

Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública

Rev. Ciênc. Vet. Saúde Públ., v. 1, n. 2, p. 099-106, 2014

Isolamento de bactérias causadoras de mastite subclínica e correlação entre qualidade físico-química do leite e contagem de células somáticas

(Isolation of bacteria associated with mastitis and correlation between physicochemical quality and somatic cell count)

SABEDOT, M. A.¹; POZZA, M. S. ^{2*}; Silva, L. S ³; ZAMBOM, M. A⁴; POZZA, P. C ⁵; ECKSTEIN, I.I ⁶

1- Doutoranda em Nutrição de Ruminantes, Universidade Federal da Paraíba.

2- Docente Universidade Estadual de Maringá – UEM

3- Mestranda Pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste

4- Docente Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste

5- Docente Universidade Estadual de Maringá – UEM

6- Mestre pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste

[***pizzamagali@yahoo.com.br**](mailto:pizzamagali@yahoo.com.br)

Artigo enviado em 16/06/2014, aceito para publicação em 08/12/2014.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a influência da contagem de células somáticas (CCS) sobre a qualidade do leite. Foram colhidas 50 amostras de leite as quais foram positivas ao California Mastitis Test (CMT). Amostras de cinco mL de leite foram homogeneizadas e semeadas na superfície de Ágar Sangue e incubadas em estufa à 37°C/24-48hs. Os ECP foram as bactérias mais freqüentemente isoladas. Verificou-se que as médias de CCS variaram de 21.000 células/mL a 8.451.000,00; gordura (%) 1,80; proteína (%) 3,31; lactose (%) 4,30; e EST (%) 11,4. Houve correlação entre os componentes do leite (lactose e sólidos totais) e CCS. A maioria das amostras encontrava-se fora dos padrões exigidos pela IN 51, com relação à gordura e sólidos totais. Há necessidade de revisão dos procedimentos de sanidade e de produção.

PALAVRAS-CHAVE: bovinos, coagulase, leite, estafilococos.

ABSTRACT

One fifty milk samples collected that were positive for California Mastitis Test (CMT). This study was designed to evaluate the effects of somatic cell count (SCC) on milk quality. Five mL of milk were collected, homogenized and inoculated at surface of Bovine Blood Agar and incubated at 37°C/24-48 h. CPS were more isolated bacteria. The resulted showed SCC ranging from 21.000 cells/mL to 8.451.000.000 cells/mL; total fat (%) 1,80; protein (%)3,31; lactose (%),4,30; total solids (%) 11,4. Correlations exist among the components of the milk (lactose and EST) and CCS. According to federal regulations differences in physicochemical and cytological (SCC) patterns of milk were found in these samples, in relation to total fat and total solids. There was necessity revision sanitation and productions procedures.

KEY-WORDS: bovine, coagulase, milk, staphylococci.

INTRODUÇÃO

A qualidade do leite assume destacada importância sob o ponto de vista de saúde pública.

No Brasil, embora não existam estatísticas disponíveis sobre o assunto, são freqüentes os casos de doenças associadas ao consumo de leite cru ou de derivados produzidos com leite contaminado com micro-organismos patogênicos. Contribui para isto, entre outras causas, o fato de mais de 44% do leite consumido no país ser proveniente de mercado

informal (ANUÁRIO MILKBIZZ, 1999), ou seja, comercializado sem qualquer tratamento térmico ou controle laboratorial.

A mastite é uma reação inflamatória desencadeada em resposta a agressões sofridas ao tecido mamário, micro-organismos e suas toxinas, traumatismos físicos (corte, pisaduras, lesões) e irritantes químicos. A passagem das células de defesa do sangue para o leite é uma das suas principais consequências (CUNHA, 1988).

Dentre os micro-organismos que podem estar presentes no leite encontra-se o *Staphylococcus aureus*, micro-organismo envolvido em infecções intramamárias de fêmeas em lactação, sendo o principal agente etiológico de mastite em bovinos. Coerentemente, *S. aureus* é o micro-organismo patogênico mais freqüentemente isolado de leite cru (ZECCHONI e HAHN, 2000). Cerca de 10% dos estafilococos causadores de mastite, produzem toxinas termoestáveis capazes de intoxicar o homem através do consumo de leite que, quando ingeridas provocam náusea, vômito e diarréia.

Segundo SEARS (1993), os principais micro-organismos causadores de mastite bovina podem ser divididos em cinco grupos: cocos Gram positivos, bactérias Gram negativas, corinebactérias e *Actinomyces*, *Mycoplasma* e outros como *Nocardia* spp., *Prototheca* spp. e leveduras; entretanto os cocos Gram positivos constituem o principal grupo, responsáveis por mais de 90% das ocorrências (BIER, 1990), sendo o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* as espécies mais freqüentes. Segundo FERREIRO (1981) o *Staphylococcus aureus* ocupa o primeiro lugar na freqüência de isolamentos, ficando o *Streptococcus* spp. em posição secundária, certamente devido à susceptibilidade que apresentam aos antibióticos.

Alguns fatores de virulência dos estafilococos são associados à sua capacidade enterotoxigênica, entre eles a produção de coagulase (PEREIRA, 2005). Quanto aos estafilococos coagulase negativos (ECN), estes estão associados a uma série de outras infecções em homens e animais. Para ORDEN et al.. (1992) ECN podem produzir quantidades menores de enterotoxinas quando comparados com *S. aureus*, mas não devem ser excluídos quando presentes em alimentos envolvidos em surtos de intoxicações alimentares.

O California Mastitis test (CMT) constitui-se num método indireto de avaliação da quantidade de células somáticas no leite, o qual baseia-se na atuação de um detergente aniónico sobre a membrana celular, causando a ruptura da mesma e a formação de um gel na interação dos ácidos nucléicos com o detergente (ROSENBERGER, 1983).

A CCS no leite de animais individuais ou de tanque é uma ferramenta valiosa na avaliação do nível de mastite subclínica no rebanho, bem como indicativo da qualidade do leite na propriedade e para estabelecer medidas de prevenção e controle da mastite (MULLER, 2002).

O leite com alta CCS apresenta um decréscimo de caseína, gordura e lactose. Com isso, ocorre uma redução do rendimento do produto na sua industrialização, bem como do tempo de estocagem do mesmo e seus derivados, razão pela qual os laticínios estão preferindo o leite com baixa CCS. As enzimas e minerais também são afetados. A extensão do aumento da CCS e as mudanças na composição do leite estão diretamente relacionadas com a superfície do tecido mamário atingido pela reação inflamatória. Portanto, há uma relação direta entre a CCS e a concentração dos componentes do leite (SCHAELLIBAUM, 2000).

MATERIAL E MÉTODOS

Animais: Foram examinados 50 quartos mamários positivos ao CMT, no período de agosto a novembro de 2013. As propriedades estudadas apresentavam rebanhos compostos por diferentes raças, predominando a holandesa. Em cada propriedade foi aplicado um questionário relacionado ao sistema de extração do leite adotado.

Local de realização do experimento: os animais utilizados no experimento foram procedentes de sete propriedades leiteiras localizadas no município de Marechal Cândido Rondon, Paraná. As amostras

de leite foram processadas no Laboratório de Microbiologia e Bioquímica da Unioeste – Campus Marechal Cândido Rondon. Paralelamente, as amostras também foram identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicas e posteriormente enviadas via correio para o Laboratório centralizado de análise de leite, o qual pertence ao programa de análise de rebanhos leiteiros do Paraná, programa esse da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) para análise de CCS e dos teores dos componentes, sendo utilizado em cada frasco de coleta o conservante Bronopol.

Questionários: as informações obtidas durante as coletas foram a respeito do tipo de ordenha, armazenagem do leite, entrega do leite, análise da higiene da sala de ordenha, higienização dos tetos, tipo de instalações, uso de uniformes pelos funcionários e incidência de mastite (pouca, média, muita).

Colheita das amostras: as vacas em lactação foram submetidas ao teste do CMT para detecção de mastite subclínica, seguindo orientação descrita por SCHALM et al. (1971). A colheita das amostras para a realização dos exames bacteriológicos dos quartos mamários foi feita dos quartos que apresentavam reação positiva ao CMT. Para os exames microbiológicos, a colheita das amostras de leite foi precedida de limpeza dos tetos por lavagem, secagem com papel toalha e anti-sepsia com álcool 70°GL. Cerca de 5 mL de leite foram colhidos em frascos de vidro esterilizados.

Análises microbiológicas: isolamento, enumeração e identificação de *Staphylococcus* spp.

As amostras de leite foram homogeneizadas e posteriormente, alíquotas de 0,1 mL foram semeadas na superfície de Ágar sangue de ovino a 5% e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C, sendo as leituras efetuadas após 24 e 48 horas de incubação. Inicialmente observaram-se as

características morfológicas das colônias como tamanho, tipo, coloração e presença de hemólise. Ao microscópio foram observadas a morfologia, disposição das células e características tintoriais ao Gram (CARTER, 1988). Foram coletadas, em média, 5 colônias típicas para o teste da coagulase (AOAC, 1995) e catalase (SCHALM et al., 1971) para a diferenciação entre estafilococos e estreptococos, sendo as colônias previamente repicadas para o caldo BHI (Infusão de Cérebro e coração) por 24 horas a 37°C. As bactérias Gram positivas foram submetidas à prova de coagulase para diferenciação entre *Staphylococcus* coagulase positiva e *Staphylococcus* coagulase negativa. As bactérias Gram negativas foram estriadas em Agar EMB (Eosine Metilene Blue).

A contagem eletrônica de células somáticas e análises físico-químicas foram realizadas no Laboratório do programa de Análise de Rebanhos leiteiros da APCBRH utilizando-se o equipamento Combi – 2500 (Bentley Somacount Analytical Instruments for the Dairy Industry).

Os coeficientes de correlação foram obtidos por meio do sistema de análises estatísticas e genéticas, SAEG, desenvolvido pela Universidade Federal de Viçosa – UFV (1999) pelo teste de correlação de Spearman a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A produção de leite, nas propriedades avaliadas, variou entre 150 a 1170 Lt/Leite/dia, sendo que em todas elas a ordenha era mecanizada e em apenas uma, o leite não era entregue na cooperativa. Com relação ao tipo de ordenha, em 4 propriedades era canalizada e três era balde ao pé. Após o término da ordenha, seis propriedades armazenavam o leite em tanques de expansão e apenas uma em latões. As condições de higiene na sala de ordenha variavam de ruins (4 propriedades),

boas (2) e muito boas (1). As instalações eram de madeira (4) ou alvenaria (3).

Todas as propriedades utilizavam toalhas umedecidas com uma solução de água e detergente para a lavagem dos tetos e apenas duas delas usavam pós-DIP. Nenhum funcionário utilizava luvas ou uniforme. Sobre a incidência de mastite, verificou-se que em seis propriedades era baixa a média e em uma alta.

Com relação ao teste do CMT, este variou de uma cruz até três cruzes. Das 50 amostras positivas, 22% apresentou +, 42% ++ e 36% ++++. A maioria dos quartos infectados foram os posteriores (62%).

Das amostras colhidas nas propriedades selecionaram-se 246 colônias típicas de estafilococos isoladas no Ágar sangue. 68% das colônias foram caracterizadas como pertencentes ao gênero *Staphylococcus* e 26% ao gênero *Streptococcus*. Porém 6% não foram analisadas, pois não houve crescimento no caldo BHI. Das amostras catalase positivas os valores encontrados para ECP foram de 67% e para ECN foram de 33 %.

Das colônias Gram negativas, 53% cresceram em Agar EMB, porém não foram realizados testes bioquímicos para confirmação de *Escherichia coli*.

SANTANA *et al.* (2006) avaliando amostras de leite cru nas regiões de Londrina e de Pelotas constataram que todas as amostras apresentam ECP, havendo predominância de culturas atípicas de estafilococos, independente da capacidade de produzir da enzima coagulase, entretanto, no presente experimento foram avaliadas somente as colônias típicas de estafilococos.

LAFFARNCHI *et al.* (2001) relataram que das 1985 amostras de leite avaliadas, 457 (23,02%) apresentaram-se positivas nos exames

microbiológicos. Em 311 quartos (68,05%) foram isolados ECN em cultura pura e em 5 (1,09%) em cultura mista, perfazendo um total de 316 (69,14%) isolados.

BARBALHO e MOTA (2001) também observaram acentuada participação de estafilococos no resultado do exame microbiológico das 104 amostras de leite proveniente de 43 animais estudados, verificando que as bactérias do gênero estafilococos foram isoladas de 50 amostras, correspondendo a 38,76% do total dos agentes isolados.

Os resultados das análises microbiológicas em Ágar Sangue evidenciaram altas contagens, principalmente nas 12 primeiras amostras analisadas. Entretanto, de acordo com a análise estatística, não existiu correlação entre os valores de contagem e de CCS.

Das 50 amostras analisadas apenas 16 (32%) apresentaram contagem de células somáticas do abaixo de 400.000 céls/mL atendendo aos padrões máximos preconizados pela Instrução Normativa N° 51 (BRASIL, 2002). Estudos efetuados por HARMON (1998) indicam que CCS > 300.000 céulas/mL, significa uma condição anormal do úbere, sendo que a principal causa do aumento desta CCS seria uma inflamação da glândula mamária. LIMA *et al.* (2006) ao estudar 13 rebanhos relataram CCS média de 402.126 céls/mL. SILVA *et al.* (2007) avaliando as freqüências observadas para verificar a dependência entre o tipo de ordenha e a condição anormal do úbere observaram que na ordenha manual foi a que apresentou menor freqüência observada (32) para quartos com CCS > 300.000 céulas/mL, já a ordenha mecânica balde ao pé, constatou-se a maior freqüência observada (48) para CCS > 300.000 céulas/mL.

Os valores mínimos de gordura, proteína e extrato seco total para os leites crus tipo "B" e "C"

exigidos pela Instrução Normativa Nº 51 são respectivamente, 3,0; 2,9 e 11,4. Os resultados médios das análises físico-químicas foram, 1,80% para gordura, proteína 3,31% e sólidos totais 10,33%. Considerando-se as médias, os valores de gordura e sólidos totais por serem inferiores, não se enquadram nas normas, entretanto os teores de proteína apresentaram médias elevadas.

Embora a influência da concentração de células somáticas sobre os constituintes do leite seja muito discutida, neste experimento verificou-se a presença de correlação entre a composição do leite e a CCS, realizando o cálculo de coeficiente de correlação (r) cujos dados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Correlação de Sperman entre as variáveis analisadas

Variável	Variável	Correlação	Significância
Contagem	CCS	0,0372	0,3974
Contagem	Gordura	-0,1980	0,0829
Contagem	Proteína	-0,1506	0,1460
Contagem	Lactose	-0,2332	0,0513
Contagem	Sólidos Totais	-0,2863	0,0225
CCS	Gordura	-0,0767	0,2956
CCS	proteína	0,0336	0,4070
CCS	Lactose	-0,3495	0,0072
CCS	Sólidos	-0,3440	0,0080

Contagem: Contagem bacteriana em ágar sangue

A relação entre duas variáveis é tanto mais estreita, quanto mais o coeficiente de correlação (r) se aproxima de -1 e 1, e nível de significância (p) tende a zero.

Entre as variáveis contagem e composição físico-química não houve relação significativa ($p > 0,05$), exceto contagem e teor de lactose ($r = -0,23$), havendo uma correlação negativa e significativa, o que mostra que quanto maior a contagem bacteriana menor o percentual de lactose, evidenciando o crescimento microbiano utilizando a lactose como fonte de carboidratos. As variáveis contagem e EST também apresentaram correlação negativa ($r = -0,28$) e significativa.

As variáveis gordura e CCS apresentaram o coeficiente de correlação de -0,07, porém não significativo. Resultados semelhantes foram obtidos por MUNRO et al. (1984). Entretanto, outros fatores além da mastite, como o manejo alimentar e até mesmo a produção afetam o teor de gordura no leite, como demonstrado por AKERLIND (1999) que ressaltam que quanto maior a produção animal,

menor é a porcentagem de gordura das amostras de leite. Normalmente existe tendência de queda na concentração de gordura à medida que aumenta a CCS. Nos casos em que a produção de leite diminui em uma proporção maior que a síntese da gordura a percentagem de gordura aumenta em animais com altas CCS em função do efeito da concentração (KITCHEN, 1981).

Para as variáveis proteína e CCS, obteve-se $r = 0,03$, e que também não foi significativo. LIMA et al. (2006) concluíram que a concentração de proteína total no leite com alta CCS, permanece inalterada ou sofre pequenas alterações. MACHADO et al. (2002) observaram discreta variação nos valores médios das proteínas totais do leite com o aumento do número de células somáticas, o que segundo os autores talvez possa ser justificado pelo aumento nos níveis de albumina e imunoglobulinas presentes no sangue.

Entretanto, o coeficiente de correlação entre CCS e lactose foi $-0,34$ ($p < 0,05$) o que significa que conforme ocorre um aumento de CCS

diminui os teores de lactose. Alguns estudos mostram uma diminuição do teor de lactose em relação ao aumento da contagem de células somáticas (MUNRO et al., 1984 e POLITIS e NG-KWAI-HANG, 1988). Segundo SCHAELLIBAUM (2000) a mastite, acompanhada de altas CCS, está associada a diminuição da concentração de lactose no leite.

A lactose é sintetizada pelo aparelho de Golgi das células epiteliais secretora dos alvéolos mamários. A mastite causa dano neste tecido e altera os sistemas enzimáticos nas células secretoras, tendo, como consequência, a diminuição da biosíntese deste constituinte. Segundo KITCHEN (1981) níveis de lactose inferiores a 4,69 e 4,75% podem ser indicativos de mastite no rebanho. BRITO e BRITO (1998) afirmam que a redução de até 10% na concentração de lactose pode ocorrer em amostras de leite de quartos mamários com mastite.

O EST e CCS apresentaram $r = -0,34$ ($p < 0,05$); resultado semelhantes foram obtidos por MACHADO et al. (1999), entretanto MACHADO et al. (2002) observaram o aumento na concentração de sólidos totais no leite com o aumento de CCS, o que provavelmente seja decorrente da presença no leite de um maior número de células de defesa (leucócitos) e dos subprodutos da inflamação. ELIAS et al. (2005) avaliando 1051 vacas em lactação também não observaram diferenças estatísticas significativas com relação à proteína, EST, ESD e acidez.

A redução dos valores de parâmetros físico-químicos compromete diretamente o rendimento industrial, principalmente em relação à fabricação de queijos, chegando a uma queda de 5% na produção além de prolongar o tempo de coagulação, firmeza do coágulo, expulsão do soro e taxa de desenvolvimento da acidez. Todos estes fatores interferem, diretamente na qualidade do

produto final, diminuindo assim seu valor nutritivo, além de interferir no valor pago por litro de leite, uma vez que vários destes parâmetros são utilizados para bonificar o produtor no sistema de pagamento por qualidade (LIMA et al., 2006).

As infecções intramamárias causadas por *S. aureus* apresentam implicações importantes em saúde pública, tendo em vista que as toxinas podem ser excretadas no leite e permanecer estáveis nos produtos oferecidos ao consumo. A oferta de leite de boa qualidade exige uma série de medidas de controle em todas as etapas da cadeia de produção. Da mesma forma, produtores de leite e mercado varejista, membros da indústria leiteira (setor de transformação) devem atender a demanda dos consumidores por qualidade e segurança alimentar (FAGUNDES e OLIVEIRA, 2004).

CONCLUSÃO

Houve a predominância de infecções intramamárias causadas por estafilococos coagulase positivos (ECP). As amostras de leite cru, em sua maioria, apresentavam CCS e valores dos parâmetros físico-químicos (gordura e extrato seco total) fora dos padrões exigidos pelo IN N°51. Estes dados sugerem a adoção de medidas preventivas visto que, o acompanhamento, pela CCS juntamente com os exames microbiológicos, são importantes ferramentas para o monitoramento da saúde da glândula mamária.

REFERÊNCIAS

- AKERLIND, M. Glucose challenge in early lactating dairy cows selected for high or low milk-fat concentration, *J. An. Sci.* v.68, p.717, 1998.
- ANUÁRIO MILKBIZZ. Anuário milkbizz 1999/2000. São Paulo:Milkbizz, 1999. 326 p.
- AOAC. *International Official Methods of Analysis*. 16.ed. Gaithersburg:AOAC International, 1995.

- BARBALHO, T.C.F.; MOTA,R.A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastites subclínica bovina no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira da Saúde e Produção Animal.** EMV- EFBA, 2001. p. 31-36.
- BIER, O. **Microbiologia e Imunologia.** 24 ed. São Paulo: Melhoramento, 1990, 1324p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa no 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e Oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 13-22, 20 set. 2002b. Seção I.
- BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F. O efeito da mastite no leite. **Leite Brasil**, v.1, n.4, p.37-44, 1998.
- CARTER, G.R. Fundamentos de bacteriologia e micologia veterinária. São Paulo:Rocca, 1988.
- CUNHA, M.S. **Contribuição ao diagnóstico clínico das mastites: influência das , fases da lactação, fases da ordenha e dos processos inflamatórios na composição físico-química, celular e microbiológica do leite de vacas da raça holandesa preta e branca.** 1988. 99p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1988.
- e: Simpósio sobre sustentabilidade de pecuária leiteira na região sul do Brasil, Anais... Maringá: UEM/CCA/DZO- NUPEL, p. 206 – 217, 2002.
- ELIAS, A.O.; VICTORIA, C.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Características físico-químicas e contagem de células somáticas de leite proveniente de vacas naturalmente infectadas por *Streptococcus spp.* **Arq. Cienc. Vet. Zool.** UNIPAR, v.8, n.2, p.165-170, 2005.
- FAGUNDES, H. e OLIVEIRA, C.A.F. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.4, p.1315-1320, jul-agosto, 2004.
- FERREIRO, L. Ocorrência e etiologia da mastite bovina na “Zona da mata” do estado de Minas gerais. **Arq. Esc. Vet. UFMG**, Belo Horizonte, v.33, n.1, p.31-37, 1981.
- HARMON, R.J. Fatores que afetam as contagens de células. In: Simpósio Internacional sobre qualidade do leite, 1, 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba:Universidade Federal do Paraná, 1998, p.7-16.
- KITCHEN, B.J. Reivew of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostictic tests. **Journal of Dairy Research**, v.48, n.1, p. 167-188, 1981.
- LAFFARANCHI, A.; MÜLLER, E.E.; FREITAS, J.C.; GARCIA, L.P.G.; DIAS, J.A.; SALVADOR. Etiologia das Infecções Intramamárias em Vacas Primíparas ao Longo dos Primeiros Quatro Meses de Lactação. **Ciência Rural**, v.36. p1027-1032.2006.
- LIMA, M.C.G.; SENA, M.J.; MOTA, R.A.; MENDES, E.S.; ALMEIDA, C.C.; SILVA, R.P.P.E. Contagem de Células Somáticas e Análises Físico-Químicas e Microbiológicas do Leite Cru Tipo C Produzido na Região Agreste do Estado de Pernambuco. **Arq. Inst. Biol** , São Paulo, 2006. v73. p.89-95.
- MACHADO, J.G.; MUNDIN, A.V.; ROSSI, D.A. Células somática, teores de proteína total, lactose, gordura e sólidos totais em leite de mistura tipo “C”. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.57, nº 329, p.19-24, 2002.
- MACHADO, P.F.; PEREIRA, A.R.; SARRIÈS, 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.

- MÜLLER, E.E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SANTOS, G.T.; JOBIM, C.C.; DAMASCENO, J.C. Sul-Leit MUNRO, G.L.; GRIEVE, P.A.; KITCHEN, B.J. Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. **The Australian Journal of Dairy Technology**, v. 39, n.1, p.7-16, 1984.
- ORDEN, J.A.; GOYACHE, J.; HERNANDE, J.; DOMENECH, A.; SUAREZ, G.; GOMEZ-LUCIA, E. Production of staphylococcal enterotoxins and TSST-1 by coagulase negative staphylococci isolate from ruminant mastitis. **Journal of Veterinary Medicine: Series B**, Berlin, v.39, p.144-148, 1992.
- PEREIRA, K.S.; PEREIRA, J.L. Estafilococos coagulase negativa:potenciais patógenos em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 19, n. 129, p.32-34, 2005.
- POLITIS, I.; NG-KWAI-HANG, K.F. Effects of somatic cell count and milk composition on cheese composition and cheese making efficiency. **Journal of Dairy Science**, v.71, n.7, p.1711-1719, 1988.
- ROSENBERGER, G. **Exame clinico dos bovinos**. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 1986. p.1554-159.
- SANTANA, E.H.W.; BETOLI, V.; OLIVEIRA,T.C.R.M.; MORAES, L.B. ; TAMININI,R.; SILVA, W .P. Estafilococos: morfologia das colônias, produções de coagulase e enterotoxina, em amostras isoladas de leite cru refrigerado. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v27. n4. p 639-646.2006.
- SCHAELLIBAUM, M. Efeitos de altas concentrações de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: Simpósio Internacional sobre qualidade do leite, 2, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba:CIETEP/FIEP, 2000. p. 21-26.
- SCHALM, O.W.; CARROL, J.E.; JAIN, N.C. Bovine Mastitis. 1st Ed. Lea and Febiger. Philadelphia, USA. pp. 132-153, 1971.
- SEARS, P.M. procedures for mastitis diagnosis and control. **The vet. clin. of north America: food anim. Pract.**, Philadelphia, v.9, n.3, p.445-468, 1993.
- SILVA, J.C., BENEDETTI, E.; TEZNER, T.A.D. Contagem de células somáticas em amostras de leite cru na região de Catalão, GO. **Revista Higiene Alimentar**, vol. 21, nº149, 73-81, março 2007.
- ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin IDF**, v.345, p.15-18, 2000.