



ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU PRODUZIDO NA FAZENDA DO CENTRO UNIVERSITÁRIO CESUMAR – UNICESUMAR UTILIZADA COMO INDICATIVO DE MASTITE BOVINA

Suelen Adami; LÍgia Carla Balini; Giovanna Caputo Almeida Ferreira;

RESUMO: O Leite é um alimento consumido no mundo todo devido seu valor nutricional e por ser essencial para a alimentação. Sua qualidade está diretamente ligada a sua carga microbiológica e às condições de higiene ao qual foi obtido. A ocorrência da presença de determinados micro-organismos pode indicar falha na higienização no mecanismo de ordenha, além de servir como diagnóstico de algumas doenças, como a mastite. Assim, considerando a importância da saúde dos animais para manter a qualidade do leite obtido, este trabalho teve como finalidade identificar os possíveis agentes causadores da mastite no rebanho leiteiro em lactação na fazenda do Centro Universitário Cesumar – Unicesumar. Após coletadas por ordenha mecânica e manual, as amostras de leite cru foram submetidas a análises laboratoriais do tipo microbiológica convencional. Estas análises foram conduzidas nos laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular do Centro universitário Cesumar e comparadas em relação à sensibilidade, especificidade e tempo. De acordo com os resultados, o número de colônias de micro-organismos mesófilos foi significativo para as amostras coletadas principalmente pela ordenha mecânica, indicando assim a falta de higienização dos equipamentos de ordenha. Quanto ao número de colônias de micro-organismos causadores de mastite presentes nas amostras, não foi significativo, concluindo que, o manejo e a limpeza do rebanho leiteiro e a antissepsia do ordenhador estão sendo feitas de forma adequada, sem apresentar riscos à qualidade do leite produzido.

PALAVRAS-CHAVE: Leite, micro-organismos, mastite.

ABSTRACT: Milk is a food consumed around the world because of its nutritional value and because it's essential for feeding. Its quality is directly associated with its microbiological burden and hygiene conditions which it was obtained. The occurrence of the presence of certain micro-organisms may indicate a failure in the sanitation of milking mechanism also serving as diagnostic of certain diseases like mastitis. Thus, considering the importance of animal health to keep the quality of milk gotten, this study had as purpose to identify the possible cause agents of mastitis in lactating dairy herd on farm of the Centro Universitário Cesumar - Unicesumar. After collected by manual and milking machine, it was subjected the raw milk samples to laboratorial analysis the kind of conventional microbiological. These analyzes were managed in the laboratories of Microbiology and Molecular Biology at the Centro Universitário Cesumar and it were compared in relation to sensibility, specificity and time. In accordance with the results, the number of mesophilic micro-organisms colonies was significant mainly for samples collected by mechanical milking,

Suelen Adami

Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – UniCesumar, Maringá – Paraná. Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). suelen.adami@hotmail.com

LÍgia Carla Balini

Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – UniCesumar, Maringá – Paraná. Programa de Bolsas de Iniciação Científica do Cesumar (PROBIC). ligia_balini@hotmail.com

Giovanna Caputo Almeida Ferreira

Orientadora e docente do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário de Maringá – UniCesumar, Maringá – Paraná. giovanna.almeida@cesumar.br

Anais Eletrônico

VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar
UNICESUMAR – Centro Universitário Cesumar
Editora CESUMAR
Maringá – Paraná – Brasil

thus indicating the lack of sanitation of the milking equipment. Regarding the number of micro-organisms colonies causer of mastitis in the samples was not significant, concluding that the handling and cleaning of dairy herd and antiseptics of the milker are being done rightly without present risks to the quality of the milk produced.

KEYWORDS: Milk, micro-organisms, mastitis.

1. INTRODUÇÃO

O leite está entre os alimentos mais consumidos pelo brasileiro devido, principalmente, ao seu alto valor nutritivo. É considerado um dos alimentos mais completos para o ser humano (REIS et al., 2007), motivo pelo qual acredita-se que deve fazer parte integrante da dieta de indivíduos de todas as faixas etárias (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004).

É fundamental destacar a importância de manter a qualidade do leite, por este motivo, o leite e seus derivados estão entre os alimentos mais testados e avaliados (BRITO & BRITO, 1998). De modo geral, são avaliadas características físico-químicas e sensoriais como sabor e odor, além de ser definido alguns parâmetros microbiológicos, contagem de células somática e presença de produtos químicos, entre outros. (REIS et al., 2007).

A coleta do leite pode ser realizada de duas maneiras: ordenha mecânica, a qual, de acordo com Ribeiro e Carvalho (s.d.), é realizada por uma ordenhadeira, que constitui a principal máquina existente em um sistema de produção de leite; e ordenha manual, a qual um ordenhador a realiza manualmente adotando medidas de prevenção e formas de manejo adequadas (CARVALHO, 2010). Ambas podem apresentar riscos de contaminação por organismos patogênicos e prejudicar a qualidade do leite.

O leite ao ser sintetizado e secretado nos alvéolos da glândula mamária é estéril, mas ao ser retirado, manuseado e armazenado pode se contaminar com microrganismos originários do interior da glândula mamária, da superfície das tetas e do úbere, de utensílios, como os equipamentos de ordenha e de armazenamento e de várias fontes do ambiente da fazenda (BRITO & BRITO, 1998).

A saúde do rebanho leiteiro, bem como o manejo da mesma e do leite coletado, pode influenciar na qualidade do leite. Além disso, a forma de manejo, dentre outros fatores, pode fazer com que a vaca adquira algum tipo de doença. De acordo com Müller (2002), “uma das causas que exerce influência extremamente prejudicial sobre a composição e as características físico-químicas do leite, é a mastite”. Esta pode ser diagnosticada através da análise microbiológica.

A mastite bovina é uma doença infecciosa caracterizada pela inflamação da glândula mamária de vacas leiteiras, a qual, frequentemente, tem origem bacteriana, de acordo com Fagundes e Oliveira (2004). É apontada como a principal doença que afeta os rebanhos leiteiros e a que proporciona sérios prejuízos econômicos tanto ao produtor de leite quanto à indústria de laticínios. Esta doença provoca mudança na composição do leite inferiorizando assim sua qualidade além de reduzir sua produção (TOZZETTI, BATAIER & ALMEIDA, 2008). Estima-se que o prejuízo causado pela mastite no Brasil é de cerca de 2,8 bilhões de litros/ano, valor este que representa entre 12 e 15% da perda de produção, segundo Fonseca & Santos, (2000, apud FAGUNDES E OLIVEIRA, 2004).

Dentre mais de 80 diferentes microrganismos identificados como agentes causadores de mastite bovina, estão: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*,

Streptococcus dysgalactiae, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*, sendo estas as espécies mais frequentemente isoladas. Contudo, *S. aureus* é o microrganismo causador de mastite contagiosa de maior importância, de maior ocorrência nos rebanhos mundiais e de tratamento mais difícil devido à elevada resistência aos antibióticos. (HERMON 1994, apud FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004).

Considerando a importância de garantir a saúde do rebanho leiteiro e, por consequência, a qualidade do leite, objetivou-se por meio deste trabalho a análise microbiológica do leite cru obtido a partir dos dois tipos de ordenha, com a finalidade de identificar a presença da bactéria *Staphylococcus aureus* como indicativo de mastite nas vacas em lactação da fazenda do Centro Universitário Cesumar – UniCesumar.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Diversos estudos vêm sendo realizados para diagnosticar a mastite bovina com o intuito de identificar sua frequência, indicar as consequências no rebanho e na qualidade do leite, e revelar métodos preventivos e estratégias de tratamento.

Rosa et al. (2009) relata que, conforme o tipo de microrganismo causador da mastite, ela pode ser classificada em: contagiosa e ambiental. A mastite contagiosa é causada por microrganismos que se encontram no úbere da vaca e são transmitidos pelas mãos do ordenhador ou pelos equipamentos de ordenha, sendo facilmente transmitida de um animal para outro caso não haja boas práticas de higiene. A mastite ambiental é provocada por microrganismos presentes no ambiente, ocorrendo com maior frequência em períodos quentes e úmidos.

Quanto ao diagnóstico, Ribeiro et al. (2003) classifica a mastite como clínica e subclínica. A clínica é diagnosticada observando-se as alterações macroscópicas do leite através do teste da caneca telada. Este tipo de classificação faz com que o úbere fique inflamado e o leite apresente grumos, pus ou sangue (Rosa et al., 2009). Já a mastite subclínica, segundo Ribeiro et al. (2003), apresenta resultados positivos aos testes de California Mastitis Test (CMT) ou alta contagem de células somáticas (CCS), e é confirmada pelo crescimento microbiano. Comparado com a do tipo clínica, a subclínica é diagnosticada por meio de alterações microscópicas.

Dentre os autores que realizaram pesquisas baseadas na mastite bovina se encontra Beloti et al. (1997), o qual examinou 503 vacas na região norte do Paraná, onde 150 apresentaram caso de mastite, e em 223 amostras de leite obteve-se crescimento bacteriano. Ribeiro et al. (2003) analisou 12.970 quartos mamários na região sul do Rio Grande do Sul e obteve 5.080 casos positivos. Destes, 4.888 foi positivo ao CMT, caracterizando assim a presença de mastite subclínica, e 192 positivos ao teste da caneca telada, apontando o diagnóstico da mastite clínica. Já a pesquisa feita por Fagundes & Oliveira (2004), apresentou as características das toxinas produzidas por *S. aureus*. Decorrente a isto, baseou-se a importância deste microrganismo como agente de mastite, visto que, estas toxinas geram grandes complicações para a saúde pública, podendo causar ao indivíduo choque tóxico, além de intoxicações alimentares, alergias e doenças autoimunes.

Entre os cuidados que devem ser tomados para prevenir as infecções causadas por microrganismos pode-se citar, principalmente, a limpeza e a desinfecção criteriosa do úbere dos animais, antes e depois da ordenha, além da manutenção dos cuidados de higiene geral do estábulo leiteiro, incluindo a limpeza e desinfecção das instalações de ordenha, ordenhadeiras e utensílios (FAGUNDES & OLIVEIRA, 2004).

3. METODOLOGIA

3.1 – COLETA DAS AMOSTRAS

A coleta foi realizada na fazenda-ensino do UniCesumar, situada na cidade de Maringá. As vacas em lactação foram retiradas do pasto e conduzidas até o local de ordenha designada, segundo Rosa et al. (2009), do tipo espinha-de-peixe, no qual os animais ficam posicionados diagonalmente em relação ao fosso de ordenha. Feito isto, as amostras de leite foram coletadas através da ordenha mecânica e manual em frascos plásticos esterilizados.

As amostras foram coletadas no período de Março a Junho de 2013, no qual haviam quatro animais em lactação na Fazenda do UniCesumar, das quais foram obtidos um total de seis amostras, sendo duas amostras coletadas da ordenha mecânica e quatro amostras coletadas individualmente de forma manual.

A ordenha foi realizada após higienização dos tetos de cada vaca através dos processos de *pré-dipping* e *pós-dipping*, os quais ocorrem antes e após a ordenha, respectivamente. Segundo Pedrini e Margatho (2003), estes procedimentos consistem em “mergulhar os tetos, cobrindo-os por inteiro acima da base do úbere com soluções antissépticas adequadas”.

As amostras obtidas através da ordenha manual foram coletadas diretamente nos frascos previamente esterilizados. As coletas oriundas da ordenha mecânica foram retiradas do coletor do tanque de resfriamento e diretamente do ducto que leva o leite até o mesmo (Figura 1).

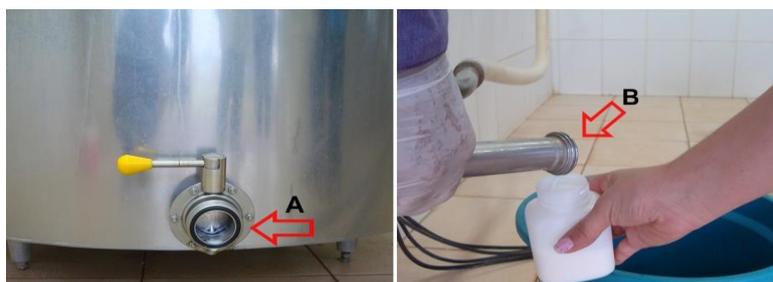


Figura 1: Tanque de resfriamento do leite coletado via ordenha mecânica. (A) Coletor do tanque de resfriamento; (B) Ducto que conduz o leite das teteiras ao tanque de resfriamento.

Os frascos com as amostras foram acondicionadas em ambiente isolante térmico com gelo, em temperatura inferior a 4°C e encaminhadas diretamente para o Laboratório de Microbiologia do UniCesumar para a realização das análises. Já no laboratório, todas as análises foram realizadas com o devido cuidado e os materiais esterilizados previamente.

As amostras foram primeiramente destinadas a uma diluição seriada na qual 25 mL da amostra de leite foi adicionada em 225 mL de água peptonada em um Erlenmeyer (10^{-1}). Em seguida, foi retirado 1,0 mL desta solução e adicionado em um tubo com 9,0 mL de água peptonada (10^{-2}), e assim sucessivamente para mais dois tubos (10^{-3} a 10^{-5}).

3.2 – ANÁLISE DE MESÓFILOS TOTAIS

A análise de mesófilos totais serve como indicativo de deficiência na qualidade higiênica da matéria-prima devido à aplicação de processo tecnológico inadequado, manipulação higiênica incorreta ou manutenção em condições impróprias (QUEVEDO et.

al, 2006) . Para a contagem de mesófilos foi realizada, em duplicata, semeadura em profundidade (*pour-plate*) no *Agar para Contagem Padrão Em Placas (PCA)*, que é um meio nutritivo destinado a contagem total de microrganismos em materiais diversos. Para isso, foi adicionado 1,0 ml de cada diluição em cada placa de petri e, em seguida, foi vertido 15 ml de meio PCA em cada uma delas. Em leves movimentos, o conteúdo das placas foi homogeneizado e incubado a 35 °C por 48 horas. Posteriormente, foi feita a contagem das colônias formadas com o auxílio do Contador de Colônias (Figura 2).



Figura 2: Contagem de mesófilos totais em meio PCA.

3.3 ANÁLISE DE *S. AUREUS*

Para o isolamento de *S. aureus* foi utilizado o meio Baird-Parker, o qual é específico para o isolamento e enumeração deste micro organismo, pois este meio contém nutrientes que favorecem o crescimento de *S. aureus*. Primeiramente, foi preparado um caldo nutritivo BHI (Brain Heart Infusion) para a revitalização de um disco de amostra de *S. aureus* (linhagem ATCC 25923) para ser utilizado como controle. Após a revitalização, uma alçada da mistura foi transferida para placa de petri contendo o meio Baird-Parker. Para a análise das amostras, cada diluição foi semeada nas placas com Baird-Parker em duplicata. Tanto para as amostras quanto para o controle, foi utilizada a técnica *Spread-plate* (semeadura em superfície).

O procedimento se deu adicionando 0,1 ml das diluições por toda a superfície do meio usando a alça *Drigalsky*. Posteriormente, as placas foram incubadas a 35°C e depois de 48 horas pode-se fazer a contagem (Figura 3).



Figura 3: Colônias de estafilococos em meio Baird-Parker.

Após análise das placas, as colônias foram submetidas ao teste bioquímico de coagulase (Coagu-plasma LB®) para diferenciação do *S. aureus* dos demais *Staphylococcus*. Primeiramente, foi acrescentado ao frasco contendo plasma de coelho liofilizado, 3mL de solução fisiológica estéril (NaCl 0,85%) e em seguida, homogeneizado e conservado para uso futuro. Na sequência, foi coletado uma alçada das colônias de estafilococos positivas ao teste de Baird-Parker e dissolvidas em caldo BHI (atritando a ponta da alça nas paredes do tubo). Feito isso, os tubos foram incubados a 37°C por algumas horas (4-8 h). Ao obter uma boa turvação, foi retirado 0,5mL deste caldo simples com as colônias mais 0,5 da solução fisiológica, e adicionados em um tubo estéril, o qual foi homogeneizado suavemente e incubado, também, a 37°C por 4-8 h. Para confirmar a presença de *S. aureus*, observou-se a formação de um coágulo no interior dos tubos, sendo então caracterizado como positivo ou, na ausência de coágulo, como negativo.

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As amostras foram nomeadas como mecânica 1, mecânica 2, manual 1, manual 2, manual 3 e manual 4, sendo assim foram feitas duplicata de meio PCA para observar o crescimento de Mesófilos totais, os quais comumente crescem em temperatura ambiente (30 – 37 °C).

Para as análises dos micro-organismos, os resultados encontrados foram positivos em todas as amostras quanto ao seu crescimento. Segundo Moraes e Ofugi (2010), o número de colônias considerado significativo para bactérias em geral seria entre 30 e 300 UFC. Por essa razão os cálculos foram realizados de acordo com este método considerando abaixo ou acima deste valor, não significativo para contagem.

As amostras que tiveram crescimento significativo foram somente a terceira diluição da Mecânica 1 com $19,25 \cdot 10^4$ UFC/ml e a quarta diluição, com contagem de $94 \cdot 10^4$ UFC/ml. A amostra Mecânica 2 houve uma contagem de $12,2 \cdot 10^3$ UFC/ml apenas na segunda diluição, sendo que as outras diluições não obtiveram um crescimento significativo. A amostra Manual 1 obteve uma contagem de $8 \cdot 10^2$ UFC/ml da primeira diluição, pois o restante apresentou crescimento insignificante. A amostra Manual 2 teve um crescimento na primeira e na quarta diluição, sendo $18,15 \cdot 10^2$ UFC/ml e $55 \cdot 10^4$ UFC/ml respectivamente. As demais também não apresentaram crescimento significativo para a contagem. As amostras Manual 3 e Manual 4 não obteve contagem significativas.

Portanto verificou-se uma maior contagem nas amostras oriundas da ordenha mecânica em relação às coletadas via ordenha manual. Este resultado pode estar relacionado ao método de higienização dos equipamentos de ordenha que devem passar periodicamente por manutenção e sanificação, assim como descrito por Zafalon (2008), que evidenciou que a sanificação dos equipamentos de ordenha é fundamental para a obtenção de leite de boa qualidade.

Dias et al., (2005), em seu trabalho de pesquisa sobre qualidade de queijo também, relata a importância da higienização do equipamento de ordenha, pois uma ordenha mecânica mal cuidada pode ser muito mais lesiva da qualidade do leite do que a ordenha manual.

Saran Netto et.al (2009) diz que a higiene de ordenha é de grande importância para reduzir a contagem bacteriana, pois mesmo um leite produzido com baixas contagens será contaminado num sistema de ordenha com higienização inadequada e sem a troca periódica, principalmente dos componentes de borracha. Ou seja, a ordenha mecânica pode contaminar até o leite que não se apresenta contaminado, devido aos seus equipamentos revestidos em borracha, e várias emendas que é propício para o crescimento bacteriano.

A partir dos resultados obtidos nas análises de *S. aureus*, pôde-se concluir que na contagem de colônias em meio Baird-Parker apresentou-se colônias típicas e atípicas. Dentre as colônias típicas, o *S. aureus* se mostrou presente em todas as amostras, porém o número de colônias foi significativo (apresentou números que variaram entre 30 e 300) em somente três delas, sendo elas a Mecânica 1, a Manual 1 e a Manual 2.

A amostra Mecânica 1 apresentou contagem de $3,2 \cdot 10^3$ UFC/ml somente na primeira diluição, as demais diluições da mesma amostra não apresentaram crescimento significativo. A amostra Manual 1 apresentou uma contagem de $9,8 \cdot 10^3$ UFC/ml e a Manual 2 apresentou contagem de $5,7 \cdot 10^3$ UFC/ml, ambas também na primeira diluição. As demais diluições também não apresentaram crescimento significativo. Em vista disso, ambos os resultados não foram representativos como indicativo de mastite.

As placas que obtiveram número significativo de colônias foram submetidas ao teste de produção de coagulase livre para a possível confirmação da presença de *S. aureus*. Com os resultados apurados, obteve-se efeito positivo em somente uma amostra de cepa (Manual 2), a qual, de acordo com a Normativa Nº62 (2003) revelou reação de nível 2. Santos (2011) afirma que, há fontes importantes que apresentam o *S. aureus* e por isso, tem grande importância na ocorrência de mastite, como é o caso das mãos dos ordenhadores e das teteiras dos equipamentos de ordenha contaminadas.

Tais resultados nos leva a concluir que, está havendo os devidos cuidados com a higienização do rebanho, assim como do próprio ordenhador, na fazenda do Centro Universitário Cesumar. As medidas preventivas descritas por Silva e Sanches (2010), estão sendo feitas adequadamente na fazenda: as vacas são conduzidas no local de ordenha com calma; é realizado o *pré-dipping* e *pós-dipping* para desinfecção dos tetos; além disso, o ordenhador também procura tomar os devidos cuidados com a higienização pessoal durante a ordenha, como a utilização de luvas no manuseio, para que não contamine os equipamentos de ordenha e muito ou os tetos das vacas.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos e discutidos, pode-se observar que aqueles obtidos pela ordenha manual para mesófilos totais não apresentou crescimento que indicasse perda na qualidade do leite ou problemas de higienização no método de ordenha, porém a predominância de mesófilos totais nas amostras coletadas por ordenha mecânica sugere falha na higienização dos equipamentos de ordenha.

Com relação á presença de *S. aureus* como indicativo de mastite nas vacas ordenhadas, o resultado evidencia a ausência de mastite pela baixa contagem de colônias presentes, característica provavelmente alcançada devido os cuidados tomados na higiene do rebanho e do ordenhador.

6. REFERÊNCIAS

BAHIA. Universidade Estadual de Feira de Santana. **Manual da disciplina Microbiologia de alimentos**. Feira de Santana, 2005, 24p.

BELOTI, V.; MULLER, E.E.; FREITAS, J.C.; MET'IFOGO, E. Estudo da Mastite Subclínica em Rebanhos Leiteiros no Norte do Paraná. **Semina: Ci. Agr.**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 45-53, mar.1997. Disponível em:

<<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:YDfDaRWmlvwJ:www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/download/4984/4400+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>>. Acesso em: 30 jul. 2013

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa Nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 18 de set. de 2003. Secção 1. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/servlet/VisualizarAnexo?id=6078>>. Acesso em: 05/08/2013.

BRITO, Maria Aparecida Vasconcelos Paiva; BRITO, José Renaldi Feitosa. **Qualidade do leite**. Disponível em: <http://fernandomadalena.com/site_arquivos/903.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2013.

CARVALHO, Armando da Costa. **Cuidados na ordenha manual**. Disponível em: <<http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Radio.asp?id=23120&secao=Multim%EDdia>>. Acesso em: 15 jul. 2013.

DIAS, João Cassinello Lopes et al. **Manual de boas práticas: Fabrico de queijo de cabra no Algarve**. Algarve, Portugal: Direção Regional de Agricultura e Pesca do Algarve, 2005. 53 p.

FAGUNDES, Helena; OLIVEIRA, Carlos Augusto Fernandes. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria, Rs, n. 4, p.1315-1320, 21 jan. 2004.

MÜLLER, Ernst Ekehardt. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite**. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2002, Maringá, Pr. **Anais do II Sul Leite**. Toledo, Pr: Nupel, 2002. P.206-217

MORAIS, Eduardo Beraldo de; OFUGI, Paula Marques. **Contagem de microorganismos através das técnicas spread-plate e pour-plate**. Disponível em: <<http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA2WIAI/contagem-microorganismos-atraves-das-tecnicas-spread-plate-pour-plate>>. Acesso em: 30 jul. 2013.

PEDRINI, S.c.b.; MARGATHO, L.f.f.. SENSIBILIDADE DE MICRORGANISMOS PATOGÊNICOS ISOLADOS DE CASOS DE MASTITE CLÍNICA EM BOVINOS FRENTE A DIFERENTES TIPOS DE DESINFETANTES. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 70, n. 4, p.391-395, 2003. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V70_4/pedrini.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2013.

QUEVEDO, Pedro S. et al. Correlação entre a contagem de mesófilos aeróbicos e a contagem de coliformes totais em leite pasteurizado tipo C. In: XIV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2006, Pelotas. **Anais do XIV Congresso de Iniciação Científica**. 2006.

REIS, Guilherme Lanna et al. Procedimentos de coleta de leite cru individual e sua relação com a composição físico-química e a contagem de células somáticas. **Ciência Rural**, Santa Maria, Rs, n. , p.1134-1138, 2007.

RIBEIRO, Maria E. R. et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas-rs, v. 9, n. 3, p.287-289, 2003. Disponível em: <<http://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/606/617>>. Acesso em: 15 jul. 2013.

RIBEIRO, Marlice Teixeira; CARVALHO, Armando da Costa. **Ordenha Mecânica**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_63_217200392359.html>. Acesso em: 30 jul. 2013.

ROSA, Marcelo Simão da et al. **Boas práticas de manejo - ordenha**. Jaboticabal, Sp: Funep, 2009.

SANTOS, Marcos Veiga. **Fontes de Staphylococcus aureus em rebanhos leiteiros com alta prevalência de mastite**. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/fontes-de-staphylococcus-aureus-em-rebanhos-leiteiros-com-alta-prevalencia-de-mastite-72822n.aspx>>. Acesso em: 22 jul. 2013.

SARAN NETTO, A. et al. **Estudo comparativo da qualidade do leite em ordenha manual e mecânica**. Rev. Inst. Ciênc. Saúde, v. 27, n. 4, p. 345-349, 2009.

SILVA, Wladimir; SANCHES, Aline Feitosa. **Boas práticas agropecuárias em ordenha mecânica na região de São José do Rio Preto/SP**. 2010. 89 f. Tcc (Graduação) - Fatec, São José do Rio Preto-sp, 2010.

TOZZETTI, Danilo Soares; BATAIER, Miguel Bataier Neto; ALMEIDA, Leandro Rafael de. Prevenção, controle e tratamento - Revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, Sp, n. 10, p.1-7, 2008. Disponível em: <http://www.revista.inf.br/veterinaria10/revisao/edic-vi-n10-RL74.pdf>. Acesso em: 23 julho 2013

ZAFALON, Luiz Francisco et al. **Boas práticas de ordenha**. São Carlos, Sp: Embrapa Pecuária Sudeste, 2008.