

# Análise microbiológica do leite de vacas com mastite subclínica no município de Bom Jesus-PI

Mastite subclínica, Coliformes totais e fecais, microorganismo.

Yânez André Gomes Santana\*<sup>1</sup>  
Pablo Cristovão de Alencar Fernandes<sup>2</sup>  
Melina da Conceição Macêdo da Silva Santana<sup>3</sup>  
Leane Brunelle dos Santos Alves<sup>4</sup>  
Siluana Benvindo Ferreira<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Doutor do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade Federal do Piauí – UFPI. \*E-mail: yanezags@gmail.com.

<sup>2</sup> Graduado no curso de Engenharia Agrônoma na Universidade Federal do Piauí – UFPI.

<sup>3</sup> Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal na Universidade Federal do Piauí – UFPI.

<sup>4</sup> Técnica de laboratório em Biologia da Universidade Federal do Piauí – UFPI.

## RESUMO

Objetivou-se com este artigo avaliar a qualidade microbiológica do leite de vacas com mastite subclínica através do teste de Contagem de Coliformes Totais e Fecais. Também realizar um levantamento clínico epidemiológico por propriedade estudada para identificar os fatores associados à ocorrência da infecção da glândula mamária, ao manejo, ao controle e à profilaxia para mastite. As amostras foram coletadas de propriedade do município de Bom Jesus – PI durante os meses de agosto e setembro 2013 e levada para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UFPI/CPCE para análises. Os resultados para Contagem Padrão de Placa estão dentro da normativa para leite cru refrigerado, das 16 amostras 100% estava abaixo de  $6,0 \times 10^5$  UFC/ml. Para Coliformes totais e E.C todas as amostras deram acima do que rege a IN 62 para leite pasteurizado. Com base no questionário aplicado, constatou-se que em todas as propriedades havia falhas nos procedimentos de higiene e limpeza bem como a falta de conhecimento sobre o controle à prevenção da mastite.

**Keywords:** Mastite subclínica, Coliformes totais e fecais, microorganismo.



# Nutri·Time

Revista Eletrônica

Vol. 13, Nº 02, mar/abr de 2016

ISSN: 1983-9006

[www.nutritime.com.br](http://www.nutritime.com.br)

A Revista Eletrônica Nutritime é uma publicação bimestral da Nutritime Ltda. Com o objetivo de divulgar revisões de literatura, artigos técnicos e científicos e também resultados de pesquisa nas áreas de Ciência Animal, através do endereço eletrônico: <http://www.nutritime.com.br>. Todo o conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos seus autores.

## MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF THE MILK OF COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS IN THE MUNICIPALITY OF BOM JESUS-PI

### ABSTRACT

The objective of this article to evaluate the microbiological quality of cows with subclinical mastitis by Count Total Coliform test and fecal as well as conduct a clinical epidemiological survey by property studied to identify factors associated with the occurrence of mammary gland infection, the management, control and prophylaxis of mastitis. Samples were collected owned by the municipality of Bom Jesus - PI during the months of August and September 2013 and taken to the Food Microbiology Laboratory of UFPI / CPCE for analysis. The results for Plate Count Standard are within the rules for refrigerated raw milk, 16 samples of 100% was below  $6.0 \times 10^5$  UFC / ml. For total coliforms and EC all samples gave up governing the IN 62 to pasteurized milk. Based on the questionnaire, it was found that in all the properties had failures in hygiene and cleaning procedures and the lack of knowledge about the prevention of mastitis control.

**Keyword:** Subclinical mastitis, total and fecal coliforms, microorganism.

## INTRODUÇÃO

O leite é definido como, sem outra especificação, o produto oriundo de ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (GONZALEZ et al., 2004). Líquido de cor branca ou ligeiramente amarelado, opaco, de odor suave e gosto adocicado. Produto íntegro obtido de uma ou mais ordenhas higiênicas de uma ou mais fêmeas leiteiras em bom estado de saúde, não cansadas, bem nutridas, recolhido de forma ideal e sem colostro (CARDOSO & ARAÚJO, 2004). Este produto é utilizado como alimento básico na dieta humana em todas as faixas etárias principalmente por ser um dos produtos mais completos do ponto de vista nutricional. Possui alta digestibilidade, indiscutível valor biológico e excelente fonte de proteína e cálcio, contendo teores elevados de tiamina, niacina e magnésio (DIAS, 2007).

É considerado como um meio de cultura natural e bastante favorável à reprodução ativa das bactérias (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2011). A presença de coliformes nos alimentos é de grande importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou mesmo pós-processamento. Os microrganismos indicadores são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (SOUZA et al., 2009). A Contagem Bacteriana Total (CBT) é um parâmetro relacionado diretamente com a higiene de utensílios utilizados durante a ordenha bem como a estocagem adequada do leite, após sua retirada, a 4°C. Portanto, a CBT é um parâmetro que pode ser modificado com rapidez e facilidade, devido ao fato de estar ligado a falhas na limpeza e desinfecção incorretas (CERQUEIRA, 2010).

Dentre as patologias relacionadas às glândulas mamárias que contribuem para a contaminação do leite, a mastite é a inflamação da glândula mamária que se caracteriza por apresentar alterações patológicas no tecido glandular e uma série de modificações físico-químicas no leite. As mais comumente observadas são: alteração de coloração, aparecimento de coágu-

los e presença de grande número de leucócitos (SILVA et al., 2007). Existem ainda as formas subclínicas que são diagnosticadas principalmente através do exame de contagem de células somáticas (CCS) no leite. Na região do nordeste brasileiro, desde janeiro de 2013, a CCS aceitável, de acordo com a IN 62/2011, é de 6,0 x 10<sup>5</sup> CS/mL de leite, (MAPA, 2012). A causa mais comum e importante da mastite é aquela de natureza infecciosa, causada por bactérias e/ou fungos. A contaminação microbiana do leite interfere na sua qualidade e reflete as condições sanitárias de produção e a saúde do rebanho (GUERREIRO et al., 2005).

Objetivou-se com esse trabalho avaliar a qualidade microbiológica do leite de vacas com mastite subclínica através do teste de Contagem de Coliformes Totais e Fecais. E também realizar um levantamento clínico epidemiológicos por propriedade estudada para identificar os fatores associados à ocorrência da infecção da glândula mamária, manejo, controle e profilaxia para mastite.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Levantamento de dados

Foram analisados 81 animais procedentes de sete propriedades de exploração leiteira do Município de Bom Jesus - PI no período de agosto a setembro de 2013. Nos rebanhos estudados o sistema de criação era semi-intensivo, sendo os animais alimentados à base de concentrado e volumoso, recebendo água procedente de poços e açudes, com produção média diária de 5 L de leite por animal. Os animais eram ordenhados uma ou duas vezes ao dia, pelo sistema de ordenha manual. As raças predominantes nos rebanhos leiteiros estudados eram holandesa, Gir, Girolando, porém em algumas propriedades observou-se a utilização de animais mestiços de outras raças.

As amostras de leite foram retiradas dos quartos mamários após o descarte dos dois primeiros jatos de leite, seguindo-se o teste da caneca telada, e o *California Mastitis Test* (CMT) (SCHALM & NOORLANDER, 1957), em que os animais positivos para mastite subclínica resultaram em um total de 16 animais. Coletou-se aproximadamente 5 mL de leite, em frascos com tampa rosqueável, estéreis e previamente identificados com o nome ou número do animal e do quarto mamário. Na ocasião da visita às propriedades

foram aplicados questionários de Inquérito Clínico epidemiológicos com o objetivo de coletar dados para a análise de possíveis fatores de risco associados à mastite bovina, sendo enviadas sob refrigeração ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade Federal Piauí, para serem devidamente analisadas.

## METODOLOGIA

No laboratório, as amostras de leite cru foram homogeneizadas e diluídas, utilizando-se solução salina peptonada 0,1%. A partir das diluições foram realizadas às seguintes análises microbiológicas: contagem padrão em placas (CPP), determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais (35°C) e termotolerantes (45°C).

### Contagem Padrão em Placas (CPP)

Para contagem padrão em placas foi transferido alíquotas das amostras a partir das diluições decimais de  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ , para placas de Petri vazias e esterilizadas, em duplicata, sobre as quais se verteu Agar Padrão para Contagem, e incubaram-se a 35°C por 24 horas. Selecionaram-se as placas contendo entre 25 a 250 colônias, multiplicando-se o valor encontrado pelo fator de diluição correspondente, e expressando o resultado em Unidade Formadora de Colônia (UFC) /ml.

### Quantificação de coliformes totais (CT) pela técnica de tubos múltiplos – Número mais provável (NMP)

Seguiu-se a metodologia da APHA, usando-se a técnica dos tubos múltiplos, com 3 tubos por diluição, para determinação do NMP de coliformes totais por mL (CT/mL) de amostra, utilizando-se o meio Caldo Lactosado Verde Brilhante e Bile 2% (VBB) com incubação a 35°C durante 24 – 48 horas.

Foram considerados positivos os tubos com produção de gás e a partir deles, transferiram-se, com alça de sementeira, alíquotas dos inócuos para três séries de tubos contendo o meio de cultura caldo *Escherichia coli* (EC), com incubação em banho-maria a 44,5°C por 24 horas, considerando-se positivos os tubos com produção de gás.

### Questionários tipo clínico epidemiológico

O questionário foi elaborado com questões de simples escolha, focadas em temas relacionados às boas

práticas de fabricação, com maior ênfase na higiene do local de ordenha, repouso dos animais, processo de ordenha manual ou mecânica, como também sobre o conhecimento da mastite no rebanho bovino de Bom Jesus – PI. Os questionários foram preenchidos durante as visitas nas propriedades.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Algumas informações básicas sobre a mastite e o manejo do gado leite das fazendas de Bom Jesus – PI estão contidas em um Inquérito Clínico Epidemiológico mostrado no Quadro 1 e 2.

Com base no inquérito Clínico Epidemiológico a respeito do manejo sanitário da mastite, apenas duas fazendas (B e C) tinha conhecimento a respeito dessa doença. Sabiam como a mastite é transmitida no rebanho e já fizeram uso do teste de CMT, porém, nenhuma das fazendas tinha feito prevenção da doença ou algum manejo correto para o controle da mesma.

Durante o estudo foram observados que das sete fazendas estudadas, cinco delas apresentaram mastite subclínica ao teste CMT em pelo menos um animal. Foi verificado o desconhecimento por parte dos produtores acerca da utilização de linhas de ordenha. Em relação ao convívio dos animais, não havia a separação de animais com ou sem mastite.

Comprovou-se que a não adoção de linha de ordenha é um fator de risco no aumento das CCS (SOUZA et al., 2009). No que tange as práticas adotadas no manejo das vacas, constatou-se a ausência de secagem das vacas no final da lactação, prática esta que pode contribuir para o aparecimento de mastite no rebanho, devido à presença de leite residual servir como meio de cultivo para microrganismo. O tratamento à secagem de todos os animais influencia, de modo favorável, na frequência e no controle de mastite do rebanho (OLIVER et al., 1993). Sabe-se que o tratamento à secagem de somente parte do rebanho favorece o aparecimento de novas infecções intramamárias durante o período seco e no momento do parto (BERRY & HILLERTON, 2002).

O primeiro passo do programa de controle de mastite é verificar o "status" da doença do rebanho antes de qualquer alteração do manejo e que um dos pontos

QUADRO 1. Manejo sanitário da Mastite

MANEJO SANITÁRIO DA MASTITE	FAZENDAS													
	"A"		"B"		"C"		"D"		"E"		"F"		"G"	
	NÃO	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM	NÃO	SIM
Tem conhecimento da doença?	X			X		X	X		X		X		X	
Sabe como a mastite é transmitida dentro do rebanho?	X			X		X	X		X		X		X	
Sabe o que é linha de ordenha e a importância?	X		X		X		X		X		X		X	
Usa CMT ou caneca do Fundo escuro?	X			X		X	X		X		X		X	
TOTAL	4	0	1	3	1	3	4	0	4	0	4	0	4	0

QUADRO 2. Produção do Leite

FAZENDAS	Faz limpeza da sala de ordenha?		Faz a higiene dos tetos antes da ordenha?		Como é feito a secagem dos tetos após a lavagem?			Usa algum produto após a ordenha	
	NÃO	SIM, que frequência	Não	SIM, qual produto?	Papel toalha	Pano	Nada	NÃO	SIM
1	X		X				X	X	
2		X, semanalmente	X				X	X	
3	X		X				X	X	
4	X		X				X	X	
5	X		X				X	X	
6	X		X				X	X	
7	X		X				X	X	
TOTAL	6	1	7	0	0	0	7	7	0

mais importantes no controle da mastite é a conscientização dos produtores das perdas econômicas e educação sanitária dos tratadores e ordenadores (RUPP et al., 2012).

Os seguintes pontos que devem ser considerados em um bom programa de prevenção e controle da mastite são: mão de obra especializada, monitoramento dos índices de mastite, higiene ambiental, tratamento de mastite clínica, tratamento de vaca seca, eliminações de vacas com infestações crônicas, manejo e controle

de ordenha, higienização e manutenção do equipamento de ordenha e vacinação (MULLER, 2002).

Com base no questionário aplicado, constatou-se que em todas as propriedades havia falhas nos procedimentos de higiene e limpeza. Em todas as fazendas a ordenha era feita em curral com chão batido de forma manual, não havia sala de ordenha. Todas as vacas eram ordenhadas com o bezerro ao pé, as vacas passavam a noite em um curral separado dos bezerros muitas vezes deitadas, depois da ordenha

eram soltas a pasto juntos com os bezerros. O ordenhador não utilizava nenhum material de limpeza, não realizava a higiene dos tetos das vacas antes e depois das ordenhas.

Um ponto crucial na profilaxia é a higiene do ordenhador. Suas mãos são o grande agente transmissor de bactérias para o úbere, o leite e todo o material utilizado (DIAS, 2007). A ordenha é o momento mais importante da atividade leiteira por constituir-se na medida mais importante de controle da mastite e possibilitar a melhoria da qualidade do leite (RUPP et al., 2012).

A rotina diária de atividades e o correto manejo de ordenha são as principais medidas preventivas de controle de mastite. A execução de uma sequência lógica de tarefas durante a ordenha proporciona vários outros benefícios.

A IN 62 determina que as tetas do animal a ser ordenhado devam sofrer prévia lavagem com água corrente, seguindo-se secagem com toalhas descartáveis de papel não reciclado e início imediato da ordenha. Após a ordenha, desinfetar imediatamente as tetas com produtos apropriados. Os animais devem ser mantidos em pé pelo tempo necessário para que o esfíncter da teta volte a se fechar.

A dependência de ordenha deve ser mantida limpa antes, durante e após a permanência dos animais. Ao término de seu uso deve ser realizada completa sanitização do piso e paredes para total remoção de resíduos. Todo o pessoal que trabalha nas dependências voltadas à produção deve apresentar hábitos higiênicos.

TABELA 1. Contagem Padrão em Placas em Leite Cru refrigerado

FAZEN- DAS	AMOSTRA (UFC/ML)			
	1º	2º	3º	4º
1	3,2x10 <sup>3</sup>	4,8x10 <sup>3</sup>		
2	8,5x10 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>4</sup>	6,9x10 <sup>4</sup>	
3	1,5x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>3</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>	
4	7,6x10 <sup>2</sup>	1,4x10 <sup>4</sup>	1,9x10 <sup>4</sup>	1,4x10 <sup>5</sup>
5	1,5x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>4</sup>	1,2x10 <sup>4</sup>	1,7x10 <sup>4</sup>

O Padrão de acordo com a Instrução Normativa nº. 62, de 29 de Dezembro de 2011 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento são de 6,0 x 10<sup>5</sup> UFC/ml.

cos. O ordenhador deve, no seu manuseio, conservar as mãos sempre limpas.

As contagens padrão em placas de bactérias no leite cru variaram de 1,3 X 10<sup>3</sup> a 1,4 x 10<sup>5</sup> UFC/ml (Tabela 1).

Das 16 amostras de leite cru, 16 (100%) apresentaram-se dentro do padrão para contagem de bactérias exigido pela legislação para leite cru refrigerado. Tais achados não eram esperados, pois além de não sofrer qualquer tipo de tratamento térmico, este produto era mantido à temperatura ambiente, desde a sua obtenção até a chegada ao domicílio do consumidor. Esse resultado é diferente do apresentado por SILVA (2006), que encontrou uma grande variação entre os valores mínimo, mediano e máximo de mesófilos, respectivamente de 1,9 x 10<sup>4</sup> UFC/mL; 3,2 x 10<sup>6</sup> UFC/mL; e 1,6 x 10<sup>8</sup> UFC/mL, em amostras de leite cru refrigerado.

Contagens superiores a 5x10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> são suficientes para promover alterações organolépticas sensíveis no leite e que a partir de 10<sup>6</sup> UFC.mL<sup>-1</sup> já permitem modificações no sabor, odor e consistência de leite e derivados. Neste estudo, os valores encontrados atingiram contagens máximas de 1,9x10<sup>4</sup> e 1,4x10<sup>5</sup> (SANTANA et al., 2011).

Não existe legislação determinando as quantidades de coliformes totais e termotolerantes para leite cru. Por isso os resultados foram comparados ao limite máximo exigido para leite pasteurizado. Imediatamente após a pasteurização, o leite pasteurizado deve apresentar enumeração de coliformes a 30/35° C (trinta/trinta e cinco graus Celsius) menor do que 0,3 NMP/ml (zero vírgula três Número Mais Provável/ mililitro) da amostra.

Todas as propriedades evidenciaram a presença de coliformes totais (TABELA 2), o trabalho comprovou que as amostras continha resultado muito acima do que prever a legislação. Altas contagens CT em 45 amostras de leite cru foram encontrados na região de Campina Grande-PB (CATÃO & CEBALLOS, 2001).

Foram encontrados 100% das amostras fora dos padrões microbiológicos para coliformes em um tra-

TABELA 2. Coliformes totais e termotolerantes em Leite Cru em Bom Jesus-PI

FAZENDA	AMOSTRAS (NMP/ML)							
	Coliformes totais				Termotolerantes			
	"A"	"B"	"C"	"D"	"A"	"B"	"C"	"D"
1	>1100	23			>1100	7,4		
2	240	>1100	23		<3,0	<3,0	<3,0	
3	<3,0	43	>1100		<3,0	<3,0	23	
4	23	>1100	23		23	>1100	23	
5	>1100	240	240	23	>1100	23	<3,0	<3,0

balho realizado na cidade de Queimadas – PB. A presença desses microrganismos nas amostras analisadas ressalta a ausência de cuidados com relação à higienização aplicada nas propriedades (SILVA et al., 2010).

Comparando com a legislação para leite pasteurizado todas as amostras estão fora do padrão para *E. C.*, sua presença tem significado importante, por ser um indicador de contaminação fecal e eventual presença de outros enteropatógenos, além disso, existem linhagens patogênicas para homens e animais.

Foram analisadas 24 amostras de leite cru coletadas em um laticínio em Goiás e encontraram a presença de *E. coli* em 19 (79,2%). Na maioria das amostras analisadas foi evidenciada a presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes, porém esses últimos em menor número (CAMPOS et al., 2006).

Esses resultados foram comparados com os parâmetros microbiológicos exigidos para o leite pasteurizado (BRASIL, 2011), pois devido à proibição de comercialização de leite não pasteurizado, não existem parâmetros microbiológicos para leite vendido a balde e em fazendas.

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, concluiu-se que: O leite cru vendido a balde informalmente no município de Bom Jesus-PI podem oferecer riscos à saúde da população. O leite comercializado cru na cidade de Bom Jesus não atende aos requisitos microbiológicos determinados pela legislação vigente no Brasil. Falta conhecimento por parte dos produtores a respeito do manejo e das práticas de higiene e limpeza sobre a qualidade microbiológica do

leite. É necessária a implantação de políticas públicas no município, com a sensibilização dos profissionais envolvidos na cadeia produtiva, para que haja melhoria das condições de higiene na obtenção, transporte e acondicionamento do leite, adequando-o a Legislação Federal em vigência.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERRY, E. A.; HILLERTON, J.E. The effect of selective dry cow treatment o new intramammary infections. **Journal Dairy Science**, v.85, 112-121, 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº. 62 de 29 de dezembro de 2011. **Regulamentos Técnicos de Produção Identidade, Qualidade, coleta e transporte de leite**. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br/legislacao>> acessado em 20 de agosto de 2015.
- CAMPOS, M. R, H. et al. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo "Minas Frescal" em um laticínio de Goiás, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1221-1227, 2006.
- CARDOSO, L.; ARAÚJO, W.M.C. Parâmetros de qualidade em queijos comercializados no Distrito Federal, no período de 1997-2001. São Paulo: **Revista Higiene Alimentar**. v. 18, n.123, p. 49-53, 2004.
- CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. Listeria spp., coliformes totais e fecais e E.Coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de alimentos, Campinas**, v. 21, n. 3, p. 281-287, 2001.
- CERQUEIRA, M. M. O. P. Instrução Normativa nº 51: mudanças nos padrões e necessidade de revisão

- das práticas. **Informativo Embaré**, n. 43, p. 2, 2010.
- DIAS, R. V. C..Principais métodos de diagnósticos e controle da mastite bovina. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 1, n. 1, p. 23–27, 2007.
- GONZALEZ, H. L. et al. Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.
- GUERREIRO, P. K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Revista Ciências Agrotécnicas**, v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.
- MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. **Anais do II Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil / editores Geraldo Tadeu dos Santos et al. – Maringá: UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002. 212P. Toledo – PR, 29 e 30/08/2002.**
- OLIVER, S.P. et al. Prevention of bovine mastitis by a premilking teat disinfectant containing chlorous acid and chlorine dioxide. **Journal Dairy Science**, v. 76, p.287-292, 1993.
- RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; TAMANINI, R.; BELOTI, V.; YAMADA, A. K.; CAVALETTI, L. et al. Qualidade microbiológica e físico-químico do leite cru refrigerado produzido no município de saporema/PR. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v. 9, p. 16, 2011.
- RUPP, R. et al. Relationship between milk somatic-cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 46, p.99-111 n.16, 2012.
- SANTANA, E. H. W. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos. **Semana: Ciência Agrárias**, v. 22, n.2, p. 145-154, 2011.
- SCHALM, A. W.; NOORLANDER, D. O Experiments and observations leading to developments and the California Mastitis Test. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 130, n. 5, p. 199- 207, 1957.
- SILVA, J. C. et al. Contagem de Células Somáticas em amostras de leite cru na região de Catalão, GO. **Higiene Alimentar**, v. 21, p. 73-81, 2007.
- SILVA, M. R. D. et al. A Avaliação Higiênico-Sanitaria do Leite Produzido em Umuarama (PARANÁ). **B. CEPPA**, v. 28, n. 2, p. 271-280, 2010.
- SILVA, M.P. et al. Avaliação do padrão de coliformes a 45° C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e Escherichia coli em alimentos. **Ciência Tecnológica de Alimentos** v. 26, n.2. p. 352-359, 2006.
- SOUZA, V. et al. Características microbiológicas de amostras de leite de tanque comunitário. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.3, p.758-761, 2009.