

AVALIAÇÃO DA CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE DE ÉGUAS DA RAÇA MANGALARGA MARCHADOR

Alline de Paula Reis¹
Albenones José de Mesquita²
Kamilla Rezende de Pinheiro Santos³
Fábio Henrique de Oliveira³
Rodrigo Balduino⁴
Iara Barbacena Maciel³
Ediane Batista da Silva⁵
Edmar Soares Nicolau²

RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade do leite equino, por meio da contagem de células somáticas (CCS) e bacteriana total (CBT), oriundo de glândulas mamárias saudáveis, de éguas da raça Mangalarga Marchador. Foram avaliadas 31 éguas oriundas de quatro haras localizados no Estado de Goiás. As éguas apresentavam-se entre 15 e 120 dias após o parto. As amostras foram coletadas após desprezar os primeiros jatos e realizar a ordenha completa. Foi coletada uma amostra de 45mL em frasco plástico contendo conservante de bronopol e mesma quantidade contendo azidiol para análise de CCS e CBT, respectivamente. A determinação da contagem de células somáticas e contagem bacteriana total foi realizada através do método de citometria de fluxo. Para a análise estatística, os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e os resultados entre os haras foram comparados pelo teste de Duncan. A CCS média do leite oriundo de glândulas mamárias saudáveis de éguas Mangalarga Marchador do Estado de Goiás foi de $1,64 \times 10^4$ cél./mL e a CBT média é de $1,23 \times 10^4$ UFC/mL, sendo que estes valores não apresentaram diferença entre os haras. O leite dos animais deste estudo apresentou alta qualidade microbiológica representada pela baixa CBT.

Palavras-chave: qualidade do leite, glândula mamária, equino, CCS, CBT.

EVALUATION OF THE SOMATIC CELLS COUNT AND TOTAL BACTERIAL COUNT OF MANGALARGA MARCHADOR MARES' MILK

ABSTRACT

This study was proposed with the aim of evaluating the quality of the mare's milk, by means of somatic cells and total bacterial count from healthy mammary glands of Mangalarga Marchador mares. Thirty one mares from four stables, located in Goiás State were used. The mares were in the 15th and 120th days post parturition. The samples were collected after the first streams were discarded and carry out the complete milking process. Two samples of 45 ml was separated into two plastic bottles, one preserved with bronophol and azidiol for analysis of somatic cell count (SCC) and the other with total bacterial count (TBC), respectively. The determination of the SCC and TBC was conducted by the flow citometry method. For statistical analysis, data were submitted to the analysis of variance test F and the results among stables were compared by the Duncan test. The SCC of average milk from the udders of healthy Mangalarga Marchador mares from the Goiás State is 1.64×10^4 cells/mL and TBC average is 1.23×10^4 CFU/mL, without significant difference among stables. The milk from animals in this study presented high microbiological quality shown by the low TBC.

¹ Mestre em Ciência Animal pela EV/UFG. Endereço: Alameda Contorno – Chácara Planície – Jardim Pompéia – Goiânia – GO - Brasil. CEP 74690-020. Fone: (62) 3209-6126 e-mail: allinepr@yahoo.fr

² Professores do Departamento de Medicina Veterinária da EV/UFG. C.P. 131 Goiânia – GO - Brasil. CEP 74001-970

³ Acadêmicos de medicina veterinária da EV/UFG. C.P. 131 Goiânia – GO - Brasil. CEP 74001-970

⁴ Mestrando em Ciência Animal da EV/UFG EV/UFG. C.P. 131 Goiânia – GO - Brasil. CEP 74001-970

⁵ Doutoranda em Ciência Animal pela EV/UFG. Rua Jacarandá Qd.4, Lt.10, C-1 Residencial dos Ipês CEP: 74602-202 – Goiânia-GO

Key words: milk quality, mamary gland, equine, SCC, TBC.

EVALUACIÓN DEL CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS Y DEL CONTEO BACTERIANO TOTAL DE LA LECHE DE YEGUAS DE LA RAZA MANGA LARGA MARCHADOR

RESUMEN

Los objetivos del estudio fue evaluar la calidad de leche por medio del conteo de las células somáticas (CCS) y del conteo de bacterias totales (CBT), procedente de glándulas mamarias de yeguas sanas, de la raza Mangalarga Marchador. Fueron utilizadas 31 yeguas oriundas de cuatro hatos localizados en el Estado de Goiás. Las yeguas estaban entre los 15 y 120 días después del parto. Las muestras fueron colectadas después de despuntar los primeros chorros y realizar un ordeño completo. Fue separada una muestra de 45 mL en un frasco plástico conteniendo conservante de Bronopol y azidiol para evaluar CCS y CBT. Tanto el conteo de células somáticas como el conteo bacteriano total fueron realizados a través del método de citometría de flujo. Para el análisis estadístico, los datos fueron sometidos a un análisis de varianza por la Prueba F y los resultados entre los hatos fueron comparados por la Prueba de Duncan. El CCS promedio fue de $1,64 \times 10^4$ cél./mL y el promedio de CBT de $1,23 \times 10^4$ UFC/ML. No hubo diferencia significativa entre los hatos para el CCS y CBT. La leche de los animales de este estudio presentó una alta calidad desde el punto de vista microbiológico representada por el bajo CBT.

Palabras-clave: calidad de la leche, glándula mamaria, equino, CCS, CBT.

INTRODUÇÃO

A grande maioria dos estudos disponíveis sobre a sanidade da glândula mamária equina se atém a informações sobre a mastite e estas se resumem em sua maioria a sinais clínicos. Em consequência, algumas características dessa enfermidade já são conhecidas como seu caráter sazonal (MACKINNON e VOSS, 1992) e maior predisposição da glândula mamária durante o período de involução (JACOBS, 2004). Além disso, sabe-se que ela acomete 5 a 10% do rebanho de éguas reprodutoras e pode causar prejuízo ao desenvolvimento dos potros, inclusive àqueles amamentados em lactação posterior a um caso clínico (JACOBS, 2004).

Porém, um dos fatores limitantes ao seu estudo é o diagnóstico, principalmente em casos subclínicos, pois não existe, na espécie equina, consenso sobre os limites entre normalidade e enfermidade da glândula mamária. Sendo, portanto necessário o desenvolvimento de métodos que possam facilitar o seu diagnóstico (PRESTES et al., 1999).

Com base no princípio de que toda secreção mamária contém um número reduzido de células somáticas e que na presença de inflamação este número sofre aumento (KIELWEIN, 1994), a contagem de células somáticas (CCS) tornou-se um dos principais parâmetros utilizados para determinação do estado sanitário da glândula mamária e qualidade do leite bovino. Este parâmetro também poderia ser utilizado com este mesmo fim para a espécie equina, pois CHAVATTE (1997) afirmou que as alterações citológicas e qualitativas do leite equino, provocadas pela mastite, são semelhantes àquelas sofridas pelo leite bovino.

Entretanto, para possibilitar a utilização deste parâmetro como indicador da qualidade do leite e sanidade da glândula mamária equina, é necessário conhecer os seus valores normais. Os poucos estudos encontrados sobre a CCS em equinos foram reunidos no Quadro 1. Observa-se grande amplitude de resultados entre os diferentes estudos. Uma possível causa desta observação é a inclusão de éguas com mastite subclínica (REMBALSKI, 1979; RIOS et al., 1989; ZOEG VON MANTEUFFEL, 1989; BLÖMER, 1990; PRESTES et al., 1999 e HANS, 2000) além da diversidade de estágios de lactação em que os diferentes estudos foram realizados. O colostro equino e o leite obtido até 15 dias de lactação, por exemplo, apresentam maior CCS do que o leite maduro, ou seja, leite produzido a partir do 15º ao 20º dia pós-parto e livre de resquícios de colostro (RIOS et al. 1989; BLÖMER, 1990; RIELAND, 1997 e HANS, 2000).

QUADRO 1. Comparação da contagem celular somática, período de observação, e metodologia utilizada, em diversos estudos sobre o leite equino.

Autor	Céls/mL – média	Período de observação	Núm. de animais	Método
OKADA (1960)	100.000+-30000	No decorrer da lactação	3	Microscopia
REMBALSKI (1979)	7500	Leite maduro	23	Fluorescência óptica
NASSAL u. REMBALSKI (1980)	8.500	No decorrer da lactação	242	Fluorescência óptica
USTINOWA et al. (1982)	77.900 ± 4.900	Leite maduro	Não declarado	Fluorescência óptica
RIOS et al. (1989)	72.814 55.019 39.643	1 – 15 dias 16 – 84 dias 85 – 168 dias	102	Microscopia
ZOEGE VON MANTEUFFEL (1989)	16390	Leite maduro	13	Fluorescência óptica
BLÖMER (1990)	468.840 138.600 149.000	colostro 10 dias 20 dias	30	Fluorescência óptica
BARTMANN et al. (1996)	10.500 (maximal)	No decorrer da lactação	66	Não declarado
RIELAND (1997)	377.746 20.000 10.000	Colostro 1 mês 2 a 3 meses	31	Fluorescência óptica
PRESTES et al. (1999)	146.200	9-160 dias	38	Microscopia
HANS (2000)	76.500 13.000 10.700	Colostro 2- 4 dias 6 - 56 dias	35	Fluorescência óptica e microscopia

Na busca pela determinação do limite da CCS indicativo de mastite, BOSTEDT (1994) e MIELKE (1994) sugeriram que o leite equino maduro, oriundo de glândula mamária saudável contém em média $7,5 \times 10^3$ cél/mL, podendo variar entre $1,0 \times 10^3$ e $6,5 \times 10^4$ cél./mL. JACOBS (2004) sugeriu que este limite, durante a lactação, seria de $1,0 \times 10^5$ céls/mL.

Outro importante parâmetro indicativo de saúde da glândula mamária, bem como de qualidade do leite, é a contagem bacteriana total (CBT). Esta variável é utilizada para aferir a contaminação

microbiana do leite, permitindo avaliar o tempo de conservação do leite (vida de prateleira), que está relacionado à presença de microrganismos da microbiota normal, não patogênica (BRITO, 1995).

Ainda existem poucos estudos sobre os parâmetros microbiológicos do leite equino. NEUHAUS (1961) foi precursor do estudo da CBT neste produto. Em seu trabalho, coletou o leite de duas éguas durante aproximadamente 40 semanas e encontrou contagem bacteriana total (CBT) variando entre $3,0 \times 10^2$ e $7,80 \times 10^3$ UFC/mL e, na maioria das amostras, o grupo dos coliformes estava ausente. BLÖMER (1990) colheu leite de éguas no primeiro, décimo e vigésimo dias após o parto e observou que a CBT no leite fresco aumentou no décimo e vigésimo dias. Na tentativa de relacionar CBT, CCS, idade da égua e presença de endoparasitas, os resultados encontrados por BLÖMER (1990) permitiram afirmar a existência de correlação entre CCS e CBT e a inexistência de correlação entre CBT ou CCS e a idade da égua ou a presença de parasitas.

Tendo em vista a escassez de dados na literatura sobre a CCS e a CBT do leite de éguas de raças brasileiras e na expectativa que os conhecimentos gerados por este trabalho possam ser utilizados como base para futuros estudos sobre a sanidade da glândula mamária e a qualidade do leite equino, este trabalho foi proposto com o objetivo de avaliar a qualidade do leite equino, por meio da contagem de células somáticas e bacteriana total, do leite de glândulas mamárias saudáveis, de éguas da raça Mangalarga Marchador.

MATERIAL E METODOS

Utilizou-se 31 éguas da raça Mangalarga Marchador com idades variando entre três e dezenove anos escolhidas aleatoriamente em quatro diferentes haras, localizados em um raio de até 120 km de distância de Goiânia – Goiás. Foram colhidas 225 amostras divididas em 10 colheitas sendo obtidas a cada 15 dias, entre o décimo quinto e o centésimo vigésimo dias de lactação, no período compreendido entre os meses de outubro de 2004 e fevereiro de 2005. As amostras foram compostas, ou seja, obtidas das duas tetas e posteriormente homogeneizadas.

Os quatro haras foram heterogêneos quanto ao sistema de manejo e nutrição. O haras 1 possuía menor área e pior infra-estrutura, sendo a alimentação de suas éguas baseada unicamente em forrageira braquiária (*Brachiaria decumbens*). O haras 2 era muito bem estruturado e suas éguas criadas em sistema extensivo, sendo oferecido gramínea Tifton 85 e capim gordura (*Melinis minutiflora*). Os haras 3 e 4 possuíam estruturas intermediárias e sistemas de manejo e alimentação diferentes, sendo que o haras 3 utilizava-se de braquiária (*Brachiaria decumbens*) e fornecia diariamente, no piquete, concentrado com 13% de proteína. O haras 4 fornecia milho aos seus animais, diariamente e em estábulo. Após a ingestão do milho, os animais eram soltos em piquetes com forrageira capim andropogon (*Andropogon gayanus*) à vontade.

Foram utilizadas seis éguas oriundas do haras 1, nove do haras 2 e oito éguas dos haras 3 e 4 respectivamente. Todos os haras ofereciam condições satisfatórias para a obtenção do leite de forma higiênica. Foi esquematizado um rodízio para que houvesse sempre três éguas separadas dos potros permitindo, assim, que toda ordenha fosse realizada entre duas e três horas após a apartação.

A higienização dos tetos das éguas foi realizada a cada ordenha em duas fases: na primeira, utilizava-se gaze embebida em álcool 70°GL, principalmente entre os tetos; na segunda, utilizava-se papel-toalha também embebido em álcool 70°GL, nas regiões laterais da glândula mamária e nos tetos. As mãos dos ordenhadores foram cuidadosamente lavadas com água e detergente neutro, secadas e posteriormente higienizadas com *spray* de álcool 70°GL, seguido de secagem com papel toalha também embebido em álcool 70°GL, a cada nova ordenha.

Após desprezar os primeiros jatos e realizar a ordenha completa, a amostra era transferida para frasco de vidro ambar, com capacidade para um litro. Neste recipiente, era feita a agitação suave do leite. Imediatamente após a agitação era separada uma amostra de 45 mL em frasco plástico contendo conservante de bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol na concentração de 8 mg de bronopol) e outra amostra de mesmo porte em frasco plástico esterilizado contendo azidiol na concentração de 0,1 ml de azidol para 30 ml de leite (BARCINA et al., 1987). Todas as amostras foram identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e transportadas aos laboratórios do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária - UFG (CPA/EV/UFG), onde foram analisadas.

Para análise da CCS, as amostras foram mantidas sob refrigeração por um período de até dois dias. Após este prazo, foram colocadas em temperatura ambiente e posteriormente aquecidas em

banho-maria à temperatura de 40°C durante 15 minutos. Terminado este processo, as amostras eram encaminhadas ao Fossomatic 5000 basic (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) para a realização de análise, em triplicata, para determinação da contagem de células somáticas pelo método da citometria de fluxo, de acordo com a metodologia estabelecida por International Dairy Federation (1995). Previamente à análise das amostras, o aparelho era calibrado com leite bovino, uma vez que o aparelho não possui opção específica para análise de leite equino.

Para proceder à análise de CBT, as amostras foram mantidas sob refrigeração por um período de até dois dias. Após este prazo, foram mantidas em temperatura ambiente e encaminhadas ao Bactoscan FC (Foss Electric A/S. Hillerod, Denmark) para a realização de análise, em triplicata, para determinação da contagem bacteriana total pelo método da citometria de fluxo, de acordo com a metodologia estabelecida por International Dairy Federation (1995).

Para a análise estatística, foi realizada a média das três leituras para determinar o valor de CCS e CBT para cada amostra. Em seguida, os dados foram submetidos à análise de variância pelo Teste F e os resultados entre haras foram comparados pelo teste de Duncan com significância de 1% e 5% (CENTENO, 1990).

RESULTADOS

Os resultados da análise de variância da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total entre haras a partir do modelo de delineamento inteiramente casualizado, estão apresentados na Tabela 1.

A média da contagem de células somáticas foi de $1,64 \times 10^4$ cél./mL e a da contagem bacteriana total, de $1,23 \times 10^4$ UFC/mL e ambos parâmetros não apresentaram diferença significativa entre os haras ($P < 0,05$).

O haras 2 apresentou CCS semelhante entre todos os animais ($P < 0,05$). No haras 4, o leite da égua de número 4 apresentou CCS significativamente diferente ($P < 0,05$) do leite dos demais animais (Tabela 2).

Os haras 1 e 3 apresentaram resultados heterogêneos entre os diferentes animais para a variável CCS, entretanto, a média deste parâmetro em ambos não diferiu significativamente dos demais haras deste estudo ($P < 0,05$).

TABELA 1. Análise de variância da contagem de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) medidas, pela metodologia eletrônica, a partir de leite de éguas Mangalarga Marchador oriundas de quatro diferentes haras localizados no raio de 120km de distância de Goiânia.

FV	GL	Quadrado Médio	
		CCS	CBT
Haras	3	$1,14 \times 10^{-9}$	$4,57 \times 10^{-8}$
Resíduo	253	$7,83 \times 10^{-8}$	$2,17 \times 10^{-8}$
CV (%)		170,53	119,59
X_G		$1,64 \times 10^4$	$1,23 \times 10^4$

FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação; X_G : Média geral de todas as observações; * e **: Significativos a 5% e 1% respectivamente.

TABELA 2. Médias, por local de ordenha e geral, da contagem de células somáticas (CCS) e de contagem bacteriana total (CBT) de leite de éguas Mangalarga Marchador oriundo de quatro diferentes haras localizados no raio de 120km de distância de Goiânia.

Haras	VARIÁVEIS	
	CCS	CBT
1	1,59 x 10 ⁴ a	1,43 x 10 ⁴ a
2	1,13 x 10 ⁴ a	9,21 x 10 ³ a
3	1,91 x 10 ⁴ a	1,20 x 10 ⁴ a
4	2,0 x 10 ⁴ a	1,48 x 10 ⁴ a

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (Duncan, 5%). X_g = média geral

DISCUSSÃO

O método de citometria de fluxo foi escolhido devido às vantagens em relação aos métodos tradicionais, como: alta precisão centesimal relacionada à leitura eletrônica; eliminação da subjetividade da leitura humana; tempo reduzido para a análise e, finalmente, o baixo custo.

A contagem de células somáticas média de 1,64x10⁴ cél./mL, não apresentando diferenças significativas entre os haras, permite ampliar para a espécie equina, a afirmação de (POUTREL, 1985) sobre o leite bovino: “o leite maduro oriundo de animais saudáveis de mesma raça apresenta pouca variação no teor de CCS”.

Este resultado corrobora ainda com a afirmação de Dankow et al. (2006) de que a CCS no leite equino, oriundo de glândulas mamárias saudáveis, é consideravelmente inferior àquela do leite bovino, caprino ou ovino. Segundo Bostedt et al. (1994) esta característica é devida ao posicionamento da glândula mamária equina que proporciona menor exposição a injúrias e infecções associadas, além do freqüente esvaziamento pelo potro, em torno de 60 vezes ao dia.

O valor da CCS encontrado neste estudo revelou-se próximo aos valores encontrados por Zoege Von Manteuffel (1989), Rieland (1997) e Hans (2000) que também analisaram o leite maduro (Quadro 1). A grande inferioridade do presente resultado com relação àqueles apresentados por Rios et al. (1989), Blömer (1990) e Prestes et al. (1999) pode ser explicada por uma possível inclusão de éguas acometidas por mastite subclínica em seus estudos, pois estes autores obtiveram culturas bacterianas positivas a partir do leite de algumas éguas clinicamente saudáveis.

A ligeira superioridade da CCS média encontrada no presente estudo, com relação aos resultados de outros autores, tais como, (REMBALSKI, 1979; NASSAL e REMBALSKI, 1980; BARTMANN et al., 1996 e CAROPRESE et al., 2007) pode ser devida a fatores como raça e *stress* (COULON et al., 1996). Devido ao sistema extensivo de criação das éguas do presente estudo, alguns animais apresentavam sinais de *stress* frente ao contato humano. Além disso, os autores citados utilizaram outras raças, que não o Mangalarga Marchador, em seus estudos.

Pode-se afirmar que a CCS encontrada no presente estudo está dentro do limite máximo sugerido por Bostedt (1994) e Mielke (1994) – 6,5 x 10⁴ cél./mL e também dentro do padrão de normalidade do leite equino sugerido por Jacobs (2004) de 1,0 x 10⁵ cél./mL.

Na Tabela 2, observa-se que os haras foram semelhantes entre si para o parâmetro CCS (P<0,05). Este comportamento indica que, em geral, os animais utilizados apresentaram glândulas mamárias saudáveis durante todo o estudo (POUTREL, 1985). COULON et al. (1996) afirmaram que o *stress* no momento da ordenha provoca aumento da contagem de células somáticas no leite bovino. Os resultados encontrados no presente estudo, corroboram com esta afirmação. Os fatores determinantes para esta observação foram de origens individual e, principalmente, ambientais e de manejo.

Os animais mais estressados durante a ordenha (oriundos do haras 3, cujo manejo determinava um contato mínimo com o homem), apresentaram maiores médias individuais de CCS. Por outro lado, observou-se que indivíduos mais calmos durante a ordenha (exemplo, égua 6 do haras 3) apresentaram baixa contagem de células somáticas.

No que diz respeito ao ambiente e manejo, observou-se que o hábito de contato com o homem (haras 2 e 4) e a apartação em determinado período do dia com vinda freqüente aos estábulos (haras 4), além da reserva dos locais de ordenha a fim de evitar o contato com outros animais (haras 2 e 4), foram determinantes para a redução do *stress* durante a ordenha e contribuíram para a baixa contagem

de células somáticas encontradas nesses haras.

A CCS constantemente alta, porém, dentro dos limites de normalidade sugeridos por Jacobs (2004), para o leite das éguas 8 do haras 3, e 4 do haras 4, não pode ser explicada. O leite da égua 8 do haras 3 apresentou baixa contagem bacteriana total ($8,0 \times 10^3$ UFC/mL) e parâmetros de composição diferentes do padrão deste haras (maior concentração de gordura, índice crioscópico mais baixo, pH ligeiramente menos alcalino, alta acidez). O leite da égua 4 do haras 4 apresentou contagem bacteriana total e parâmetros de composição dentro dos padrões do haras.

O valor médio encontrado para a contagem bacteriana total neste estudo, $1,23 \times 10^4$ UFC/mL, se deve à alta concentração de lisozima – enzima com propriedades antibacterianas, no leite equino.

A CBT encontrada neste estudo foi superior aos resultados de Neuhaus (1961) ($3,0$ a $7,8 \times 10^3$ UFC/mL, apenas duas éguas); Storch (1985) ($4,015 \times 10^3$ UFC/mL no leite coletado em tanque); e Zoege Von Manteuffel (1989) ($5,9 \times 10^3$ UFC/mL) e intermediária aos valores encontrados por Rembalski (1979) (de $8,5 \times 10^3$ UFC/mL a $4,14 \times 10^4$ UFC/mL).

A inexistência de diferença significativa ($p > 0,05$) para a CBT entre os haras (Tabela 2) confirma a padronização de uma mesma higiene de ordenha durante a pesquisa (BRITO, 1995) e o bom estado de saúde dos animais utilizados.

O haras 2, apesar de não diferir significativamente dos demais haras, apresentou a menor CBT. Esta observação nos permite afirmar a necessidade de boa higiene e redução do trânsito de animais no local da ordenha a fim de obter um produto com menor índice de contaminação.

CONCLUSÃO

A CCS média do leite oriundo de glândulas mamárias saudáveis de éguas Mangalarga Marchador do Estado de Goiás foi de $1,64 \times 10^4$ cél./mL e a CBT média foi de $1,23 \times 10^4$ UFC/mL.

O leite dos animais deste estudo apresentou alta qualidade microbiológica representada pela baixa CBT.

REFERÊNCIAS

BARCINA, Y; ZORRAQUINO, M.A.; PEDAUYI, J.; ROS, G.; RICON, F. Azidiol as a preservative for milk samples. **An. Vet. Murcia**, v.3, p.65-69, 1987.

BARTMANN, C.P. Et al. Eutererkrankungen der Stute und ihre möglichen Bedeutungen für die Fohlengesundheit. **Pferdeheilkd**, v.12, p.271-274, 1996.

BLÖMER, F. **Untersuchungen von Stutenmilchproben sowie einiger Blutparameter bei Fohlenstuten am 1.,10.und 20.Tag post partum**. 1990. 212f. Tese (Doutorado). Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.

BOSTEDT, H. Euterkrankheiten des Pferdes. In: WENDT, K.H. **Euter- und Gesäugekrankheiten**. Verlag Fischer: Stuttgart, 1994. p.481-49.

BRITO, M.A.V.P. Conceitos básicos da qualidade. In: BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **Sanidade do gado leiteiro. Coronel Pacheco**. [online]. São Paulo, Embrapa-CNPGL/São Paulo, 1995. p.55-62. Disponível em: <<http://www.mastite.com.br>>. Acesso em: 25 set 2004.

CAROPRESE, M. Behavior, milk yield and milk composition of machine and hand-milked murgese mares. **J. Dairy Sci.**, v.90, p.2773–2777, 2007.

CENTENO, A.J. **Curso de estatística aplicada à biologia**. Goiânia:CEGRAF, 1990. 186p.

CHAVATTE, P. Lactation in the mare. **Equine Vet. Educ.**, v.9, p.62-67, 1997.

COULON, J. B.; DAUVER, F.; GAREL, J.P. Facteurs de variation de la numération cellulaire du lait chez des vaches laitières indemnes de mammites cliniques. **INRA Prod. Anim.**, v.9, p.133-139, 1996.

DANKÓW, R.; WOJTOWSKI J.; PIKUL, J.; NIZNIKOWSKI, R., CAIS-SOKOLINSKA, D. Effect of lactation on the hygiene quality and some milk physicochemical traits of the Wielkopolska mares. **Arch. Tierz.**, v.49, p.201-206, 2006.

HANS, W.B. **Zytobakteriologische Beschaffenheit, N-Acetyl- β -D-muraminidase (Lysozym), N-Acetyl- β -D-glucosaminidase (NAGase) sowie Natrium- und Chlorid-Gehalt der frühpostpartalen Stutenmilch.** 2000. 163f. Dissertação (Mestrado). Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.

INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION [IDF]. **Milk- Quantitative determination of bacteriological quality – Guidance on evaluation of routine methods.** IDF Standard 161A. Brussels, Belgium: International Dairy Federation, 1995.

JACOBS, B.J. **Klinische, mikrobiologische und zytologische Untersuchungen zur Stutenmastitis – eine Langzeitstudie.** 2004. 202f. Tese (Doutorado). Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.

KIELWEIN, G. **Leitfaden der milchkunde und milchhygiene.** Berlin: Blackwell Wissenschafts Verlag, 1994. 128p.

MACKINNON, A.O.; VOSS, J.L. **Equine reproduction.** Philadelphia: Williams and Wilkins, 1992. 1137p.

MIELKE, H. Physiologie der Laktation. In: WENDT, K.H.; BOSTEDT, H.; MIELKE, H.; FUCHS, H.W. **Euter- und Gesäugekrankheiten.** Stuttgart: Verlag Fischer, 1994. p.122-130.

NASSAL, J.; REMBALSKI, C. Hygienische forderungen bei der produktion von stutenmilch und kumys. **Archiv. Lebensmittelhyg.**, v.31, p.209-212, 1980.

NEUHAUS, V.U. Säuregrad und Keimgehalt von Stutenmilch. **Milchwissenschaft**, v.16, p.300-301, 1961.

OKADA, M. Histology of the mammary gland. **J. Agric. Res.**, v.11, p.31-35, 1960.

POUTREL, B. Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. **Rec. Med. Vet.**, v.161, p.497-511, 1985.

PRESTES, N.C.; LANGONI, H.; CORDEIRO, L.A.V. Estudo do leite de éguas sadias ou portadoras de mastite subclínica, pelo teste de Whiteside, análise microbiológica e contagem de células somáticas. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.36, n.3, 1999.

REMBALSKI, C. **Produktion von Stutenmilch aus tierärztlicher und hygienischer Sicht.** 1979. 215f. Dissertação (Mestrado). Giessen Universität, Veterinärmedizin Falkultät, Giessen.

RIELAND, E. **Untersuchungen zu den Aktivitäten der Enzyme Lysozym, LDH, α -GT, GOT, GPT, Laktoperoxidase und Bestimmung der Zellzahl in Stutenmilch im Laktationsverlauf.** 1997. 113f. Dissertação (Mestrado). Giessen Universität, Veterinärmedizin Falkultät, Giessen.

RIOS, A. et al. Reaccion al masti-kure mastitis test y recuento celular en leche equina en diferentes estados de lactancia. **Agro-Cienc.**, v.5, p.19-25, 1989.

STORCH, G. **Untersuchungen über einige Inhaltstoffe und Eigenschaften von Stutenmilch und Kumys unter besonderer Berücksichtigung diätetischer Fragestellungen.** 1985. 92f. Dissertação (Mestrado). Giessen, Universität, Veterinärmedizin Falkultät, Giessen.

USTINOWA, W.I. Et al. Die Veränderungen der Somazellzahl in der Milch der Stuten während des Lichttages. In: INTERNATIONAL DAIRY CONGRESS, 21., 1982, Montreal. **Proceedings...**Montreal, 1982. p.632.

ZOEGE VON MANTEUFFEL, N. **Anwendungsmöglichkeiten einiger ausgewählter chemischer, physikalischer und mikrobiologischer Untersuchungsmethoden aus dem Bereich der Eutergesundheit des Rindes.** 1989. 182f. Dissertação (Mestrado). Zentrum für Infektionsmedizin, Tierärztliche Hochschule Hannover, Hannover.

Recebido em: 28/11/2007

Aceito em: 22/08/2008