). SCCs of every month of lactation were considered as different traits in single and double trait analyses. The model included genetic additive, permanent environmental (for SCCt270 and for MY270) and residual random effects.

Other fixed effects were: contemporary group; control number and age of cow at parity as a covariate (linear and quadratic effects). For CCSt, contemporary groups were defined as flock-year-month of the control, and for SCCt270 and MY270 as herd-year- season of the parity.

It was found that all effects influenced the expression of SCCE. For first parity females, no relationship between MY and SCC was found. The results indicated that the largest decreases were observed in females with more than one parity. This category should then receive a special attention in relation to udder health. The farm, year and parity order effects should be considered in the comparison among animals.

Heritability estimates, obtained from single trait analyses oscillated between 0.06 and 0.50 for SCCt270 and 0.28 for SCCt270. Heritability estimates obtained from double trait analyses oscillated between 0.65 and 0.28 for SCCt and 0.60 up to 0.66 for SCCt270.

All correlations between SCCt and SCCt270 were positive, varying from 0.50 to 0.91 (genetic) and from 0.59 to 0.82 (phenotypic). The genetic correlations between SCCt and MY270 varied from -0.52 to 0.10; and the phenotypic ranged from -0.37 to 0.0. The genetic correlation between SCCt270 and MY270 was -0.11 and the phenotypic was -0.15.

Key words: Genetic evaluation, buffaloes, variance components, longitudinal data, Heritability, Mastitis.

CAPITULO 1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

1. Objetivos.

Geral:

- Verificar a existência de variabilidade genética para a característica contagem de células somáticas e verificar se esta característica pode ser utilizada como critério de seleção em rebanhos bubalinos.

Específicos:

- Determinar a influência da contagem de células somáticas nas perdas de produção de leite e descrever a sua frequência de ocorrência ao longo da lactação.
- Estimar componentes de (co) variância genética aditiva, de ambiente permanente e temporário da contagem de células somáticas ao longo da lactação.
- Verificar a associação genética entre a contagem de células somáticas e a produção de leite.

2. Revisão de literatura

O Departamento de Zootecnia da Unesp/Jaboticabal (SP), com o intuito de construir uma sólida base de informações que possa suportar pesquisas na área de genética e melhoramento, assim como, na expectativa de contribuir com os programas de melhoramento genético de bubalinos coordena, desde 1987, um programa de controle leiteiro no estado de São Paulo.

Devido à falta de informações em relação aos parâmetros genéticos para a contagem de células somáticas em búfalos e a sua relação com a produção de leite, foi necessário o desenvolvimento de projetos e a aplicação de diferentes modelos nas análises genéticas, principalmente, para características indicadoras da qualidade do leite e saúde do úbere, com finalidade de aumentar o ganho genético nas populações consideradas.

Dada a necessidade de melhorar a qualidade do leite de búfalas e identificar características indicadoras da saúde do úbere, bem como a sua relação com características produtivas, foram conduzidos projetos aplicando diferentes modelos para a estimação de parâmetros genéticos para a CCS e suas associações com a produção de leite.

A classificação zoológica dos búfalos domésticos os coloca dentro da família *Bovidae* e subfamília *Bovinae*, em que, pode ser encontrado o gênero *Bubalus*, que representa os búfalos asiáticos originados na Índia, em uma zona tropical localizada entre os paralelos 31° N e 2° S. A espécie *bubalis* compreende animais de pele escura com baixa densidade de glândulas sudoríparas e uma epiderme espessa que propiciam dificuldades de adaptação a condições extremamente quentes e secas. Assim sendo, como mecanismo de sobrevivência, estes animais passaram a procurar por paisagens ricas em água onde pudessem mergulhar e restabelecer seu conforto térmico, motivo pelo qual o *Bubalus bubalis* também é chamado de búfalo aquático (THOMAS, 2004).

Considerado pela FAO, Organização das Nações Unidas para Alimentação, como o animal doméstico mais dócil do planeta, o búfalo é dotado de extrema versatilidade, podendo produzir carne, leite e trabalho, em todas as latitudes e

longitudes, nas mais variadas condições climáticas, do frio da Europa Oriental aos desertos da África, nas regiões tropicais da Amazônia, nos sertões nordestinos e nas diferentes altitudes, desde as planícies às áreas montanhosas (SILVA et al., 2003).

Estão incluídas nessa espécie as três raças de origem indiana (Murrah, Jafarabadi e Carabao) e a raça européia (Mediterrâneo), que caracterizam o rebanho bubalino brasileiro, introduzido no país em 1895 pela Ilha de Marajó, Estado do Pará (AMORIM JUNIOR et al., 2002).

A entrada dos animais antes e após a primeira Guerra Mundial promoveu uma disseminação do rebanho ao longo do território nacional. O crescimento anual de cerca de 12,7% ao ano garante ao Brasil a maior população bubalina do continente americano (SILVA et al., 2003; DALMÉ, 2007), embora o número oficial de 1,174 milhões de cabeças seja muitas vezes inferior àquele encontrado na Índia (98 milhões), Paquistão (26,3 milhões) e China (22,745 milhões). Aproximadamente 62% dos búfalos brasileiros concentram-se na Região Norte, com 728 mil, seguindo-se a Região Sul onde existem 144 mil animais, a Região Nordeste com 121 mil búfalos, o Sudeste com 113 mil e, finalmente, a Região Centro-Oeste que alberga 65 mil animais. Na região Sudeste, o Estado de São Paulo possui o maior rebanho com 71 mil animais, posicionando-se como o quinto colocado no país, acompanhado por Minas Gerais (36 mil cabeças), Rio de Janeiro (5 mil cabeças) e Espírito Santo (600 cabeças) (FAO, 2006; IBGE, 2007).

Também de acordo com a FAO (2006), o leite bubalino representa aproximadamente 10,5% a 12% de todo o volume de leite produzido no mundo, sendo que a Índia e o Paquistão fornecem, respectivamente, 60% e 30% desse total. Diferente do que se pode observar em qualquer outro lugar, nesses países a produção de leite de búfalas em larga escala é uma realidade e na Índia e no Paquistão, respectivamente, esse tipo de leite responde por 55 e 75% do total produzido. A Índia produz mais de 84 milhões de toneladas de leite dos quais 80% se originam em pequenas propriedades com rebanhos que variam de 2 a 8 animais, geralmente criados em conjunto com bovinos leiteiros (THOMAS, 2004).

À semelhança dos países asiáticos, uma das funções mais importantes dos bubalinos brasileiros é a produção de leite, contando com pequenas indústrias de

laticínios, situadas na propriedade ou sob forma de cooperativas (NADER FILHO, 1996; MESQUITA, 2002; TEIXEIRA et al., 2005).

Mesmo que a população brasileira não tenha o costume de consumir o leite de búfala diretamente, o leite bubalino é destinado à fabricação dos mais variados tipos de derivados lácteos (FERREIRA, 1995): queijos (Mussarela, Frescal Marajoara ou CPATU, Provolone, Ricota e Mascarpone), doce de leite, requeijão, iogurte, sorvetes, manteiga, etc. Considerando a crescente demanda do leite de búfala pelo mercado consumidor, criadores e pesquisadores têm trabalhado em conjunto na implementação de programas de controle leiteiro na tentativa de estimar parâmetros genéticos e populacionais das características de maior valor econômico para a produção leiteira que levem à definição de programas dirigidos de seleção e acasalamentos (TONHATI, 2004).

A superioridade nutricional e de rendimento industrial do leite da búfala em relação ao de vaca se deve à sua composição química que compreende maiores teores de proteína, gordura, minerais como o cálcio e fósforo, bem como mais alto teor de lactose e cinzas. Essa composição confere ao leite bubalino, em relação ao leite bovino, uma acidez titulável com valores mais elevados, sabor levemente mais adocicado e uma coloração totalmente branca em função da ausência total de pigmentos carotenóides (MADALENA, 1986; BENEVIDES, 1999).

Ainda que a porcentagem de gordura do leite bubalino supere aquela do leite de vaca (FERRARA & INTRIERI, 1975), essa gordura, trata-se do constituinte do leite que mais sofre influência da raça, do manejo nutricional, da localização dos animais e da fase da lactação (FONSECA, 1987; SINDHU & SINGHAL, 1998; AIA, 1999; ROSATI & VAN VLECK, 2002; CATILLO et al., 2002). A caseína, que representa aproximadamente 77 a 79% da composição protéica, torna o leite um alimento de difícil digestão, motivo pelo qual na Índia ele é distribuído de forma diluída para o consumo humano (BUSANI, 1989; DE FRANCISIS & DI PALO, 1994; MACEDO et al., 1997; TONHATI et al., 1998; TONHATI et al., 2000; BENEVIDES et al., 2001; DUARTE, 2001; COELHO et al., 2004, TEIXEIRA et al., 2005).

Análises físico-químicas de amostras de leite bubalino demonstraram que sua densidade varia entre 1,025 a 1,047 g/ml; o pH entre 6,41 e 6,47; a acidez de 14 a

20°D; a crioscopia entre -0,531 e -0,548°C; os sólidos totais em torno de 15,64 e 17,95%; a gordura entre 5,4 e 8%; a proteína de 3,6 a 5,26%; os minerais entre 0,79 e 0,83%; e a lactose de 4,83 e 5,48% (ISEPON et al., 1984; NADER FILHO et al., 1996; TONHATI et al., 1998; COELHO et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2005). Trabalhando com búfalas, AMARAL et al. (1995), encontraram valores médios para cloretos entre 0,10% a 0,14%, que são inferiores ao limite de 0,16% estipulado pelo Ministério da Agricultura em 1981, para leite bovino. Ainda, TONHATI et al. (2004) sugeriram que a técnica de detecção de cloretos em bubalinos é bastante confiável na identificação de fraudes ou alterações como a presença de leite mastítico, servindo ainda para indicar a presença de colostro ou leite de fêmeas nas fases iniciais e finais da lactação.

A realização de trabalhos de pesquisa sobre a identidade do leite bubalino visa definir parâmetros a serem utilizados nas plataformas de recepção dos laticínios para avaliar a integridade da matéria prima e identificar eventuais fraudes como, por exemplo, a adição de sal, água ou a mistura de leite bovino visando aumentar o volume do produto, uma vez que no Brasil o que determina o valor pago pelo leite entregue nos laticínios é apenas a sua quantidade (TEIXEIRA et al., 2005). Ao mesmo tempo, quando se observa a composição citada pelos diferentes autores, grandes disparidades podem ser encontradas evidenciando a influência de diferentes fatores sobre a composição do leite de búfalas.

Devido à alta relação existente entre a contagem de células somáticas e a mastite, é necessário entender que a mastite, sendo uma alteração inflamatória da glândula mamária caracterizada por alterações patológicas do tecido glandular e pelo aumento de células somáticas no leite (PRATA, 2001), traz as maiores perdas econômicas nos rebanhos leiteiros. A mastite subclínica é uma das principais responsáveis por estas perdas. Além da diminuição na produção de leite, a mastite provoca aumento no número dos tratamentos clínicos e no descarte prematuro de animais (BEAUDEAU et al., 1993; LESCOURRET & COULON, 1994). Na Índia, as perdas totais anuais por causa da mastite em bubalinos, foi estimada por VARSHNEY & NARESH (2004), em US\$ 526 milhões.

Em animais saudáveis a CCS pode ser menor do que 100 mil células/ml em vacas primíparas, pois existe tendência de menores CCS para estes animais, já que as

maiores contagens têm sido observadas em animais com mais de 5 lactações (HARMON, 1998; OSTRENSKY et al., 2000). Por outro lado, HARMON (2001), trabalhando com amostras de leite bovino, afirmou que, em animais saudáveis, normalmente, a CCS está abaixo de 200 mil células/ml.

A prevalência da mastite em bubalinos tem sido estimada em diferentes países, sendo que no Paquistão, no Iraque e no Egito esta prevalência representa 20,6%, 31,9% e 54% respectivamente (VIANNI & LÁZARO, 2003).

Segundo a INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION (2002), quanto ao aspecto clínico, a mastite pode ser classificada como clínica ou subclínica, na dependência de, respectivamente, apresentar ou não evidências macroscópicas do processo inflamatório. A mastite clínica pode ainda ser dividida em aguda e subaguda. A primeira é caracterizada pela presença de sintomas inflamatórios na estrutura secretora como dor, febre e tumefação; e ocorrência de alterações de consistência, coloração e presença de grumos no leite. A mastite subaguda não apresenta os sinais inflamatórios citados, entretanto persiste a presença de grumos no leite. Por sua vez, a mastite subclínica pode ser detectada apenas pela elevação da contagem de células somáticas ou CCS, que é o termo que faz referência ao conjunto de células epiteliais descamativas dos alvéolos, da cisterna da glândula mamária e da cisterna do teto, mais os leucócitos, representados por macrófagos, linfócitos e principalmente neutrófilos polimorfonucleares. Quando a glândula mamária encontra-se infectada, cerca de 98 a 99% das células somáticas correspondem a células de resposta inflamatória (PHILPOT & NICKERSON, 1991) e, em uma glândula mamária sadia, 60% desta contagem corresponde aos macrófagos (GUTHY, 1986).

De acordo com alguns autores, em quartos mamários bubalinos sadios, segundo os pontos de vista clínico, subclínico e microbiológico, a CCS é relativamente inferior que em bovinos, independente do intervalo entre ordenhas, número de parições ou estágio de lactação. SILVA & SILVA (1994) e SILVA, (1996) se depararam com variações de 50×10^3 a 375×10^3 células/ml. Em levantamentos brasileiros como o de OLIVEIRA (2003), as contagens variaram de 0 a 1254×10^3 células/ml. DELLA LIBERA (2004) encontrou mediana de 13×10^3 e 18×10^3 células/ml empregando, respectivamente, métodos de contagem automático e óptico. KAPRONEZAI (2004)

obteve uma mediana de 23×10^2 células/ml considerando todas as amostras do seu estudo, mas essa mediana foi menor quando o autor avaliou apenas aquelas com exame microbiológico negativo (19×10^2 células/ml).

Durante a inflamação, a CCS da glândula bovina em lactação pode elevar-se para mais de 10^6 células/ml (SCHALM et al., 1971). No entanto, o uso de parâmetros bovinos de CCS para a inferência de mastite subclínica em búfalas tem se mostrado inadequado, pois os valores das contagens são significativamente menores em bubalinos do que em bovinos (AMARAL et al., 2005; ARAÚJO & GHELLER, 2005). A maioria dos autores elegeu o valor de 5×10^5 células/ml para selecionar os quartos com presença ou ausência do quadro subclínico, sem necessariamente utilizar a confirmação microbiológica (RANUCCI et al., 1988; SINGH et al., 2002; VIVEK et al., 2002; DHAKAL, 2004).

Comparando os quartos mamários aparentemente saudáveis e microbiologicamente negativos com aqueles aparentemente saudáveis que estivessem eliminando agentes, DHAKAL (2004), AMARAL et al. (2005) e MORONI et al. (2006), reconheceram em seus estudos o limite de contagem 2×10^5 células/ml para triar quartos com mastite subclínica. CERÓN-MUÑOZ et al. (2002) sugeriram para esse fim o limiar de 283×10^3 células/ml.

O desenvolvimento de equipamentos para contagem automática de células somáticas tornou possível o exame de maior quantidade de vacas e rebanhos bovinos, facilitando os estudos relacionados ao manejo e à incidência de mastite no campo na espécie bovina (PHILPOT, 1986). Estimulou, ainda, o acompanhamento regular da situação individual dos animais em lactação viabilizando a triagem dos quartos mamários saudáveis e melhorando a qualidade dos derivados de leite nas indústrias que a adotaram (ANDREWS, 1983).

Também na bubalinocultura leiteira, apesar do tempo e da mão-de-obra exigidos, este método tem sido considerado há muito, como o mais preciso e confiável indicador da existência de mastite subclínica (RANUCCI et al., 1988; NAZEM & AZAB, 1998). Alguns entraves, no entanto, são evidenciados por diversos autores. Um deles é o fato desta técnica automática não permitir avaliar, como ocorre na técnica do microscópio, a participação diferenciada de células na reação inflamatória, como é o caso dos

mononucleares e polimorfonucleares ou mesmo células epiteliais, o que, na realidade bubalina, é de fundamental valor para definição de padrões fisiológicos e patológicos da glândula mamária (DELLA LIBERA, 2002).

Em virtude da observação de que o aumento da celularidade no leite indica a presença de reação inflamatória, SCHALM & NOORLANDER (1957) desenvolveram o *California Mastitis Test* (CMT), que se baseia na reação determinada por um detergente aniônico (alquil laurilsulfonato de sódio) capaz de emulsionar os lipídios das membranas das células epiteliais e dos leucócitos presentes no leite, liberando o seu material genético (DNA) e determinando formação de um composto gelificado correspondente à quantidade de células presentes. Em amostras de leite bovino, a intensidade da reação produzida pelo CMT é classificada em cinco escores, de acordo com XIA (2006): a) negativo (de 0 a 2×10^5 células/ml); b) traços ou suspeito (15×10^4 a 4×10^5 células/ml); 1+ (3×10^5 a 1×10^6 células/ml); 2+ (7×10^5 a 2×10^6 células/ml); e 3+ (com mais de 2×10^6 células/ml).

Ao relacionarem o estágio de lactação da búfala com a presença de mastite infecciosa, COSTA et al. (1997a) encontraram uma prevalência de 42,25% no início de lactação, de 33,34% no meio da lactação e de 20,31% no final da lactação, sendo *Staphylococcus* spp. e *Corynebacterium* spp., os agentes mais freqüentemente isolados nessas três fases. Em outro estudo, também realizado no Vale do Ribeira, COSTA et al. (1997b) revelaram uma prevalência de mastite subclínica em 14,5% de 1.252 quartos pertencentes a búfalas primíparas e múltiparas. A avaliação microbiológica destes casos subclínicos evidenciou 23,7% de infecção, onde destacaram-se: *Corynebacterium* spp. (59,25%) e *Staphylococcus* spp. (17,59%), ainda que também houvessem sido isolados: *Streptococcus agalactiae* (12,96%), *Enterobacteriaceae* (2,8%) e *Micrococcus* spp. (0,9%).

A CCS é uma prova amplamente utilizada em regiões com atividade leiteira desenvolvida para o diagnóstico de mastite subclínica, sendo uma ferramenta valiosa para prevenção de mastite nos rebanhos (TIMMS & SHULTZ, 1987).

A importância da contagem de células somáticas em programas de melhoramento genético de bovinos leiteiros é a associação genética entre a CCS e a presença de mastite nos animais (CRANFORD & PEARSON, 2001). Alguns estudos mostram uma

correlação genética entre a infecção bacteriana e a CCS próxima a unidade (WELLER et al., 1992). No trabalho feito por HERINGSTAD et al. (2004) foram estimadas correlações genéticas variando entre 0,24 e 0,73, indicando que essas variações devem-se aos efeitos dos diferentes estágios da lactação e a diferentes lactações. Assim, a CCS pode ser utilizada como característica para a seleção indireta para a resistência genética à mastite (RODRIGUEZ-ZAS et al., 2000; SCHAEFFER et al., 2000; HAILE-MARIAM et al., 2001b; MRODE & SWANSON 2002; entre outros).

As estimativas de herdabilidade para a CCS variam ao longo da lactação. EMANUELSON & PHILIPSSON (1984), por exemplo, estimaram herdabilidades variando de 0,26 a 0,40. Já GADINI et al. (1996) estimaram herdabilidades variando de 0,007 a 0,09 e MRODE & SWANSON (2002) de 0,04 a 0,17, para as CCS em diferentes estágios da lactação.

Geralmente a CCS tem sido analisada como a média da contagem na lactação, sendo esta, incluída nos objetivos nacionais de seleção de bovinos leiteiros em vários países por mais de 10 anos (INTERBULL, 1996; SCHAEFFER et al., 2000). Em outros países, têm-se procurado incorporá-la nos programas de avaliação genética, como na Alemanha (LIU et al., 2001) e na Austrália (HAILE-MARIAM et al., 2001a).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

AIA. ASSOCIAZIONE ITALIANA ALLEVATORI. Controlli della Produttività del Latte in Italia. **AIA**, Rome, Italy. 1999.

AMARAL, L. A., NADER FILHO, A., TONHATI, H., PENHA, L. H. C., TOLEDO, L. M., Variação no teor de cloretos do leite de búfala durante os diferentes meses no período de lactação, **ARS Veterinária**, v. 11, n. 1, 1995.

AMARAL, F. R.; CARVALHO, L.B.; BRITO, J. R. F.; SILVA, N. Qualidade do leite de búfalas: contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 101-105, abril/jun. 2005.

AMORIM JÚNIOR, A. A.; MIGLINO, M. A.; AMORIM, M. J. A. A. L.; SANTOS, T. C. Sistematização da veia cava cranial em búfalos (*Bubalus bubalis bubalis* Simpson, 1945). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 39, n. 6, p. 306-10, 2002.

ANDREWS, R. J., KITCHEN, B. J., KWEE, W. S., DUNCALFE, F. Relationship between individual cow somatic cell counts and the mastitis infection status of the udder. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 38, p. 71-74, 1983.

ARAUJO, D. K. G.; GHELLER, V. A. Aspectos morfológicos, celulares e moleculares da imunidade da glândula mamária de búfalas (*Bubalus bubalis*): revisão de literatura. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 77-83, abril/jun. 2005.

BEAUDEAU, F., HENKEN, A., FOURICHON, C., FRANKENA, K, SEEGER, H.. Associations between health disorders and culling of dairy cows: a review. **Livestock Production Science**, v. 35, p. 213–236, 1993.

BENEVIDES, C. M. J. Leite de búfala: Qualidades tecnológicas. **Higiene Alimentar**, v. 13, n. 62, p. 18-21, 1999.

BENEVIDES, C. M. J.; TRIGUEIRO, I. N.; SANTOS, M. A. F. Estudo da variação da produção e do teor de gordura, do leite de búfala (Raça Murrah) na micro-região de Catu-Ba em 165 dias de lactação. **Higiene Alimentar**. v. 15, n. 80/81, p. 100, 2001.

BUSANI, S. F. B. Matéria-prima. In: Utilização artesanal de leite de búfala. INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS - ITAL. Campinas, (Manual Técnico n.3). 1989.

CATILLO, G., MACCIOTTA, N. P. P.; CARRETTA, A.; CAPPIO-BORLINO, A. Effects of age and calving season on lactation curves of milk production traits in Italian water buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 85, p.1298–1306, 2002.

CERÓN-MUÑOZ, M. F.; TONHATI, H.; DUARTE, J. M. C. Contagem de células somáticas e produção de leite em bubalinos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, p. 8-10, 2002.

COELHO, K. O.; MACHADO, P. F. COLDEBELLA, A, CASSOLI, L. D.; CORASSIN, C. H. Determinação do perfil físico-químico de amostras de leite de búfalas, por meio de analisadores automatizados. **Ciência Animal Brasileira**, v. 5, n. 3, p. 167-170, jul./set. 2004.

COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; SILVA, J. O. B.; VEZON, P.; GABALDI, S. H.; BENITES, N. R.; BARUSELLI, P. S.; PASKE, A. Evaluation of the CMT positivity and the microbiologic status of the mammary gland over the different lactation phases in buffalo cows (*Bubalus bubalis*). In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 5., 1997a, Caserta. **Proceedings...** Caserta, 1997a. p. 631-634.

COSTA, E. O.; GARINO JR., F.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; VEZON, P.; BARUSELLI, P. S.; PASKE, A. Study of mastitis among ten dairy buffaloes herds (*Bubalus bubalis*) in the Vale do Ribeira São Paulo, Brazil. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 5., 1997b, Caserta. **Proceedings...** Caserta, 1997b, p. 635-638.

CRANFORD, J. L.; PEARSON, R. E. Relationships of sire predicted transmitting ability for somatic cell score with measures of daughter performance, **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1501-1507, 2001.

DALMÉ, M. C. F. O búfalo na pequena propriedade. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 09 jan. 2007. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br>>. Acesso em: 22 abr. 2007.

DE FRANCISIS, G.; & DI PALO, R. Búfalo Milk Production In: WORLD BÚFALO CONGRESS, 6, São Paulo 1994,. **Proceedings...**p.137-46. 1994.

DELLA LIBERA, A. M. M. P. **Avaliação dos fagócitos no leite de búfalas (*Bubalus bubalis*) híidas criadas no Estado de São Paulo.** 2002. 125 f. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

DELLA LIBERA, A. M. M., ARAUJO, W. P.; KITAMURA, S. S. K.; ROSENFELD, A. M. F. E BIRGEL, E. H. Citologia do leite de Búfalas (*Bubalus bubalis*) híidas criadas no Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4. p. 1087-1092, 2004.

DHAKAL, I. P. Normal somatic cell count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. **Buffalo Journal**, v. 20, n. 3, p. 261-70, 2004.

DUARTE, J. M. C.; Efeitos ambientais sobre a produção no dia do controle e características físico-químicas do leite em um rebanho bubalino no Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v. 56, n.5, p. 16-19, 2001.

EMANUELSON, U.; PHILIPSSON, J. Studies on somatic cell count in milk from Swedish dairy cows, II, Estimates of genetic parameters of monthly test-day results, **Acta Agrícola Scandinavia**, v. 34, p. 45-52, 1984.

FAO. Faostat agriculture data (Agricultural production-live animals-livestock). Disponível em: <<http://apps.fao.org>> acesso em:05 março 2007.

FERRARA, B.; INTRIERI, F. Características e uso do leite de búfala. **Revista Instituto de Laticínios Candido Tostes**, v. 177-182, n. 30, p.27-35, 1975.

FERREIRA, T. A. Características do leite de búfala e seus derivados. **Revista de leite & Derivados**, n. 22, p. 16-20, 1995.

FONSECA, W. Búfalo, estudo e comportamento. São Paulo: Ícone, 213p. (Coleção Brasil Agrícola). 1987.

GADINI, C. H.; KEOWN, J. F.; VLECK, L. D. V. Estimates of genetic parameters for first lactation test-day yields, **Journal of Dairy Science**, v. 79 supl 1, p. 142-158, 1996.

HAILE-MARIAM, H.; BOWMAN, P. J.; GODDARD, M. E. Genetic and environmental correlation between test-day somatic cell count and milk yield trait, **Livestock Production Science**, v. 73, p. 1-13, 2001a.

HAILE-MARIAM, M.; GODDARD, M. E.; BOWMAN, P. J. Estimates of genetic parameters for daily somatic cell count of Australian dairy cattle, **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1255-1264, 2001b.

HARMON, R. J. Fatores que afetam as contagens de células somáticas. In: Simpósio internacional sobre qualidade do leite, 1; Curitiba. **Anais**. Curitiba: UFPR; pp 7-15. 1998.

HARMON R. J. Somatic cell count: A primer. In: Annual Meeting National Mastitis Council, 40. Reno 2001. **Proceedings**. Madison: National Mastitis Council, pp 3-9. 2001.

HERINGSTAD, B, CHANG, Y. M. GIANOLA, D. E KLEMETSDAL, G. Multivariate threshold models analysis of clinical mastitis in multiparous Norwegian dairy cattle. **Journal Dairy Science**, 87, 3038-3046. 2004.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Banco de dados agregados – Sistema IBGE de recuperação automática. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em 05/05/2007.

INTERBULL. Sire evaluation procedures for non-dairy production and growth and beef production traits practiced in various countries, **Bulletin 13**, 1996.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Statistics: the world dairy situation 2002. **Bulletin of International Dairy Federation**, Document 378. p. 46-47, 2002.

ISEPON, J. S.; ISEPON, O. J.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Estudo das características físico-química do leite de búfalas (*Bubalus bubalis*), na região de Ilha Solteira – SP. In: CONGRESSO ZOOTECNIA DO ESTADO DE SÃO PAULO, 4. Jaboticabal, 1984. **Anais**...p. 93-98, 1984.

KAPRONEZAI, J. **Estudo de provas microbiológicas e celulares em amostras de leite provenientes de fêmeas bubalinas (*Bubalus bubalis*) no Estado de São**

Paulo. 2004. 82 f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

LESCOURRET, F.; COULON, J. B. Modelling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 8, p. 2289-2301, 1994.

LIU, Z.; REINHARDT, F.; REENTS, R. Parameter estimates of a random regression test day model for first three lactation somatic cell scores, p. 61-65, <http://www-interbull.slu.se/bulletins/bulletin26/Liu.pdf>, 2001.

MACEDO, M. P. Chemical composition of milk from Mediterranean buffalo cows raised in Brasil. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 5, Caserta, Itália. 1997. **Proceedings...**p. 213-216. 1997.

MADALENA, F. E. Economic evaluation for milk and beef production in tropical environments. In: WORLD CONGRESS GENETIC APPLIED LIVESTOCK PRODUCTION. 3, 1986. **Proceedings...** v. 9, p. 33-43. 1986.

MESQUITA, A, J. Qualidade físico-química e microbiológica do leite cru bubalino. CEGRAF/UFG; Goiânia -GO; BRASIL; v. 77; n. 1, 2002.

MORONI, P.; SGOIFO ROSSI, C.; PISONI, G.; BRONZO, V.; CASTIGLIONI, B.; BOETTCHER, P.J. Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 3, p. 998-1003, 2006.

MRODE, R. A.; SWANSON, G. J. T. Estimation of genetic parameters for somatic cell count in the first three lactations using random regression, **Livestock Production Science**, v. 79, n. 2, p. 239-247, 2002.

NADER FILHO, A.; AMARAL, L. A.; TONHATI, H.; PENHA, L. H. C.; TOLEDO, L. M. Variação das características físico-químicas do leite de búfala, durante os diferentes

meses do período de lactação. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v. 12, n. 2, p. 148-153, 1996.

NAZEM, A. M.; AZAB, M. H. Detection of apparently normal milk by screening and confirmatory methods. In: Scientific Congress, Faculty of Veterinary Medicine, 8., Assiut. 1998. **Proceedings**...Assiut, p. 1-12.

OLIVEIRA, A. A. F. **Avaliação da citologia aspirativa e de expressão no diagnóstico da mastite bubalina e pesquisa de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* toxigênicas e produtoras de beta-lactamase.** 2003. 87 f. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2003.

OSTRENSKY, A.; RIBAS, N. P.; MONARDES, H. G.; FLEMMING. J. S; ALMEIDA, R. AND HORST J.A. Environmental effects on Somatic Cell Score from Holsteins in Parana. **Proceedings** of the XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Society of Animal Production, July 04-27,Viçosa, MG, Brazil. 2000.

PHILPOT, N. W. Somatic cell counts and your mastitis control program. **Dairy Research Report**, p. 48-57, 1986.

PHILPOT W. N. and NICKERSON S. C. Mastitis: counter attack. **Babson Bros, Naperville.** 150p. 1991.

PRATA, L. F. Fundamentos de Ciência do Leite. Funep-Unesp, Jaboticabal, 2001. (Funep-Unesp. Apostila).

RANUCCI, S.; FRUGANTI, G.; VALENTE, C.; TESEI, B.; TULLIO, S. Laboratory tests for subclinical mastitis in buffaloes. **Selezione Veterinaria**, v. 29, n. 3, p. 495-506, 1988.

RODRIGUEZ-ZAZ, S. L.; GIANOLA, D.; SHOOK, G. E. Evaluation of models for somatic cell score lactation patterns in Holsteins. **Livestock Production Science**, v. 67, p.19-30, 2000.

ROSATI, A. & VAN VLECK, L. D. Estimation of genetic parameters for milk, fat, protein and mozzarella cheese production in the Italian river buffalo population. **Livestock Production Science**, v. 74, n. 2, p.185-190, 2002.

SCHAEFFER, L. R.; JAMROZIK, J.; KISTEMAKER, G. J.; VAN DOORMALM, B. J. Experience with a test-day model, **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1135-1144, 2000.

SCHALM, O. W., NOORLANDER, D. D. Experiments and observations leading to development of the *California Mastitis Test*. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 130, p. 199-204, 1957.

SCHALM, O. M.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. Bovine Mastitis. Philadelphia:Lea & Febiger,. p. 360, 1971.

SILVA, I. D.; SILVA, K. F. S. T. Total and differential cell counts in buffalo (*Bubalus bubalis*) milk. **Buffalo Journal**, v. 10, n. 2, p. 133-137, 1994.

SILVA, I. D. Functional efficiency of buffalo neutrophils. In: ROLE OF THE BUFFALO IN RURAL DEVELOPMENT IN ASIA, REGIONAL SYMPOSIUM, 7., 1996, Peradeniya, Sri Lanka, 1996. **Proceedings**...Peradeniya: NARESA Press, p. 457-467.

SILVA, M. S. T.; LOURENÇO JÚNIOR, J. B.; GONÇALVES, I. A.; MIRANDA, H. A.; ERCHSEN, R.; FONSECA, R. F. S. R. F.; MELO J. A.; COSTA, J. M. Programa de incentivo à criação de búfalos por pequenos produtores do PRONAF. Pará, 35p, 2003.

SINDHU, J. S; SINGHAL, O. P. Qualitative aspects of buffalo milk constituents for products technology. II WORLD BUFFALO CONGRESS, New Delhi - India, 1988. p. 263-281.

SINGH, A.; SAINI, A. L.; RANDHAWA, S. S. Variation in somatic cell count in relation to udder health and milk quality in cross bred cows and buffaloes. **Journal of Livestock and Poultry Production**, v. 18, n. 3/4, p. 52-62, 2002.

TEIXEIRA, L. V.; BASTIANETTO, E.; OLIVEIRA, D. A. A. Leite de búfala na indústria de produtos lácteos. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 29, n. 2, p. 96-100, abr./jun., 2005.

THOMAS, C. S. **Milking management of dairy buffaloes**. 2004. 52 f. Thesis (Doctor)-Department of Animal Nutrition and Management, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, 2004.

TIMMS, L. L.; SCHULTZ, L. H. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections, **Journal of Dairy Science**, v. 70, p. 2648-2657, 1987.

TONHATI, H. Estudo da curva de lactação em bubalinos. In: REUNIÃO ANUAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais...** p. 276-278, 1998.

TONHATI, H.; MUÑOZ, F. C.; OLIVEIRA, J. A. Parâmetros genéticos para a produção de leite, gordura e proteína de bubalinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 2051-2056, 2000.

TONHATI, H.; CANAES, T. S.; LIMA, A. L. F. Fatores que afetam a contagem de células somáticas e suas relações com a composição e produção de leite de

búfalas. <http://www.spmv.org.br/conpavet2004/palestras%20%20resumos/palestra%20buiatria%20Tonhati-celula%20somatica%20leite.doc>. 2004.

VARSHNEY, J. P. & NARESH, R. Evaluation of a homeopathic complex in the clinical management of udder diseases of riverine buffaloes. **Homeopathy**, v. 93, n. 1, p. 17-20, 2004.

VIANNI, M. C.; LÁZARO, N. S. Perfil de susceptibilidades a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isolados de mastite subclínica bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, 2003.

VIVEK, S.; ANSHU, S.; RAVINDER, S.; ASHOK, K. Comparison of various indirect tests for the detection of subclinical mastitis. **Buffalo Journal**, v. 18, n. 2, p. 267-71, 2002.

WELLER, J. SARAN, A.; ZELIGER, Y. Genetic and Environmental Relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2532-2540, 1992.

XIA, S. S. **The rheology of gel formed during the California Mastitis Test**. 2006. 126 f. Thesis (Master Science)-Department of Engineering, University of Waikato, Hamilton, New Zealand, 2006.

CAPITULO 2 - CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E A SUA RELAÇÃO COM A PRODUÇÃO DE LEITE EM BÚFALOS (*Bubalus bubalis*).

Contagem de Células Somáticas e a sua relação com a produção de leite em Búfalos (*Bubalus bubalis*).

Resumo - Considerando-se que a contagem de células somáticas (CCS) de amostras de leite é um valioso indicador da saúde do úbere de búfalas, foi desenvolvido este trabalho com o objetivo de estimar a relação existente entre a CCS e a produção de leite (PL). Foram analisadas informações de 23534 amostras de controles de CCS e PL, referentes a 2198 lactações de animais da raça Murrah com idades entre 2 e 15 anos, filhas de 187 reprodutores, que ocorreram entre os anos 1997 e 2004. O estudo foi dividido em duas partes. A primeira para verificar a freqüência de ocorrência das amostras de CCS analisadas em classes de contagens muito altas, altas, médias e baixas. A segunda parte, para associar as perdas nas produções de leite em cada controle leiteiro em função do aumento da contagem de células somáticas. Para quantificar as perdas de PL em relação à CCS, nas análises de variância para a variável PL, foram incluídos no modelo os efeitos fixos de fazenda, ordem e ano de parto e estação do parto o escore da contagem de células somáticas (ECCS) como covariável. O efeito de animal dentro da fazenda foi considerado como aleatório.

Os resultados indicaram que, de modo geral, ocorreram baixas, médias, altas e muito altas CCS para, respectivamente 96,34%, 2,3%, 0,96% e 0,4% das amostras. As classes de baixas e médias CCS, entretanto, foram as que apresentaram as maiores freqüências, confirmando que, em búfalos, há uma tendência a menores contagens que em bovinos. Ocorreram diferenças nas médias de CCS por ordem de parto e por estação de parto. Houve diferenças estatisticamente significativas ($P < 0,05$) para as médias da CCS em alguns controles. Em relação à ordem do parto foram observadas diferenças entre as freqüências das CCS sendo que, de modo geral, à medida que aumentou a ordem do parto, diminuiu a porcentagem de baixas contagens e aumentou as freqüências de contagens médias, altas e muito altas. Em relação à segunda parte

do estudo, que analisou as perdas na PL em função do aumento da CCS, em cada controle, verificou-se que todos os efeitos fixos afetaram significativamente a produção de leite em cada controle. Não foram observadas perdas nas produções de leite em cada controle, em função do aumento da CCS para as fêmeas de primeiro parto. Para fêmeas de segundo parto observou-se relação negativa e estatisticamente significativa entre PL e CSS nos meses 1, 2, 5, 6 e 7 da lactação. Para fêmeas de três ou mais partos o coeficiente de regressão linear foi negativo e significativo para todos os meses de lactação. As perdas médias de leite variaram de 0,18 a 2,2 kg por unidade de (ECS). Os resultados indicaram que as maiores perdas foram observadas em fêmeas pluríparas, devendo esta categoria receber uma especial atenção em relação à saúde do úbere. Os efeitos de fazenda, ano e ordem de parto devem ser considerados na comparação entre animais.

Palavras Chaves: contagem de células somáticas, mastite, produção de leite parcial.

1. Introdução

Mastite é o termo derivado da palavra grega *mastos* e do sufixo *itis* que significa inflamação do tecido secretor da glândula mamária, determinada por qualquer tipo de injúria. Além de diferentes causas ela também apresenta diferentes graus de intensidade e variações em sua duração e em suas conseqüências. Quanto à sua forma de apresentação, é denominada clínica quando acompanhada dos sinais que caracterizam a reação inflamatória (edema, calor, rubor, dor e distúrbios de função). Na ausência destes sinais visíveis, denomina-se mastite subclínica, cujo diagnóstico depende de testes aplicados ao leite que demonstrem os produtos da reação inflamatória e/ou as alterações da composição química da secreção aparentemente sadia (SCHALM et al., 1971; BLOOD et al., 1991). Na produção leiteira, a infecção intramamária é a doença mais onerosa, devido às perdas econômicas decorrentes do descarte do leite e reposição de animais, gastos com medicamentos e custos de serviços veterinários (DeGRAVES & FETROW, 1993; LESOURRET & COULON, 1994).

A prevalência da mastite subclínica em búfalas tem sido estudada em vários países, encontrando-se na literatura valores de 20,6% no Paquistão, 31,9% no Iraque e 54% no Egito (VIANNI & LÁZARO, 2003). Na Itália tem sido reportada uma prevalência de 63% (MORONI et al., 2006). No caso do Brasil, segundo COSTA et al. (2000), em rebanhos bubalinos do Estado de São Paulo, a presença de mastites subclínica e clínica representam 1,5% e 18,77%, respectivamente, das búfalas em produção de leite, levando a uma diminuição na produção e na qualidade do leite.

Quando a glândula mamária encontra-se infectada, cerca de 98 a 99% das células somáticas correspondem a células de resposta inflamatória (PHILPOT & NICKERSON, 1991) e, em uma glândula mamária sadia, 60% desta contagem correspondem aos macrófagos (GUTHY, 1986).

PASQUINI et al. (2003) e TRIPALDI et al. (2003) verificaram que, além da redução no volume de leite produzido na fazenda, à medida que aumenta a CCS, ocorrem implicações de rentabilidade e qualidade durante a produção de queijo. Em adição, os próprios patógenos causadores da mastite, ainda que minimamente

eliminados para o leite ordenhado, podem gerar aumento na contagem global de microrganismos em placa do leite entregue à indústria, além de produzir enzimas e toxinas termo-resistentes que representam, respectivamente, prejuízo à vida de prateleira do produto e risco considerável à saúde humana (GUARINO et al., 1996; TANTILLO et al., 1997; SUPINO et al., 2004).

A CCS é um indicador da saúde da glândula mamária e o desenvolvimento de equipamentos para contagem automática de células somáticas facilitou os estudos relacionados ao manejo e à incidência de mastite na espécie bovina (SCHALM et al., 1971; RENEAU, 1986; PHILPOT, 1986).

GADINI et al. (1997) observaram que, como a medida da CCS é mais fácil e mais barata quando comparada com os testes bacteriológicos, esta tem se convertido numa ferramenta importante para o manejo de animais leiteiros. A CCS serve como um método preventivo por permitir o acompanhamento regular da situação individual dos animais em lactação, levando à diminuição da incidência de mastite nos rebanhos (RIBAS, 1994) e elevando a qualidade da matéria-prima que é enviada aos laticínios (ANDREWS et al., 1983). ALLORE et al. (1998) indicaram que a contagem feita com amostras individuais é utilizada como medida de saúde do úbere, enquanto que a CCS das amostras do tanque de leite é usada como medida de qualidade.

Existem muitos fatores que podem afetar ou alterar a contagem de células somáticas no leite. O estágio da lactação, as diferentes variações sazonais, a idade ou o número de lactações do animal, o manejo e o próprio animal, são determinantes nas variações da contagem de células somáticas (BRITO et al., 1997).

Em relação aos valores das contagens de células somáticas, alguns autores têm considerado para bubalinos um valor superior a 500.000 células/ml, para selecionar os quartos com presença ou ausência do quadro subclínico, sem necessariamente utilizarem a confirmação microbiológica (SINGH et al., 2002; SINGH et al., 2004; DHAKAL, 2004). Por outro lado PICCINI et al. (2006) sugeriram a contagem de 400.000 células/ml como ponto de triagem. Da mesma maneira na Europa, segundo “The European Union Directives (92/46CEE e 94/71 CEE)”, encontra-se um limite de 400.000 células/ml para leite cru, quando este leite for usado para a elaboração de produtos a base de leite cru.

Na Itália, TERRAMOCCIA et al. (2001) determinaram um limite de 400.000 células /ml, para encontrar efeitos negativos na produção do principal derivado do leite de búfala, o queijo “Mozzarella”.

Por não possuir uma distribuição normal, a CCS deve ser transformada para uma escala logarítmica em escore de células somáticas, possibilitando o cálculo das perdas obtidas na produção de leite, pelo aumento das células (GADINI et al., 1997). SHOOK (1982) sugeriu o método de escore linear (EL), permitindo o estabelecimento de uma relação direta entre o escore e as perdas de produção de leite relacionadas à mastite. GADINI et al. (1997), HAILE-MARIAM et al. (2001) e MAGALHÃES et al. (2006) concluíram que existe uma associação entre o aumento na CCS e a diminuição da produção de leite de bovinos. CERÓN-MUÑOZ et al. (2002) confirmaram essa observação em búfalas, encontrando também uma alteração nos níveis dos seus constituintes, principalmente na lactose.

HORTET et al. (1999) e RENEAU (1986) afirmaram que fêmeas mais velhas tendem a ter infecções mais longas, causando danos mais extensos no tecido glandular mamário. Coeficientes de regressão negativos entre a produção de leite e a contagem de células somáticas em fêmeas de mais de 2 partos também foram encontrados por RAUBERTAS & SHOOK (1982), MILLER et al. (1993), FELTROW et al. (2000), MILLER et al. (2004).

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de determinar as perdas na produção de leite de bubalinos em diferentes estágios da lactação em função do aumento da contagem de células somáticas e descrever a frequência de ocorrência da contagem de células somáticas ao longo da lactação.

2. Material e métodos

Foram analisados dados referentes a 23534 amostras de leite, correspondentes a 2198 lactações de 1052 fêmeas bubalinas da raça Murrah, pertencentes a 12 rebanhos leiteiros do Estado de São Paulo. As lactações foram provenientes de diferentes ordens do parto, obtidas entre 1997 e 2004.

As propriedades localizam-se numa região de clima subtropical na qual predominam duas épocas definidas no ano, uma época seca e fria (Abril-Setembro), uma úmida e quente (Outubro-Março). A maior frequência de partos concentrou-se em um período de transição entre essas épocas (Fevereiro-Abril).

De maneira geral, os animais eram manejados em pastejo rotacionado em pastos formados por *Brachiaria brizantha* ou *Panicum maximum*. A suplementação alimentar era definida conforme a disponibilidade das propriedades, oferecendo-se feno na época seca.

Para a análise da distribuição da frequência de ocorrência da CCS foi utilizado o procedimento FREQ do programa estatístico SAS (2000). As médias da CCS em função do controle na lactação e em função da ordem e estação do parto foram comparadas pelo teste de Tukey. Para a realização dos testes de comparação de médias da CCS foi necessária realizar uma transformação em escala logarítmica (CCSt), utilizando-se a função $CCSt = [\log_2 (CCS/100.000)] + 3$, proposta por DABDOUB & SHOOK (1984).

Para determinar a distribuição da frequência da CCS, esta foi transformada em classes tomando como referência o limite de 400.000 cél/ml, onde, segundo TERRAMOCCIA et al. (2001), a partir deste valor encontra-se afetada a produção e o rendimento do queijo “Mozzarella”, principal produto derivado do leite bubalino. As classes, de 1 a 4, foram definidas na Tabela 1.

Tabela 1. Classes de contagem de células somáticas	Número de Células/ml
1 Baixa contagem	0 – 200.000
2 Média contagem	200.001 – 400.000
3 Alta contagem	400.001 – 1.000.000
4 Muito alta	≥1.000.001

Para avaliar os efeitos da CCS sobre a produção de leite mensal, foram realizadas nove análises de variância, pelo método de quadrados mínimos, tendo como variável dependente a produção de leite em cada mês de lactação. A CCS foi considerada como covariável no modelo, com efeito aninhado dentro de ordem do parto

e classificada por escores (ECCS), segundo a escala do SHOOK (1982), como pode ser visto na Tabela 2.

Tabela 2. Classificação da contagem de células somáticas, em escores, de acordo com SHOOK (1982).

Classe Linear	Número CCS (10^3 cel/ml)
0	0-17
1	18-34
2	35-70
3	71-140
4	141-282
5	283-565
6	566-1130
7	1131-2262
8	2263-4525
9	>4525

As contagens de células somáticas foram feitas por citometria de fluxo empregando-se o Somacount 300[®] (Bentley Instruments. Inc.).

O modelo utilizado para cada um dos meses de lactação foi:

$$y_{ijklm} = \mu + AE_i + F_j + v_{k:j} + O_l + \beta_l (x_{ml} - x_l) + e_{ijklm}$$

y_{ijklm} = produção de leite em cada mês da lactação;

μ = média geral;

AE_i = efeito fixo de ano do controle (8) e estação (2);

F_j = efeito fixo de rebanho (12 rebanhos);

$v_{k:j}$ = efeito aleatório da búfala dentro de cada rebanho (1052);

O_l = efeito fixo da l-ésima ordem de parto (1, 2 e 3 ou maiores),

β_l = coeficiente de regressão linear do ECCS dentro de cada parto;

x_{ml} = ECCS em cada controle;

x_l = média de CCS em cada controle, dentro de cada parto;

e_{ijklm} = erro aleatório associado a cada observação.

3. Resultados e discussão

Os resultados da distribuição das freqüências para os diferentes níveis de CCS nos rebanhos estudados encontram-se na Tabela 3. Os resultados encontrados, de 0,96% de amostras contendo contagens altas e 0,4% das amostras com contagens muito altas, mostram que, na espécie bubalina a presença de altas contagens de células somáticas é menor do que em bovinos. Resultados semelhantes foram encontrados também por SURIYASATHAPOM (2000) e, devido à estreita relação existente entre a susceptibilidade à mastite e a CCS, pode-se levantar a hipótese que as búfalas são menos susceptíveis à mastite, concordando com os resultados encontrados por LÁU (1994).

As freqüências dos diferentes níveis de CCS (Tabela 3) foram semelhantes às encontradas por PRASAD et al. (1996), que relataram valores menores que 250.000 células/ml em 93% das búfalas analisadas e, entre 250.000 a 500.000 células/ml em 3-4% dos animais. Em outro estudo, MEIRELLES (1997) relatou que 97,52% das amostras apresentaram CCS abaixo de 250.000 células/ml.

Nos resultados apresentados na Tabela 3, foram observadas variações na freqüência das CCS em função do mês da lactação. As classes baixa e média, entretanto, foram as que apresentaram as maiores freqüências, confirmando que, em búfalos, há uma tendência às menores contagens. As médias de CCSt apresentaram diferenças significativas ($P < 0,05$) em função do mês do controle, embora os escores tenham sido sempre menores que dois. Os maiores valores para CCS ocorreram no primeiro mês (126131 células/ml), e a partir do sexto mês de lactação, sendo que as maiores médias ocorreram no nono mês de lactação (137959 células/ml). Esse, padrão também foi descrito por CERÓN-MUÑOZ et al. (2002).

Tabela 3. Distribuição da frequência da contagem de células somáticas (%) de acordo com as categorias, número de informações (N) e médias observadas e desvio padrão (DP) da CCS e média da Contagem de células somáticas transformada (CCSt) em búfalas da raça Murrah.

	BAIXA	MEDIA	ALTA	MUITO ALTA	N	Média da CCS ± DP (cél/ml)	Média da CCSt ±DP *
GERAL	96,34	2,3	0,96	0,4	23534	98116 ± 317170	1,31±2,02
CONTROLE							
1	96,99	1,58	0,85	0,58	3293	126131 ±478966	1,51±2,06 B
2	97,58	1,27	0,74	0,4	3226	74067 ±292238	0,74±1,96 D
3	97,19	1,7	0,85	0,26	3062	74121 ±231202	0,94±2,01 C
4	96,7	2,31	0,65	0,34	2943	83869 ±280786	1,02±1,98 C
5	95,88	2,95	0,98	0,18	2843	85706±236106	1,16±1,97 C
6	95,96	2,69	0,82	0,52	2673	96836 ±247312	1,52±1,91 B
7	95,36	2,9	1,31	0,44	2519	99429±235355	1,52±1,92 B
8	94,54	3,17	1,73	0,56	2142	107270 ±274231	1,65±1,98 B
9	94,96	3,72	1,08	0,24	833	137959 ±349016	1,85±2,14 A

*letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Vários autores também têm descrito a influência do estágio da lactação sobre as variações na CCS em vacas livres de infecção na glândula mamária (SCHUTZ et al., 1990), e esta influência pode ocorrer tanto no início quanto no final da lactação. No final da lactação os autores observaram um aumento na CCS, provavelmente, devido a uma maior descamação natural do epitélio da glândula mamária, o que também foi descrito por HARMON & RENEAU (1993) e MONARDES (1994).

Em relação à ordem do parto foram observadas diferenças entre as frequências das CCS, sendo que, de modo geral, à medida que aumentou a ordem do parto, a porcentagem de baixas contagens diminuiu e as frequências de contagens médias, altas e muito altas aumentaram (Tabela 4). Das três ordens de parto avaliadas, o teste de comparação de médias indicou que ocorreram diferenças significativas ($P < 0,05$) nas médias de CCSt, sendo maiores no terceiro parto. HORTET et al. (1999) e RENEAU (1986), trabalhando com bovinos, e MENDOZA-SANCHEZ et al. (2006) trabalhando com búfalas, afirmaram que as fêmeas mais velhas tendem a ter infecções mamárias

mais longas, produzindo lesões mais extensas no tecido glandular mamário, o que justifica as maiores médias da CCS em animais mais velhos, encontradas no presente estudo.

Tabela 4. Distribuição de frequência da ocorrência de contagem de células somáticas (%) de acordo com as categorias, número de informações (N), médias da CCS e da CCSt por ordem e estação de parto em búfalas da raça Murrah.

	BAIXA	MÉDIA	ALTA	MUITO ALTA	N	Média de CCS (cél/ml)	Média de CCSt \pm DP*
ORDEM DE PARTO							
1	98,56	0,92	0,36	0,15	7798	50209	0,53 \pm 0,92 C
2	96,8	1,87	0,94	0,39	5193	86388	1,15 \pm 1,76 B
3 \geq	94,47	3,53	1,41	0,59	10543	124196	1,50 \pm 2,03 A
ESTAÇÃO DE PARTO							
SECA	97,0	1,82	0,89	0,30	9471	81404	1,13 \pm 1,65 B
AGUAS	95,9	2,62	1,01	0,47	14063	101651	1,62 \pm 1,80 A

*letras diferentes indicam diferenças significativas ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Outro fator importante que tem que ser levado em consideração na variação da CCS é a estação do ano. No verão, em função do estresse calórico, os animais apresentam menor consumo de alimentos e conseqüentemente menor produção de leite, o que leva a uma maior concentração das células somáticas (SANTOS & FONSECA, 2000). Além do estresse térmico, o aumento da umidade no verão aumenta a susceptibilidade a infecções da glândula mamária e também o número de patógenos aos quais as vacas estariam expostas (HARMON & RENEAU, 1993).

SINGH & LUDRI (2001), verificaram que a estação do ano tem efeito significativo sobre a CCS, sendo menores as contagens no inverno (76.000 células/ml) e na estação quente e seca (108.000 células/ml), e mais altas na estação quente e úmida, de 135.000 células/ml. Tais valores foram bem próximos aos encontrados no presente estudo, cujas médias foram de 81.404 células/ml, na estação seca, e 101.651 células/ml, na estação das águas (Tabela 4). As médias de CCSt foram significativamente diferentes ($P < 0,05$) nas duas estações.

Em relação ao estudo da relação entre a CCS e a PL (Figura 1), pode ser observado que a média da CCS no decorrer dos meses da lactação mostra uma

tendência inversa à observada para a produção de leite. A média de PL do primeiro mês da lactação foi de $6,42 \pm 3,0$ kg. aumentando até o segundo mês de lactação, quando ocorreu o pico ($7,42 \pm 3,0$ kg) e diminuindo a partir daí até o final da lactação. A média da CCS no primeiro mês da lactação foi de 108 mil \pm 234 mil células/ml, diminuindo no segundo, terceiro e quarto meses (91 mil \pm 227 mil células/ml) e aumentando progressivamente até o nono mês da lactação (103 mil \pm 197 mil células/ml).

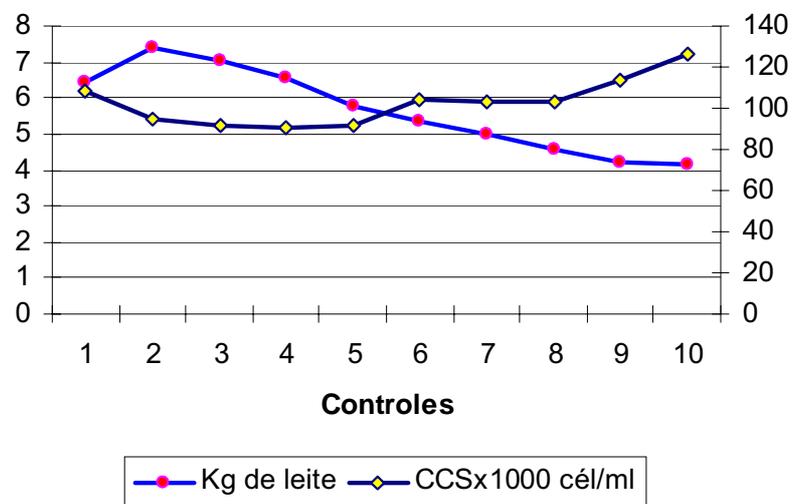


Figura 1. Curvas de produção de leite e de contagem de células somáticas ao longo da lactação.

As análises de variância indicaram diferenças altamente significativas dos efeitos de ano e de fazenda sobre a produção de leite (PL) de fêmeas de primeiro parto, em todos os meses da lactação ($P \leq 0,01$). Entretanto, a regressão linear da PL sobre a CCS não foi significativa em fêmeas de primeiro parto, nos diferentes meses (Tabela 5), o que está de acordo com o esperado, segundo resultados da literatura. No segundo parto, o efeito da CCS sobre a produção não foi significativo ($P \leq 0,05$) no terceiro, quarto, oitavo, nono e décimo mês da lactação. As perdas na produção de leite variaram de 0,20 kg (quinto mês) a 0,26 kg (primeiro mês) por classe de escore de CCS.

Tabela 5. Coeficientes de regressão linear da produção de leite sobre as classes de células somáticas (Kg/ECCS) dentro de cada mês de lactação de acordo com a ordem de parto.

Ordem de parto	MESES DE LACTAÇÃO								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
2	-0,26*	-0,25*	ns	ns	-0,20*	-0,20*	-0,23**	ns	ns
≥3	-0,18*	-0,22**	-0,24**	-0,32**	-0,19**	-0,26**	-0,28**	-0,26**	ns

ns – não significativo * significativo P<0,05 ** significativo P<0,01

Em fêmeas de três ou mais partos os coeficientes de regressão foram negativos e significativos ($P < 0,05$ e $P < 0,01$) até o oitavo mês de lactação, sendo não significativos apenas no nono mês (Tabela 5). As perdas de leite variaram de 0,18 kg (primeiro mês) a 0,32 kg (terceiro mês).

De acordo com os resultados, a perda de leite determinada pelo aumento da CCS na primeira lactação não foi significativa. Isto coincide com o reportado por HARMON (2001) em bovinos e, por CERÓN-MUÑOZ et al. (2002) em búfalas, os quais observaram que no primeiro parto a CCS é baixa em todos os meses da lactação, provavelmente, porque a vaca no primeiro parto foi menos exposta aos ambientes contaminados por patógenos causadores da mastite. Neste trabalho, a relação entre perdas na produção de leite e aumento da CCS, foi mais evidente em fêmeas com três ou mais partos, confirmando o que foi encontrado por RENEAU (1986), OSTRENSKY et al. (2000) e HARMON (2001), que concluíram que, em animais primíparos a CCS é menor, apresentando uma tendência a aumentar especialmente após o quinto parto.

Ainda que não tenha sido observada uma associação linear entre a CCS e a PL ao longo da lactação em fêmeas de primeiro parto ou nos meses 2 e 3 em fêmeas de segundo parto (Tabela 5), o fato dela ter existido nas fêmeas de três ou mais partos sugere a ocorrência de um comprometimento da glândula mamária com o passar das lactações, que pode determinar uma relação mais estreita entre a contagem de células somáticas e a produção de leite, indicando tanto a diminuição da produção quanto a necessidade de um maior controle da CCS em fêmeas adultas.

4. Conclusões

Os resultados observados no presente trabalho permitiram concluir que existe uma influência do ambiente (estação do ano, mês da lactação) na expressão da CCS nas búfalas.

Altas contagens de células somáticas podem proporcionar perdas na produção de leite, em especial, nas fêmeas com dois ou mais partos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLORE, H. G.; WILSON, D. J.; ERB, H. N.; AND OLTENACU, P. A. Selecting linear-score distributions for modeling milk-culture results. **Preventive Veterinary Medicine**, v 3, p 11-29, 1998.

ANDREWS, R. J., KITCHEN, B. J., KWEE, W. S., DUNCALFE, F. Relationship between individual cow somatic cell counts and the mastitis infection status of the udder. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 38, p. 71-74, 1983.

BLOOD, D. C. AND RADOSTITS, O. M. *Veterinary Medicine*. 7th edition London: Baillière Tindall. P. 5001-5059, 1991.

BRITO, J. R. F. Sensibilidade e especificidade do California Mastitis Test como recurso diagnostico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, p. 49-53, 1997.

CERÓN-MUÑOZ, M. F.; TONHATI, H.; DUARTE, J.; OLIVEIRA, J.; MUNOZ-BERROCAL, M.; JURADO-GAMEZ, H. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. **Journal of Dairy Science**. Champaign, v. 85, n. 11, p 2885- 2889, 2002.

COSTA, E. O.; WATANABE, E. T.; RIBEIRO, A. R.; GARINO, J. R. F.; HOURITI, A. M.; BARUSELLI, P. S. Mastite bubalina: etiologia, índices de mastite clínica e subclínica. **Napgama**, v. 1, p. 12-15. 2000.

DeGRAVES, F. J.; FETROW, J. Economics of mastitis and mastitis control. The Veterinary Clinics of North America: **Food Animal Practice**, v. 9, n. 3, p. 421-434, 1993.

DHAKAL, I. P. Normal somatic cell count and subclinical mastitis in Murrah buffaloes. **Buffalo Journal**, v. 20, n. 3, p. 261-70, 2004.

FELTROW, J.; STEWART, S.; EICKER, S.; FARNSWORTH, R.; BEY, R. Mastitis: An economic consideration. In: annual meeting of the national mastitis council, 39, Atlanta, 2000. **Proceedings...**Madison: National Mastitis Council, p. 3-47. 2000.

GADINI, C. H.; KEOWN, J. F.; VLECK, L. D. V. Parâmetros genéticos do escore de células somáticas. In: Reunião anual da sociedade brasileira de zootecnia, 34, Juiz de Fora 1997. **Anais...** Juiz de Fora: SBZ; v. 3, p. 41-43. 1997.

GUARINO, A.; FUSCO, G.; FENIZIA, D.; MEROLA, A.; ROMANO, M. Chemical and bacteriological studies on buffalo milk in Caserta province, Italy. **Veterinária Italiana**, v. 32, n. 20, p. 35-9, 1996.

HAILE-MARIAM, H.; BOWMAN, P. J.; GODDARD, M. E. Genetic and environmental correlation between test-day somatic cell count and milk yield trait. **Livestock Production Science**, v. 73, p. 1-13, 2001.

HARMON, R. J.; RENEAU, J. K. Factors affecting somatic cell counts in milk. In: 32^o National Mastitis Council Annual Meeting. **Proceedings...** Kansas City, p. 38-35, 1993.

HARMON, R. J. Fatores que afetam as contagens de células somáticas. In: Simpósio internacional sobre qualidade do leite, 1; Curitiba. **Anais**. Curitiba: UFPR; pp 7-15. 1998.

HARMON, R. J. Somatic cell count: A primer. In: Annual Meeting National Mastitis Council, 40., Reno 2001. **Proceedings**...Madison: National Mastitis Council, p. 3-9. 2001.

HORTET, P.; BEAUDEAU, F.; SEEGER, H.; FOURICHON, C. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600.000 cell/mL in French Holstein cow clinical mastitis. **Livestock Production Science**, v. 61, n. 1, p. 33-42, 1999.

LÁU, H. D. Important economic diseases in buffaloes. In: WORLD BUFFALO CONGRESS, 4., São Paulo, 1994, **Anais**...São Paulo: Associação Brasileira de Criadores de Búfalos, p. 209-220.

LESCOURRET, F.; COULON, J. B. Modelling the impact of mastitis on milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n. 8, p. 2289-2301, 1994.

MAGALHÃES, H. R.; EL FARO, L.; CARDOSO, V. L, PARO DE PAZ, C. C.; CASSOLI, L. D.; MACHADO P. F. 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. **Revista Brasileira de Zootecnia.**, v.35, n.2, p.415-421, 2006

MEIRELLES, F. S. **Mastite subclínica bacteriana e sua relação com a Contagem de Células Somáticas no leite de búfalas no estado de Pernambuco.** 45p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 1997.

MENDOZA-SANCHEZ, G.; CERON-MUÑOZ, M. F.; TONHATI, H.; LIMA, A. L. F.; SENO. L. O.; OTAVIANO, A. R. Relación entre el recuento de células somáticas y la

producción de leche de búfalas en el estado de São Paulo, Brasil. **Livestock Research for Rural Development**. 18 (1) 2006. www.cipav.org.co/lrrd/lrrd18/1/cont

MILLER, R. H.; PAAPE, M. J.; FULTON, L. A.; SCHUTZ, M. M. Relationship of milk somatic cell count for Holstein heifers after first calving. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 3, p.728-733, 1993.

MILLER, R. H.; NORMAN, H. D.; WIGGANS, G. R.; WRIGHT, J. R.; Relationship of Test-Day somatic cell score with Test-Day and lactation milk yields. **Journal of Dairy Science**, v. 87, n. 7, p. 2299-2306, 2004.

MONARDES, H. G., HAYES, J. F.; MOXLEY, J. E.. Heritability of lactation cell count measures and their relationships with milk yield and composition in Ayrshire cows. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 2429–2435, 1984.

MORONI, P.; SGOIFO ROSSI, C.; PISONI, G.; BRONZO, V.; CASTIGLIONI, B.; BOETTCHER, P.J. Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 3, p. 998-1003, 2006.

OSTRENSKY, A.; RIBAS, N. P.; MONARDES, H. G.; FLEMMING, J. S.; ALMEIDA, R.; HORST, J. A. Environmental effects on Somatic Cell Score from Holsteins in Paraná In: Annual Meeting of the Brazilian Society of Animal Production, 27. **Proceedings**...Viçosa, 2000. MG, Brazil. 2000.

PASQUINI, M.; TOMMEI, B.; MATTII, S. Buffalo milk: proteins electrophoretic profile and somatic cell count. **Italian Journal of Animal Science**, v. 2, n. 1, p. 299-301, 2003.

PHILPOT, N. W. Somatic cell counts and your mastitis control program. **Dairy Research Report**, p. 48-57, 1986.

PHILPOT W. N.; NICKERSON S. C. Mastitis: counter attack. Babson Bros, Naperville. 150p. 1991.

PICCINI, R.; MIARELLI, M.; FERRI, B.; TRIPALDI, C.; BELOTI, M.; DAPRÀ, V.; ORLANDINI, S.; ZECCONI, A. Relationship between cellular and whey components in buffalo milk. **Journal of Dairy Research**, v. 73, n. 2, p. 129-133, 2006.

PRASAD, R. V.; RATHMAN, K.; SHAH, D. G. investigation on prevalence of subclinical mastitis in Kaira district, India. **Indian Journal Dairy Science**, v. 49, p. 441-447, 1996.

RAUBERTAS, R. F.; SHOOK, G. E. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 6, p. 419-425, 1982.

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 6, p. 1708-1720, 1986.

RIBAS, N. P. Análise do leite. **Gado Holandês**, v. 57, n. 10, p 92-94, 1994.

M. VEIGA DOS SANTOS.; FONSECA, L.F.L. Qualidade do leite e controle de mastite. Lemos Ed. Brasil. 175 p. 2000.

SAS. SAS/STAT. User's Guide 8.0. Cary: SAS Institute (Compact disc). 2000.

SCHALM, O. M.; CARROLL, E. J.; JAIN, N. C. Bovine Mastitis. Philadelphia:Lea & Febiger, 360 p, 1971.

SHOOCK, G. E. A linear scale for scoring somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v. 65, supplement I.1, p108, 1982.

SCHUTZ, M. M. Genetic evaluation of somatic cell scores for United States dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v. 77, p.2113–2129. 1994.

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

SINGH, A.; SAINI, A. L.; RANDHAWA, S. S. Variation in somatic cell count in relation to udder health and milk quality in cross bred cows and buffaloes. **Journal of Livestock and Poultry Production**, v. 18, n. 3/4, p. 52-62, 2002.

SINGH, R. S.; BANSAL, B. K.; RANDHAWA, S. S.; MAVI, P. S. Effect of lactation therapy on quarter infection and milk composition in specific mastitis of buffaloes. **Indian Journal of Veterinary Medicine**, v. 24, n. 1, p. 16-18, 2004.

SUPINO, M. T.; GALLO, M.; CAPO, G.; MORENA, C.; DURANTE, G.; GALIERO, G. Buffalo milk produced in the province of Salerno: evaluation of sanitary and product parameters. **Bubalus Bubalis**, v. 10, n. 1, p. 22-26, 2004.

SURIYASATHAPOM, W.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELEM, M.; BRAND, A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1248-1255, 2000.

TANTILLO, G.; VERGARA, A.; MANGINELLI, T. Evaluation of buffalo milk: health and hygiene aspects. **Latte**, v. 22, n. 7, p. 70-75, 1997.

TERRAMOCCIA, S.; BARTOCCI, S.; TRIPALDI, C.; DANESE, V. Difficoltà alla coagulazione del latte di bufala caratteristiche chimico-fisiche e sanitarie. In: CONGRESSO NAZIONALE SULL'ALLEVAMENTO DEL BUFALO, 1., 2001, Eboli (SA). **Proceedings...Ed.**, p. 256-259.

TRIPALDI, C.; TERRAMOCCIA, S.; BARTOCCI, S.; ANGELUCCI, M.; DANESE, V. The effects of the somatic cell count on yield, composition and coagulating properties of Mediterranean buffalo milk. **Asian Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 16, n. 5, p. 738-742, 2003.

VIANNI, M. C. E.; LÁZARO, N. S. Perfil de susceptibilidade a antimicrobianos em amostras de cocos Gram-positivos, catalase negativos, isoladas de mastite subclínica bubalina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 23, n. 2, 2003.

CAPITULO 3 - PARÂMETROS GENÉTICOS PARA A CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS UTILIZANDO DIFERENTES MODELOS.

Parâmetros Genéticos para a Contagem de Células Somáticas Utilizando Diferentes Modelos.

Resumo: No presente estudo estimou-se os parâmetros genéticos para a contagem de células somáticas após a transformação logarítmica (CCSt), utilizando “test day models” e modelo convencional, considerando a média da contagem de células somáticas até os 270 dias da lactação (CCSt270) e a produção de leite aos 270 dias (PL270). No estudo foram analisadas 4757 lactações completas de búfalas da raça Murrah e os componentes de (co) variância foram estimados usando método de máxima verossimilhança restrita. A (CCSt) de cada mês da lactação foi considerada como uma característica distinta, em análises uni e bicaracterísticas. O modelo incluiu como efeitos aleatórios, o genético aditivo direto e de ambiente permanente (para a CCSt270 e para a PL270) e o residual. Além disso, foi considerado como efeitos fixos, o grupo de contemporâneos (rebanho-ano-mês do controle) para a CCSt nos diferentes meses e grupo de contemporâneos (rebanho-ano-estação do parto) para a CCSt270 e PL270, o número de controle e a idade da vaca ao parto como covariável (efeito linear e quadrático). As estimativas de herdabilidade obtidas por meio das análises uni-características oscilaram entre 0,06 e 0,50 para a CCSt e 0,28 para a CCSt270. As estimativas de herdabilidade obtidas por análises bi-características oscilaram entre 0,25 e 0,65 para a CCSt e 0,60 até 0,66 quando realizadas com a CCSt270. Todas as correlações entre as CCSt e a CCSt270 foram positivas variando de 0,50 até 0,91 para o componente genético e de 0,59 até 0,82 para o componente fenotípico. A correlação genética entre a CCSt e PL270 dias variou de 0,10 até -0,52; a fenotípica de 0,0 até -0,37. A correlação genética entre a CCSt270 e PL270 foi de -0,11 e de -0,15 para a correlação fenotípica.

Palavras Chaves: Avaliação genética, bubalinos, Componentes de variância, Dados longitudinais, Herdabilidade, Mastite.

1. Introdução

As células somáticas estão presentes normalmente no leite e referem-se a vários tipos de células, incluindo neutrófilos, macrófagos, linfócitos, eosinófilos e várias células epiteliais da glândula mamária. A concentração de células somáticas no leite é mensurada pela contagem de células somáticas (CCS) e é a medida de milhares de células por mililitro de leite (SAMORÉ, 2003). O leite obtido de um úbere normalmente sadio, usualmente contém uma quantidade menor do que 10^5 células somáticas por ml (KHERLI & SHUSTER, 1994).

A ocorrência de infecção na glândula mamária estimula as defesas do organismo e, conseqüentemente, a mobilização de um grande número de leucócitos e neutrófilos desde o fluxo sanguíneo para a glândula mamária. Como conseqüência desta mobilização ocorre um considerável aumento na concentração no número de leucócitos e a quantidade de células epiteliais sofre um incremento pouco significativo (SORDILLO et al., 1996).

O uso da CCS para propósitos de seleção tem sido amplamente discutido, e acredita-se que a seleção para diminuição da CCS pode reduzir a susceptibilidade à mastite (PHILIPSSON et al., 1995). Por outro lado, levando em conta que o aumento da CCS é um meio usado pelo próprio organismo para se defender dos ataques de patógenos na glândula mamária, a seleção para CCS muito baixas pode debilitar a resistência dos animais à mastite (SURIYASATHAPORN et al., 2000). Além disso, as vacas que apresentam baixas médias de CCS na primeira lactação têm menores riscos de apresentar mastite clínica na segunda lactação, sugerindo que objetivos de seleção devem favorecer vacas com baixas CCS observadas (RUPP et al., 2000).

Quando é complicado fazer uma estimação direta da incidência dessa doença, a CCSt é uma boa medida para seleção indireta para resistência à mastite (HERINGSTAD et al., 2000).

A CCS foi incluída nos objetivos nacionais de seleção de bovinos leiteiros em vários países por mais de 10 anos (INTERBULL, 1996; SCHAEFFER et al., 2000) e, em alguns países, têm-se procurado incorporá-la nos programas de melhoramento

genético, como na Alemanha (LIU et al., 2001) e na Austrália (HAILE-MARIAM et al., 2001a).

Geralmente a CCS tem sido estudada como a média da contagem na lactação, no entanto, pesquisas desenvolvidas por RENEAU (1986) e HARMON (1994) mostraram que se deve estudar a CCS nos diferentes estágios da lactação, porque a curva de produção de leite é inversamente proporcional à curva de CCS. Nos últimos anos, em vários países têm-se optado por avaliar os animais utilizando modelos “test-day” ao invés de modelos que utilizam a média da CCS na lactação, por apresentarem resultados mais acurados.

Os modelos “test-day” podem ser aplicados no estudo genético da CCS, que é utilizada como característica de seleção indireta para a resistência genética à mastite em bovinos (RODRIGUEZ-ZAS et al., 2000; SCHAEFFER et al., 2000; HAILE-MARIAM et al., 2001b; MRODE & SWANSON, 2003). As estimativas de herdabilidade utilizando modelos “test-day” variam ao longo da lactação. Por exemplo, EMANUELSON & PHILIPSSON (1984) estimaram herdabilidades variando de 0,26 a 0,40; GADINI et al. (1996) de 0,007 a 0,09 e MRODE & SWANSON (2003) de 0,04 a 0,17.

Objetivou-se com este trabalho estimar componentes de variância e parâmetros genéticos para a contagem de células somáticas usando test day models ou análises convencionais, ou seja, a média da CCS na lactação, utilizando informações de diferentes lactações de búfalas no estado de São Paulo.

2. Materiais e métodos

Os dados analisados no presente estudo são provenientes de 12 rebanhos do estado de São Paulo, dos quais 7 rebanhos tem as informações da CCS e os outros rebanhos fazem parte do arquivo de parentesco e produção de leite, totalizando 11749 animais da raça Murrah e seus mestiços com idades entre 2 e 15 anos, filhas de 187 reprodutores. Foram utilizadas 23534 amostras de leite, correspondentes a 4.757 lactações, de diferentes ordens do parto, as quais ocorreram entre 1985 e 2005. Os rebanhos localizam-se em região de clima subtropical, na qual, predominam duas estações definidas no ano, uma época seca e fria (Abril-Setembro) e uma úmida e quente (Outubro-Março), sendo que, a maior frequência de partos estava concentrada em um período de transição entre as estações (Fevereiro-Abril). Em geral os animais eram manejados em pastejo rotacionado com *Brachiaria brizantha* ou *Panicum maximum* e de acordo com a disponibilidade de suplementos alimentícios, na época seca os animais recebiam suplementação volumosa à base de cana picada e/ou silagem de capim.

A pesagem do leite foi realizada mensalmente e foram enviadas amostras de leite ao laboratório de fisiologia da lactação da ESALQ-USP, em Piracicaba-SP, para determinação dos constituintes do leite. A contagem de células somáticas foi determinada por citometria de fluxo por meio do equipamento Somacount 300[®], (Bentley Instruments. Inc.).

A lactação foi truncada aos 270 dias e os controles mensais de produção de leite, obtidos entre cinco e 270 dias após o parto, foram divididos em intervalos de, aproximadamente 30 dias, totalizando 9 controles (CCSt 1 a CCSt 9). Foram mantidas lactações com um número mínimo de 4 controles com informação de CCSt. Por não apresentar distribuição normal, a contagem de células somáticas (CCS) foi transformada para uma escala logarítmica (CCSt), utilizando-se a função $CCSt = [\log_2 (CCS/100.000)] + 3$, proposta por DABDOUB & SHOOK (1984).

Além do CCSt em cada controle, foi analisada a média da contagem de células somáticas na lactação (CCSt270 obtida por meio da média aritmética de todos os controles na lactação) e a produção de leite total na lactação (PL270).

Para verificar a influência da idade da vaca ao parto e do número de dias em lactação sobre as CCSt ou a duração da lactação sobre a CCSt270 sobre as características analisadas foram realizadas análises preliminares, pelo método de quadrados mínimos, utilizando o procedimento GLM (SAS, 2000). Os componentes de variância foram estimados por meio de modelo animal, em análises uni e bi-características, sendo que as bi-características foram realizadas entre as nove CCSt (CCSt1 a CCSt9), entre estas e a CCSt270 e PL270. Em todas as análises foi utilizado um arquivo de genealogia, contendo identificação de animal, pai e mãe, totalizando 11.749 animais na matriz de parentesco.

O modelo para a CCSt270 e PL270 incluiu o efeito genético aditivo direto e o efeito de ambiente permanente e residual, ambos como aleatórios; os efeitos fixos de grupo de contemporâneos e a covariável idade da vaca ao parto (regressão linear e quadrática). A duração da lactação não foi incluída no modelo, uma vez que seu efeito não foi significativo pela análise de quadrados mínimos e, a sua inclusão na análise uni-característica, não proporcionou diferenças nos componentes de variância. O modelo para a CCSt incluiu os mesmos efeitos que para a CCSt270 e PL270

O grupo de contemporâneos para a CCSt270 e PL270 foi definido como rebanho-ano-estação do parto e, para as CCSt como rebanho-ano-mês do controle e, tanto para a CCSt270 e CCSt aplicou-se a restrição de que cada GC deveria conter, no mínimo, quatro observações.

Os modelos de CCSt, CCSt270 e PL270, podem ser representados em sua forma matricial por:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xb} + \mathbf{Z}_1\mathbf{a} + \mathbf{Z}_2\mathbf{pe} + \mathbf{e},$$

em que:

\mathbf{y} = é o vetor da média da CCS até 270 dias e a produção de leite até 270 dias;

\mathbf{b} = é o vetor das soluções para os efeitos fixos;

\mathbf{a} = é o vetor das soluções para os efeitos aleatórios genéticos aditivos;

p_e = é o vetor das soluções para os efeitos de ambiente permanente (para a CCSt270 e PL270);

e = é o vetor do efeito aleatório residual;

X, Z_1, Z_2 = são as matrizes de incidência, para os efeitos fixos, efeito aleatório de animal e efeito de ambiente permanente respectivamente.

Este modelo tem as seguintes pressuposições:

$$E[a_i] = E[p_i] = E[e_i] = \mathbf{0} \quad \text{e} \quad \text{Var} = \begin{bmatrix} \mathbf{a}_1 \\ \mathbf{a}_2 \\ \mathbf{p}_1 \\ \mathbf{p}_2 \\ \mathbf{e}_1 \\ \mathbf{e}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{A}\sigma_{a_1}^2 & \mathbf{A}\sigma_{a_1a_2} & 0 & 0 & 0 & 0 \\ \mathbf{A}\sigma_{a_2a_1} & \mathbf{A}\sigma_{a_2}^2 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \mathbf{I}\sigma_{p_1}^2 & \mathbf{I}\sigma_{p_{12}} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \mathbf{I}\sigma_{p_{21}} & \mathbf{I}\sigma_{p_2}^2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \mathbf{I}\sigma_{e_1}^2 & \mathbf{I}\sigma_{e_{12}} \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \mathbf{I}\sigma_{e_{21}} & \mathbf{I}\sigma_{e_2}^2 \end{bmatrix};$$

Em que: A é a matriz de parentesco, I é a matriz identidade, $\sigma_{a_i}^2, \sigma_{p_i}^2$ e $\sigma_{e_i}^2$ são as variâncias genética aditiva, de ambiente permanente e residual para a característica i ($i = 1, 2$), respectivamente, e $\sigma_{a_1a_2}, \sigma_{p_1p_2}$ e $\sigma_{e_1e_2}$ são as covariâncias genética aditiva, ambiente permanente e efeito residual entre as características 1 e 2, respectivamente. O efeito de ambiente permanente foi incluído só para as características CCSt270 e PL270 devido a que em análises previas onde foram incluídos no modelo, as estimativas foram muito próximas do zero)

3. Resultados e discussão

As médias observadas, os desvios-padrão e os coeficientes de variação para a contagem de células somáticas transformada (CCSt1 até CCSt9) e para a média da contagem de células somáticas até os 270 dias (CCSt270) encontram-se na Tabela 1.

A média da CCST da lactação foi de 1,86 (Tabela 1). Este resultado é semelhante ao encontrados por BONINI (2007) que, numa pesquisa feita em búfalas, encontrou uma média geral na lactação de 1,87; superior ao achado por CERÓN-MUÑOZ et al. (2002), cujo valor foi de 1,13 e inferior ao encontrado também em búfalas na Itália por MORONI et al. (2006), em que a média geral foi de 2,68.

Tabela 1. Número de informações (n), média, desvio padrão (DP), e coeficiente de variação (CV) para a Contagem de células somáticas (CCSt1 - CCSt9) e a média da contagem de células somáticas aos 270 dias.

TEST DAY	n	Média	DP	CV
CCST1	980	1,81	0,38	20,95
CCST2	1115	1,78	0,33	18,47
CCST3	1016	1,80	0,34	18,90
CCST4	985	1,85	0,45	24,65
CCST5	1001	1,87	0,38	20,70
CCST6	875	1,89	0,42	22,69
CCST7	823	1,89	0,39	20,81
CCST8	688	1,93	0,48	24,95
CCST9	633	1,97	0,49	25,15
CCST270	1544	1,86	0,26	13,98

Para as CCSt em cada controle, houve um valor inicial de 1,81, decrescendo no segundo mês da lactação para 1,78 e, aumentando posteriormente, até o final da lactação, atingindo uma média de 1,97 (Figura 1). Tais resultados são semelhantes aos encontrados por CERÓN-MUÑOZ et al, (2002).

Na Figura 1 observa-se que a tendência das CCSt no decorrer da lactação mostra a forma típica da curva da contagem de células somáticas, que é inversa à

curva de produção de leite. Essa tendência é semelhante à encontrada em bovinos de leite por HAILE-MARIAM et al. (2001). O aumento observado nas células somáticas no final da lactação pode estar relacionado com a menor quantidade de leite produzido, havendo um efeito de diluição, reportado por diferentes autores (EMANUELSON & PERSSON, 1984; RENEAU, 1986; HORTET et al., 1999; BARBOSA et al., 2007), ou às respostas do organismo à infecção intramamária (MACHADO et al., 1998, 1999, 2000; RENEAU, 1986; RODRIGUEZ-ZAS et al., 2000; HAILE-MARIAM et al., 2001) e podem também ser atribuídos às lesões causadas pela ordenha diária (RENEAU, 1986).

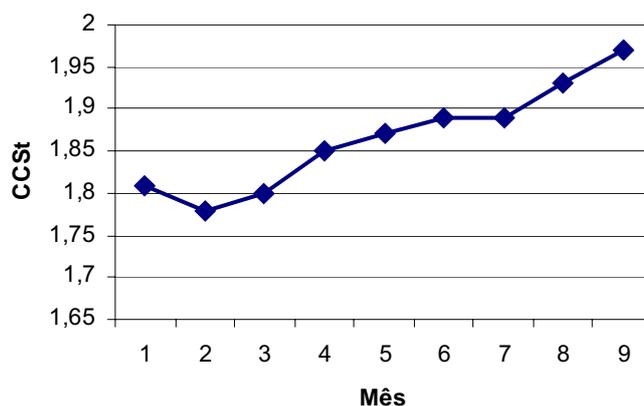


Figura 1. Curva da Contagem de células somáticas (CCSt) ao longo da lactação.

As estimativas dos componentes de variância genética, de ambiente permanente, de ambiente temporário e fenotípica para CCSt e CCSt270, obtidas das análises uni-características são apresentadas na Tabela 2. Assim como as estimativas dos coeficientes de herdabilidade, as variâncias genéticas foram maiores nas CCSt1, CCSt8 e CCSt9. As variâncias fenotípicas tenderam a ser maiores nos dois últimos meses da lactação (0,205 e 0,219). A magnitude das estimativas das variâncias de ambiente, em todos os controles mensais, sugere a existência de grandes diferenças de meio ambiente entre os sistemas de produção dos animais, outra explicação poderia estar relacionada à ausência de ocorrência de mastite em bubalinos, mesmo com uma

alta contagem de células somáticas, não interferindo negativamente no sistema mamário do animal de maneira permanente. Isso é contrário ao que foi encontrado em bovinos por ANDRADE et al. (2007).

Tabela 2. Variância genética (V_a), Variância ambiente permanente (V_{ep}), Variância ambiente (V_a), Variância fenotípica (V_p), herdabilidade (h^2) e repetibilidade (t), para a Contagem de células somáticas transformada (CCST) nos diferentes test-day (CCST1- CCST9) e para a media da Contagem de Células Somáticas aos 270 dias de lactação.

TEST DAY	V_a	V_{ep}	V_e	V_p	h^2	t
CCST1	0,071		0,070	0,142	0,50 (0,048)	
CCST2	0,023		0,069	0,093	0,25 (0,025)	
CCST3	0,027		0,072	0,10	0,27 (0,056)	
CCST4	0,011		0,167	0,178	0,06 (0,051)	
CCST5	0,016		0,112	0,129	0,13 (0,051)	
CCST6	0,021		0,138	0,160	0,14 (0,051)	
CCST7	0,010		0,116	0,126	0,08 (0,042)	
CCST8	0,050		0,154	0,205	0,25 (0,067)	
CCST9	0,070		0,148	0,219	0,32 (0,066)	
CCST270	0,017	0,0209	0,026	0,065	0,28 (0,040)	0,58

Valores entre parêntese são o erro padrão.

As estimativas de herdabilidade para as contagens de células somáticas mensais oscilaram entre 0,06 (4º. mês) a 0,50 (1º. mês), valores estes maiores aos relatados por diferentes autores que estimaram coeficientes de herdabilidade entre 0,059 – 0,311 (EMANUELSON & PHILIPSSON, 1984); 0,06 - 0,10 (REENTS, 1995); 0,080 - 0,098 (GADINI, 1996); 0,05 – 0,10 (BOETTCHER et al., 1998; MRODE et al., 1998; ROGERS et al., 1998; RUPP & BOICHARD, 2000).

As estimativas das variâncias residuais, para todos os controles mensais, sugerem a existência de grandes diferenças de meio, o que seria esperado, uma vez que trabalhou-se com rebanhos provenientes de diferentes partes do estado de São Paulo.

Na Itália usando modelos diferentes para estimar herdabilidades para CCS, SAMORÉ et al., (2003) encontraram herdabilidades variando de 0,06 a 0,09, usando um

modelo de repetibilidade que incluiu efeitos fixos da data do controle no rebanho, de dias em lactação e mês de parto e efeitos aleatórios de ambiente permanente, genéticos aditivos e resíduo, outros resultados que os autores encontraram variaram de 0,05 a 0,08, para um modelo em que foi incluído a interação do efeito aleatório do touro e rebanho.

Comumente, usando TDM em bovinos, as estimativas de herdabilidade tem sido equivalentes ou mais baixas do que as estimadas usando o modelo da lactação completa (CHAERFEDDINE et al., 1997; POSO et al., 1997), com valores baixos, próximos de 0,10.

A estimativa de herdabilidade para CCSt270 foi de 0,28 (Tabela 2); próxima dos coeficientes de herdabilidade encontrados por WELLER et al (1992) em bovinos, cujas herdabilidades variaram entre 0,13 a 0,27, aplicando diferentes modelos e diferentes transformações da CCS. Na literatura, as estimativas de herdabilidade para a média da contagem na lactação em bovinos, têm sido menores às encontradas neste estudo, variando entre 0,10 e 0,14 (BANOS & SHOOK, 1990; BOETTCHER, et al., 1992; DA et al., 1992; MONARDES & HAYES, 1985; MONARDES et al., 1984). As estimativas encontradas neste trabalho também são maiores que os encontrados no trabalho desenvolvido por KOIVULA et al. (2005), os quais encontraram herdabilidades para a CCS de 0,07 a 0,08 em vacas de primeira e segunda lactação respectivamente.

A repetibilidade estimada para a CCSt270 neste trabalho foi de 0,58 (Tabela 2), resultados que são um pouco mais altos do que os reportados na literatura para bovinos de 0,20 a 0,45 (SHOOK, et al., 1982; KENNEDY et al., 1982; EMANUELSON & PHILIPSSON, 1984; SEYKORA & MCDANIEL, 1986) indicando que a média da CCS na lactação pode ser usada como critério de seleção.

As correlações genéticas entre a CCSt e CCSt270, variaram de 0,50 a 0,91 (Tabela 3). As correlações fenotípicas entre as CCSt nos diferentes meses e a CCSt270 foram semelhantes as correlações genéticas e variaram entre 0,59 a 0,82 (Tabela 3). O fato das correlações fenotípicas serem positivas poderia facilitar a adoção de esquemas de manejo que favorecerão a redução de mastites clínicas e/ou subclínicas nos rebanhos.

Tabela 3. Variância genética (Var_a), Co-variância genética (Cov_a), Variância ambiente (Var_e), Co-variância ambiente (Cov_e), Variância fenotípica (Var_p), Co-variância fenotípica (Cov_p), Herdabilidade (h^2), Correlação genética (r_a), Correlação ambiente (r_e) e Correlação fenotípica (r_p), em análises bi-caracter entre a Contagem de células somáticas transformada (CCST) e a média da contagem de células somáticas aos 270 dias (CCST270)

TD	Va	Cova	Ve	Cove	Vp	Covp	h2	ra	re	Rp
1	0,11 0,05	0,05	0,06 0,03	0,02	0,16 0,08	0,07	0,65 0,65	0,72	0,40	0,61
2	0,07 0,05	0,04	0,05 0,03	0,02	0,12 0,08	0,06	0,57 0,63	0,74	0,60	0,68
3	0,06 0,03	0,03	0,06 0,03	0,03	0,12 0,07	0,06	0,52 0,61	0,50	0,71	0,59
4	0,13 0,05	0,06	0,10 0,03	0,03	0,23 0,08	0,10	0,56 0,61	0,81	0,63	0,73
5	0,09 0,05	0,05	0,08 0,03	0,03	0,17 0,08	0,09	0,53 0,65	0,81	0,66	0,75
6	0,08 0,04	0,05	0,12 0,03	0,05	0,21 0,07	0,10	0,41 0,60	0,80	0,77	0,77
7	0,05 0,05	0,05	0,10 0,03	0,04	0,15 0,08	0,07	0,31 0,65	0,70	0,71	0,67
8	0,15 0,05	0,04	0,14 0,03	0,04	0,29 0,08	0,12	0,51 0,66	0,91	0,72	0,82
9	0,10 0,05	0,06	0,15 0,03	0,04	0,24 0,07	0,10	0,40 0,63	0,82	0,64	0,71

As estimativas de herdabilidade encontradas para a CCSt (Tabela 4), não fazem sentido por seus altos valores, demonstrando que a utilização do “test day model” não é a melhor metodologia para a estimação dos coeficientes de herdabilidade.

A correlação genética entre CCSt270 e PL270 foi de -0,11 (Tabela 4), resultados similares aos encontrados por SAMORÉ et al. (2003), que encontraram correlações de -0,02; -0,16 e -0,14 para a primeira, segunda e terceira lactação, respectivamente. Entretanto, em geral, (exceto entre CCSt7 e PL270) independente do sinal, as correlações genéticas foram de baixas magnitudes, semelhante ao reportado por ANDRADE et al. (2007).

Para a CCSt270, a variância genética aditiva foi menor do que a de ambiente permanente, revelando que o efeito de ambiente permanente teve maior contribuição na variabilidade da CCSt270. As variâncias de ambiente temporário foram maiores que as aditivas, como era esperado, devido aos diferentes sistemas de produção dos rebanhos estudados.

A herdabilidade estimada para CCSt270 em análises uni-características neste estudo foi de 0,28 (tabela 2). Embora este valor seja de média magnitude, ele indica que há ganhos genéticos mediante seleção. Pode-se além disso, diminuir a CCS, melhorando o ambiente.

Os resultados encontrados no trabalho podem sugerir que a seleção realizada para a produção de leite não deveria aumentar o CCST ou também que aqueles animais que possuem maior valor genético para a produção de leite poderiam também ser os menos susceptíveis a apresentarem altas contagens de células somáticas.

A estimativa de correlação fenotípica existente entre PL270 e CCSt270 foi de -0,19. Esse resultado foi concordante com os estimados por MRODE & SWANSON (1996), os quais relataram correlações variando de -0,08 a -0,20. Esses valores de correlação negativa demonstram que um aumento na produção de leite nem sempre traz um aumento na CCS.

De modo geral as correlações genéticas das CCSt e a PL270 nas diferentes análises foram negativas, um resultado favorável, considerando que a contagem de células somáticas tem correlação genética positiva e alta (>0,70), com a presença de mastite, condição esta discutida por vários pesquisadores (MRODE & SWANSON, 1996; HERINGSTAD et al., 2000; CARLÉN et al., 2004).

Tabela 4. Variância genética (Var_a), Co-variância genética (Cov_a), Variância ambiente (Var_a), Co-variância ambiente (Cov_e), Variância fenotípica (Var_p), Co-variância fenotípica (Cov_{ep}), Herdabilidade (h^2), Correlação genética (r_a), Correlação ambiente (r_e) e Correlação fenotípica (r_p), em análises bi-caracter entre a Contagem de células somáticas transformada (CCST) e Produção de leite aos 270 dias (PL270) nos diferentes "test-day", (CCST1- CCST9) e entre CCST270 e PL270.

TD	Va	Cova	Ve	Cove	Vp	Covp	h2	Ra	re	rp
CCST1 xPL270	0,10	7,37	0,05	-6,83	0,15	0,54	0,65	0,10	-0,09	0,00
	51241,71		113012,10		164253,81		0,25			
CCST2xPL270	0,06	-3,94	0,05	-26,30	0,10	-30,24	0,55	-0,07	-0,36	-0,23
	52806,57		115487,48		168294,05		0,25			
CCST3xPL270	0,06	-2,71	0,05	-27,09	0,11	-29,80	0,55	-0,05	0,45	-0,22
	53166,36		113554,46		166720,82		0,25			
CCST4xPL270	0,14	-18,84	0,09	-18,77	0,23	-37,62	0,61	-0,21	0,19	-0,19
	58072,25		112916,70		170988,95		0,28			
CCST5xPL270	0,09	-1,23	0,07	-24,23	0,16	-25,46	0,57	-0,02	-0,28	-0,16
	53158,83		113649,71		166808,54		0,25			
CCST6xPL270	0,06	-5,98	0,10	-30,30	0,16	-36,29	0,38	-0,10	-0,28	-0,22
	53073,53		112763,16		165836,69		0,25			
CCST7xPL270	0,03	-22,01	0,09	-30,35	0,12	-52,37	0,28	-0,52	-0,30	-0,37
	49903,41		112626,09		162529,50		0,24			
CCST8xPL270	0,12	-24,75	0,10	-35,10	0,23	-59,86	0,53	-0,30	-0,32	-0,31
	53228,56		112809,73		166038,29		0,25			
CCST9xPL270	0,09	-25,86	0,12	18,08	0,22	-7,77	0,45	-0,36	0,15	-0,04
	52701,80		112657,50		165359,30		0,25			
CCST270xPL270	0,04	-8,24	0,02	-10,44	0,07	-18,68	0,35	-0,11	-0,19	-0,15
	107991,15		116479,80		224470,95		0,52			

4. Conclusões

Devido às variações nas estimativas de herdabilidade para a CCS usando “test-day models”, o melhor modelo para a estimação de parâmetros genéticos para essa característica parece ser o método tradicional, usando a média da contagem de células somáticas na lactação.

As correlações fenotípicas entre a contagem nos diferentes meses foram positivas, facilitando a adoção de esquemas de manejo e seleção que favoreçam a redução de altas contagens de células somáticas nos rebanhos.

As estimativas de herdabilidade para CCST sugerem que, embora as práticas de manejo realizadas nos rebanhos, estejam diretamente relacionadas com o controle e prevenção da ocorrência de mastite, existe uma variação genética aditiva, ainda que de pequena magnitude.

As correlações genéticas entre a contagem de células somáticas e a produção de leite foram negativas, sendo este um resultado favorável, levando em consideração entre a contagem de células somáticas e a mastite existe uma correlação genética positiva e alta. Este resultado sugere que a seleção para a PL270 poderia não necessariamente aumentaria a CCS ou que animais que possuem altos valores genéticos para a produção de leite poderiam não ter predisposição a altas contagens de células somáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

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

BANOS, G., SHOOK, G. E. Genotype by environment interaction and genetic correlations among parities for somatic cell count and milk yield. **Journal of Dairy Science**. v. 73, p. 2563–2573. 1990.

BARBOSA, S. B. P.; MONARDES, H. G.; CUE, R. I.; RIBAS, N. P.; BATISTA, A. M. V. Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 1, p. 94-102, 2007.

BOETTCHER, P. J.; HANSEN, L. B.; VANRADEN, P. M.; ERNST, C. A. Genetic evaluation of Holstein bulls for somatic cells in milk of daughters. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p.1127–1137, 1992.

BOETTCHER, P. J.; DEKKERS, J. C. M.; KOLSTAD, B. W. Development of an udder health index for sire selection based on somatic cell score, udder conformation, and milking speed. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1157–1168. 1998.

BONINI, R. P. **Conteúdo celular do leite bubalino proveniente de quartos mamários sadios e portadores de mastite**. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias_Unesp, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal. 2007.

CARLÉN, E.; STRANDBERG, L. E.; ROTH, A. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, and Production in the First Three Lactations of Swedish Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 3062-3070, 2004.

CERÓN-MUÑOZ, M. F.; TONHATI, H.; DUARTE, J. M. C. Contagem de células somáticas e produção de leite em bubalinos, **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, p. 8-10, 2002a.

CERÓN-MUÑOZ, M. F.; TONHATI, H.; DUARTE, J.; OLIVEIRA, J.; MUNOZ-BERROCAL, M.; JURADO-GAMEZ, H. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes, **Journal of Dairy Science**, Champaign, v 85, n 11, p 2885- 2889, 2002.

CHARFEDDINE, N.; ALNEDA, R.; CARABAÑO, M. J. Genetic parameters for somatic cell score within first lactation and across lactations in Spanish Holstein-Friesian cattle. **Proceedings...48 Annual Meeting of the European Association of Animal Production**, Vienna, 1997. v. 3, p. 69. 1997.

DA, Y., GROSSMAN, M.; MISZTAL, I.; WIGGANS, G. R. Estimation of genetic parameters for somatic cell score in Holsteins. **Journal of Dairy Science**. v. 75; p. 2265–2271, 1992.

DABDOUB, S. A. M.; SHOOK, G. E. Phenotypic relations among milk yield, somatic count cells, and mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 163-164, suplemento 1, 1994.

EMANUELSON, U.; PHILIPSSON, J. Studies on somatic cell count in milk from Swedish dairy cows, II, Estimates of genetic parameters of monthly test-day results, **Acta Agrícola Scandinavia**, v. 34, p. 45-52, 1984.

GADINI, C. H.; KEOWN, J. F.; VLECK, L. D. V. Estimates of genetic parameters for first lactation test-day yields, **Journal of Dairy Science**, v. 79 supl 1, p. 142-158, 1996.

HAILE-MARIAM, H.; BOWMAN, P. J.; GODDARD, M. E. Genetic and environmental correlation between test-day somatic cell count and milk yield trait, **Livestock Production Science**, v. 73, p. 1-13, 2001a.

HAILE-MARIAM, M.; GODDARD, M. E.; BOWMAN, P. J. Estimates of genetic parameters for daily somatic cell count of Australian dairy cattle, **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 1255-1264, 2001b.

HARMON, R. J. Symposium: Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count-Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts, **Journal of Dairy Science**, v. 77, p. 2103-2112, 1994.

HERINGSTAD, B.; KLEMETSDAL, G.; RUANE, J. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries. **Livestock Production Science**, v. 64, p. 95-106. 2000.

HORTET, P.; BEAUDEAU, F.; SEEGER, H.; FOURICHON, C. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600,000 cell/mL in French Holstein cow clinical mastitis, **Livestock Production Science**, v. 61, n. 1, p. 33-42, 1999.

INTERBULL. Sire evaluation procedures for non-dairy production and growth and beef production traits practiced in various countries, **Bulletin 13**, 1996.

KENNEDY, B. W., SETHER, M. S.; TONG, A. W. ; MOXLEY, J. E.; DOWNEY.; B. R. Environmental factors influencing test-day somatic cell counts in Holsteins. **Journal of Dairy Science**. v. 65, p. 275–281, 1982.

KHERLI, M. E.; SHUSTER, D. E. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**. v. 77, p. 619-627. 1994.

KOIVULA, M.; MANTYSAARI, E. A.; NEGUSSIE, E.; SERENIUS T. Genetic and phenotypic relationships among milk yield and somatic cell count before and after clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**. v. 88, p. 827–833, 2005.

LIU, Z.; REINHARDT, F.; REENTS, R. Parameter estimates of a random regression test day model for first three lactation somatic cell scores, p. 61-65, <http://www-interbull.slu.se/bulletins/bulletin26/Liu.pdf>, 2001.

MACHADO, P. F.; BARANCELLI, G.; PEREIRA, A. R. CCS: Leite com mais qualidade e melhor rendimento industrial. **Indústria de Laticínios**, n. 13, p. 65-68, 1998.

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

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A.R.; SILVA, L. F. P. Células somáticas no leite em rebanhos brasileiros. **Scientia Agrícola**, v. 57, n. 2, p. 359-361, 2000.

MONARDES, H. G., HAYES, J. F.; MOXLEY, J. E.. Heritability of lactation cell count measures and their relationships with milk yield and composition in Ayrshire cows. **Journal of Dairy Science**, v. 67, p. 2429-2435, 1984.

MONARDES, H. G., J. F. HAYES. Genetic and phenotypic relationships between lactation cell counts and milk yield and composition of Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 68, p.1250-125, 1985.

MORONI, P.; SGOIFO ROSSI, C.; PISONI, G.; BRONZO, V.; CASTIGLIONI, B.; BOETTCHER, P.J. Relationships between somatic cell count and intramammary infection in buffaloes. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 3, p. 998-1003, 2006.

MRODE, R. A.; SWANSON, G. J. T. Genetic and statistical properties of somatic cell count and its suitability as an indirect means of reducing the incidence of mastitis in dairy cattle. **Animal Breeding Abstracts**, v. 64, p. 847–857, 1996.

MRODE R. A., SWANSON G. J. T., WINTERS M. S., Genetic parameters and evaluations for somatic cell counts and its relationship with production and type traits in some dairy breeds in the United Kingdoms, **Animal Science**, v. 66, p. 569-576, 1998.

MRODE, R. A.; SWANSON, G. J. T. Estimation of genetic parameters for somatic cell count in the first three lactations using random regression, **Livestock Production Science**, v. 79, n. 2, p. 239-247, 2003.

PHILIPSSON, J.; RAL, G.; BERGLUND, B. Somatic cell count as a selection criterion for mastitis resistance in dairy cattle. **Livestock Production Science**, v. 41, p. 195-200, 1995.

PÖSÖ J.; MÄNTYSAARI, A. E. Relationships between clinical mastitis, somatic cell score, and production for the first three lactations of Finnish Ayrshire. **Journal of Dairy Science**, v, 79, p, 1284-1291, 1996.

REENTS R., JAMROZIK J., SCHAEFFER L. R., DEKKERS, J. C. M., Estimation of genetic parameters for “Test day” records of somatic cell score, **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 2847-2857, 1995.

RENEAU, J. K. Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control, **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 6, p. 1708-1720, 1986.

RODRIGUEZ-ZAZ, S. L.; GIANOLA, D.; SHOOK, G. E. Evaluation of models for somatic cell score lactation patterns in Holsteins. **Livestock Production Science**, v. 67, p.19-30, 2000.

ROGERS, G. W.; BANOS, G.; SANDER-NIELSEN, U. PHILIPSSON, J. Genetic Correlations Among Somatic Cell Scores, Productive Life, and Type Traits from the United States and Udder Health Measures from Denmark and Sweden. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 1445-1453. 1998.

RUPP, R., BOICHARD, D. Genetic parameters for clinical mastitis, somatic cell score, production, udder type traits, and milking ease in first lactation Holsteins. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2198-2204, 1999.

RUPP, R.; BOICHARD, D. Relationship of early first lactation somatic cell count with risk of subsequent first clinical mastitis. **Livestock Production Science**, v. 62, p. 169-180. 2000.

RUPP, R.; BEAUDEAU, F.; BOICHARD, D. Relationship between milk somatic cell count in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 46, p. 99-111, 2000.

SAMORÉ, A. B. **Genetic aspects of somatic cells count in the Italian Holstein Friesian population**. Tese de Doutorado – Wageningen Institute of Animal Sciences, Netherlands. 2003.

SAS INSTITUTE (Cary, United States), SAS[®] User's Guide:Statistics, Cary, 2000.

SCHAEFFER, L. R.; JAMROZIK, J.; KISTEMAKER, G. J.; VAN DOORMALM, B. J. Experience with a test-day model, **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1135-1144, 2000.

SEYKORA, A. J.; McDANIEL, B. T. Genetic statistics and relationship of teat and udder traits, somatic cell counts, and milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 2395-2407. 1986.

SHOOCK, G. E. A linear scale for scoring somatic cell count, **Journal of Dairy Science**, v. 65, supplement I, v.1, p. 108, 1982.

SORDILLO, L. M.; SHAFER-WEAVER, K.; DE-ROSA, D. Immunobiology of the mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1851-1865, 1996.

SURIYASATHAPORN, W.; SCHUKKEN, Y. H.; NIELSEN, M.; BRAND, A. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 1248-1255, 2000.

WELLER, J. SARAN, A.; ZELIGER, Y. Genetic and Environmental Relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 2532-2540, 1992.