

CORRELAÇÃO ENTRE CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS, PARÂMETROS MICROBIOLÓGICOS E COMPONENTES DO LEITE EM AMOSTRAS DE LEITE *IN NATURA*

Mayara Andressa Sabedot¹
Magali Soares dos Santos Pozza²
Paulo Cesar Pozza²
Ruthielly Zeni de Almeida¹
Ricardo Vianna Nunes²
Ilton Isandro Eckstein¹

SABEDOT, M. A.; POZZA, M. S. S. dos; POZZA, P. C.; ALMEIDA, R. Z. de; NUNES, R. V.; ECKSTEIN, I. I. Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras de leite *in natura*. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR**, Umuarama, v. 14, n. 2, p. 101-106, jul./dez. 2011.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade do leite cru refrigerado, tendo em vista os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51; assim como verificar a correlação existente entre a contagem de células somáticas, componentes do leite e contagens bacterianas. Os resultados mostraram que das 72 amostras avaliadas, 91,66% para aeróbios mesófilos, foram consideradas acima dos padrões exigidos pela legislação. Todas as amostras estavam contaminadas com coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes. As contagens de mesófilos proteolíticos e de CCS também foram consideradas altas. No teste de lactofermentação, 85% das amostras apresentaram formas visuais não desejáveis; no teste de resistência térmica apenas 20% mantiveram-se estáveis. Correlações significativas foram obtidas entre CCS e os componentes do leite (proteína e lactose) e CCS e contagens microbiológicas.

PALAVRAS-CHAVE: Composição; Leite; Microbiologia; Vacas.

CORRELATION AMONG SOMATIC CELLS COUNT, MICROBIOLOGICAL PARAMETERS AND MILK COMPONENTS IN SAMPLES OF *IN NATURA* MILK

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the quality of cooled raw milk regarding the standards established by Law nº 51, as well as to verify the correlation existing among the somatic cell count (SCC), milk components and bacterial counts. The results of 72 analyzed samples pointed out that 91.66 % was out of the standards for mesophilic aerobes. All the samples were contaminated with coliforms at 35°C and thermotolerant coliforms. The counts of proteolytic mesophiles and SCC were considered high. In the lactofermentation test, 85% of the samples showed visual undesirable forms, and in the thermal resistance test, only 20% kept stable. Significant correlations were obtained between somatic cell count and milk composition (protein and lactose), and between SCC and bacterial count.

KEYWORDS: Composition; Cows; Microbiology; Milk.

CORRELACIÓN ENTRE CONTAJE DE CÉLULAS SOMÁTICAS, PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS Y COMPONENTES DE LA LECHE EN MUESTRAS DE LECHE *IN NATURA*

RESUMEN: El objetivo de este estudio ha sido evaluar la calidad de la leche cruda refrigerado, teniendo en cuenta los estándares establecidos por la Instrucción Normativa nº 51; así como verificar la correlación existente entre el conteo de células somáticas, componentes de la leche y contajes bacterianas. Los resultados señalaron que de las 72 muestras evaluadas, 91,66% para aerobios mesófilos, han sido consideradas arriba de los estándares exigidos por la legislación. Todas las muestras estaban contaminadas con coliformes a 35°C y coliformes termo tolerantes. Los contajes de mesófilos proteolíticos y de CCS también fueron considerados altos. En el test de lacto fermentación, 85% de las muestras presentaron formas visuales no deseables; en el test de resistencia térmica solamente 20% se mantuvieron estables. Correlaciones significativas se han obtenido entre CCS y los componentes de la leche (proteína y lactosa) y CCS y contajes microbiológicas.

PALABRAS CLAVE: Composición; Leche; Microbiología; Vacas.

Introdução

A disponibilidade de nutrientes no leite, sua alta atividade de água e seu pH próximo da neutralidade torna-o um meio extremamente favorável ao crescimento microbiano (ARCURI et al., 2006). Como fonte de proteínas, lipíde-

os, carboidratos, minerais e vitaminas, a multiplicação dos micro-organismos é muito rápida, se a temperatura for ideal para o crescimento (COUSINS; BRAMLEY, 1987).

A ação das bactérias ou de suas enzimas sobre os componentes lácteos causa várias alterações no leite e seus derivados. Esses defeitos incluem sabores e aromas indese-

¹Acadêmicos do curso de Zootecnia – Unioeste.

²Docentes do Programa de Pós Graduação em Zootecnia – Unioeste.

Endereço para correspondência Rua Visconde de Nassau, nº 420 Maringá PR. CEP 87.020.030 magaspozza@hotmail.com

jáveis, diminuição da vida de prateleira, interferência nos processos tecnológicos e redução do rendimento, especialmente de queijos (HICKS et al., 1982; CHAMPAGNE et al., 1994).

Os micro-organismos proteolíticos constituem um grupo heterogêneo que produzem enzimas extracelulares com atividade proteolítica que irão resultar em alterações como sabor, redução da qualidade nutricional e diminuição do tempo de prateleira. As espécies proteolíticas mais comuns estão nos gêneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas* e *Proteus* (WEHR; FRANK, 2004).

A contagem de células somáticas (CCS) é um critério muito importante para a avaliação da qualidade higiênica do leite (SKRZYPEK et al. 2004). Tem sido considerada como medida padrão de qualidade, pois está relacionada com a composição, rendimento industrial e segurança alimentar do leite. Tendo alta relevância para os produtores, pois indica o estado sanitário das glândulas mamárias das vacas, podendo sinalizar perdas significativas na produção e alterações da qualidade do leite (BUENO et al. 2005).

A contagem de células somáticas do tanque de leite (CCSTL), tem relação direta e indicativa da prevalência de mastite, na composição do leite, riscos de contaminação do leite com antibióticos e probabilidade da presença de bactérias patogênicas (BEHMER, 1999). Rebanhos que apresentam uma menor quantidade de células somáticas no tanque, conseqüentemente, apresentam maior produtividade e quando a CCS do tanque for superior a 300.000 cs/mL, o rendimento industrial na fabricação de queijos será menor e a qualidade sensorial do produto será inferior (CARVALHO, 1995).

Dessa forma, objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade do leite cru refrigerado, tendo em vista os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, como também verificar as correlações existentes entre as variáveis: contagem de células somáticas (CCS), pH, temperatura no momento da coleta, componentes do leite e contagens microbiológicas.

Material e Métodos

Foram coletadas 72 amostras de leite cru refrigerado, provenientes de vacas primíparas e pluríparas, de diferentes graus de sangue, em diferentes estágios de lactação, pertencentes a 12 propriedades rurais de exploração leiteira localizadas no município de Marechal Cândido Rondon, em sua maioria com ordenha do tipo mecânica, durante um período de quatro meses do ano de 2009.

O leite foi coletado diretamente dos tanques de refrigeração com o auxílio de uma concha inox, sendo verificado no momento da coleta a temperatura do tanque com o auxílio de um termômetro. As amostras foram armazenadas em recipientes isotérmicos, contendo gelo reciclável, sendo em seguida, armazenadas sob refrigeração até o momento do uso.

Para a análise de CCS, as amostras foram enviadas ao Laboratório da APCBRH (Associação Paranaense dos Criadores de Bovino da Raça Holandesa). O leite coletado foi conservado em Bronopol, analisado pelo aparelho Soma-count® 500 de acordo com a metodologia prescrita pelo fabri-

cante e os resultados expressos em céls/mL.

As amostras foram também levadas ao laboratório de Microbiologia e Bioquímica da Universidade Estadual do Oeste do Paraná para as análises microbiológicas. Para a contagem de aeróbios mesófilos (contagem padrão), diluições apropriadas foram inoculadas em ágar padrão para contagem (Standard Methods Agar, Acumedia, Baltimore, Maryland), e as placas foram incubadas a 32±1°C por 48±3 horas de acordo com técnicas preconizadas American Public Association (APHA, 2001).

As amostras foram submetidas à determinação do Número mais Provável de coliformes (NMP) a 35°C por mL de amostra, sendo adotada a técnica dos tubos múltiplos, utilizando-se o meio caldo lactosado (Lactose broth, Acumedia, Baltimore, Maryland) e o Caldo bile verde brilhante 2% - VB (brilliant green bile broth 2%, Himedia, India), em três tubos por diluição, a 35°C por 24 a 48 horas. Tubos de caldo lactosado positivos foram repicados para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (EC broth, Acumedia, Baltimore, Maryland), utilizado para determinar a presença de coliformes termotolerantes. Após incubação a 44,5°C durante 24 horas, foi verificado o número dos tubos com crescimento positivo (turbidez e gás) e determinado o NMP/mL (APHA, 2001).

Para a contagem de Bactérias Mesófilas Proteolíticas utilizou-se 20 mL de agar padrão para contagem (PCA) acrescido de 10,0 % de leite em pó desnatado e reconstituído e esterilizado. Depois da homogeneização as placas foram incubadas a 21°C por 72 horas (SILVA et al. 2001).

As amostras de leite cru refrigeradas foram submetidas à prova de lactofermentação, para verificação do tipo de microbiota mesofílica predominante no leite, com base no aspecto, odor e tipo de coágulo formado. Aliquotas de 10 mL do leite foram incubadas a 37 °C, por 24 a 48 h para posterior avaliação do tipo de coágulo formado (BRAMLEY; McKINNON, 1990).

No teste de Resistência Térmica, os tubos previamente esterilizados contendo 10 mL de cada amostra foram submetidos ao banho-maria a 75 °C por 1 minuto. Ao final destes prazos foram realizadas as leituras observando-se o aspecto do conteúdo interno dos tubos (BADARÓ et al, 2007).

Para o estudo estatístico foi estimado o coeficiente de correlação linear (coeficiente de Pearson) entre as variáveis CCS, temperatura, pH, gordura, proteína, lactose, sólidos totais, contagem total de aeróbios mesófilos, contagem de mesófilos proteolíticos, coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes (SAEG, 1999).

Resultados e Discussão

Os valores médios de 72 amostras de leite analisadas para as variáveis físico-químicas e contagem de células somáticas (CCS) encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de pH, temperatura (T°C) no momento da coleta, componentes e contagem de células somáticas (CCS) provenientes de leites armazenados em tanques de expansão, no município de Marechal Cândido Rondon- PR, 2009.

AMOSTRA	pH	T °C	GORDURA %	PROTEINA %	LACTOSE %	SÓLIDOS %	CCS x 1000/ mL
P1	6,69	4,3	2,46	3,24	4,37	10,07	797
P2	6,80	2,9	4,58	3,15	4,17	11,90	786
P3	6,79	3,3	4,16	3,27	4,17	11,60	1452
P4	6,78	3,6	2,93	3,00	4,43	10,36	800
P5	6,70	3,3	3,69	3,26	4,25	11,20	996
P6	6,78	3,3	3,71	3,03	4,29	11,03	1788
P7	6,76	4,2	3,66	3,32	4,24	11,22	1764
P8	6,63	2,9	3,92	3,52	4,40	11,84	352
P9	6,72	4,6	3,79	3,43	4,18	11,40	2196
P10	6,79	4,0	3,49	3,18	4,41	11,08	1769
P11	6,74	5,3	3,38	3,21	4,42	11,01	791
P12	6,72	5,3	3,72	3,06	4,26	11,04	950

P1 a P12: propriedades amostradas. Valores médios provenientes de 6 repetições. Valores em negrito: acima dos padrões da legislação (IN 51)

Os valores de pH encontravam-se dentro dos padrões de pH de leite cru, que varia de 6,6 a 6,9 (TRONCO, 2003). No momento da coleta, com relação às temperaturas obtidas, 41,66% das propriedades tiveram médias superiores as especificadas na Instrução Normativa 51 que estabelece como padrão temperatura de 4°C em tanques de expansão (BRASIL, 2002).

Para os resultados de contagem de células somáticas, somente uma amostra estava dentro dos padrões preconizados pela legislação brasileira (BRASIL, 2002), tendo como máximo de $4,0 \times 10^5$ células/mL. Resultados inferiores aos desta pesquisa, foram observados por Paula et al. (2004) avaliando a CCS em leite de tanques, nos Estados de Santa Catarina, Paraná e São Paulo obtiveram os valores de CCS de 486.812 células/mL e Machado et al. (2000) avaliaram amostras de leite de tanques para CCS de rebanhos localizados nos Estados de São Paulo e no sul de Minas Gerais e registraram média de 505.000 células/mL.

A concentração de gordura variou de 2,46 a 4,58 %, e, portanto, 83,33% das amostras estavam com os teores de gordura acima dos níveis mínimos especificados pela legislação, cujo valor mínimo é de 3,00 % (BRASIL, 2002).

Os valores de sólidos totais obtidos oscilaram entre 10,07 e 11,90%; sendo acima dos padrões mínimos estabelecidos pela legislação vigente. Segundo dados da International Dairy Federation (1987), o teor de sólidos no leite apresenta uma alta correlação com o rendimento industrial para a produção de derivados lácteos, como queijo e o leite em pó, devendo assim, ser valorizado pela indústria.

Em relação aos teores de proteína, todas as amostras se encontravam dentro dos limites estabelecidos pela legislação. Entretanto, a legislação não impõe limites para o teor de lactose em leite cru refrigerado (MOURA et al. 2009).

No teste de resistência térmica, observou-se que 20% das amostras se apresentaram estáveis ao tratamento térmico a 75°C. Isto indica que apenas 20% das amostras coletadas manteriam uma faixa de pH que suportaria os atuais processos de tratamento do leite que as indústrias realizam para garantir a qualidade microbiológica, sem alterar suas

características físico-químicas.

Quanto ao teste de lactofermentação, 85 % das amostras apresentaram coágulos dos tipos: digerido, floculoso, caseoso ou sulcado (formação de bolhas), o que indica a predominância de microbiota proteolítica, micro-organismos lácticos e coliformes, conferindo sabor desagradável em leites e manteiga e podendo causar estufamento precoce em queijos.

Pinto et al. (2006) constataram que de um total de 64,7% das amostras dos tanques individuais apresentaram coágulos dos tipos: digerido, floculoso, caseoso ou sulcado. Coágulos homogêneos ou gelatinosos, observados em 32,3% das amostras, indicaram a predominância de bactérias lácticas, que correspondem aos tipos de coágulos desejáveis à indústria de laticínios, por indicar a boa qualidade bacteriológica de amostras de leite cru. De acordo com Bramley e McKinnon, a ausência de coágulo na prova de lactofermentação é indicativa de presença de resíduos de substâncias antimicrobianas ou a presença de um número baixo de células microbianas.

Em amostras de leite cru não-refrigeradas, Froeder (1985) também constatou uma incidência elevada de amostras com coágulo caseoso na prova de lactofermentação, indicando a predominância de microbiota proteolítica. Porém, o referido autor observou a predominância de amostras com coágulos do tipo gelatinoso, o que pode ser relacionado com o fato de que as amostras de leite cru não estavam refrigeradas. Badaró (2007) verificaram que 66,6% das amostras apresentaram coágulo tipo sulcado com formação de bolhas.

Os valores médios obtidos, para as contagens microbiológicas, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2: Médias das contagens de aeróbios mesófilos e mesófilos proteolíticos em UFC/mL; coliformes totais e coliformes termotolerantes em NMP/mL, em amostras de leite coletadas diretamente dos tanques de expansão, Marechal Cândido Rondon, 2009.

Amostras	Aeróbios mesófilos log/ml)	Mesófilos proteolíticos (log/ mL)	Coliformes a 35°C (NMP/mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/mL)
P1	5,93	6,30	2,12	3,38
P2	5,52	6,14	22,5	7,42
P3	5,75	6,87	23,43	4,00
P4	5,35	6,35	3,17	1,12
P5	5,77	6,18	34,83	27,08
P6	5,66	6,37	17,21	8,60
P7	5,26	6,89	47,93	5,15
P8	5,10	6,29	4,02	2,02
P9	6,20	6,39	19,45	3,68
P10	5,56	6,41	21,10	7,94
P11	5,48	6,33	5,42	2,23
P12	4,85	5,96	59,83	5,83

Valores médios provenientes de seis repetições. Valores em negrito: acima dos padrões da legislação (IN 51)

Considerando o limite de $1,0 \times 10^5$ UFC/ mL de aeróbios mesófilos em leite cru refrigerado (IN 51) somente uma amostra estaria dentro dos padrões. As amostras analisadas obtiveram altas contagens de aeróbios mesófilos que variaram entre $8,05 \times 10^5$ a $5,38 \times 10^6$ UFC/ mL. Citadin et al (2009) e Nero (2006) verificaram que 25,8% e 48,57% das amostras, respectivamente, estavam em desacordo com a IN51.

A contaminação elevada constatada nas amostras de leites cru refrigerado pode estar associada com procedimentos de higienização inadequados no sistema de produção, considerando que resíduos de leite presentes nas superfícies dos equipamentos constituem nutrientes para o crescimento de bactérias que contaminam o produto em etapas subsequentes do processamento. Além disso, o contato do leite com animais sujos, ambientes inadequados de produção, falhas na velocidade de resfriamento do leite para temperaturas inferiores a 4,4 °C e leite proveniente de animais com mastite também podem resultar em contagens microbianas elevadas.

O número de coliformes a 35°C acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/mL é indicativo de deficiências de higiene na produção de leite (MURPHY, 1997). Das 72 amostras analisadas, foram verificadas 36% acima destes valores, contudo os valores de coliformes termotolerantes acima de $1,0 \times 10^3$ foram encontrados em 24% das amostras. Fagan et al (2008) verificou a presença de coliformes a 35°C e de coliformes

termotolerantes em todas as amostras coletadas nas granjas estudadas. Segundo os autores supracitados, para a presença de coliformes a 35°C e de coliformes termotolerantes, a IN51 não estabelece limite máximo de contagem para leite cru refrigerado, sendo que estes limites são exigidos apenas para leite pasteurizado.

Os micro-organismos proteolíticos produzem enzimas extracelulares com atividade proteolítica que irão resultar em alterações como sabor, redução da qualidade nutricional e diminuição do tempo de prateleira. Os resultados obtidos mostram contagens elevadas desses micro-organismos, variando de $1,7 \times 10^4$ a $6,4 \times 10^8$ UFC/ mL. Pinto et al (2006) obtiveram contagens médias, em log, de 4,65 e Badaró et al (2007) obtiveram contagens mais elevadas de mesófilos proteolíticos, sendo de $1,30 \times 10^8$ UFC/mL os valores médios.

Correlações positivas e significativas (Tabela 3) foram obtidas entre CCS e aeróbios mesófilos, CCS e mesófilos proteolíticos e entre CCS e coliformes a 35°C, evidenciando que maiores valores de CCS estão relacionados a maiores contagens microbiológicas, pois CCS é especialmente influenciada por infecções intramamárias (MULLER, 2000). A relação entre CCS e a CBT (contagem bacteriana total) de rebanhos leiteiros também foi avaliada por Rysanek e Babak (2005), obtendo índice de correlação alto (0,84) e Silva et al. (2008) obtiveram valor de 0,69.

Tabela 3: Correlação de Pearson entre as variáveis avaliadas

Variável	pH	Temp	Gord	Protn	Lac	Sol	CCS	Meso	Proteo	Colif. 35°C	Colif. Termo
pH	1,00	0,01	0,18	-0,28	-0,37	0,13	0,30	0,10	0,28	0,14	-0,15
Temp	-	1,00	-0,35	-0,07	0,11	-0,48***	0,26	-0,09	-0,13	0,29	-0,27
Gord	-	-	1,00	0,16	-0,65**	0,97*	0,14	-0,11	0,03	0,37	0,18
Protn	-	-	-	1,00	-0,28	0,29	0,48***	0,67*	0,45***	-0,32	-0,14
Lac	-	-	-	-	1,00	-0,57**	-0,63**	-0,37	-0,16	-0,54**	-0,30
Sol	-	-	-	-	-	1,00	0,10	-0,03	0,13	0,18	0,12

CCS	-	-	-	-	-	-	1,00	0,47***	0,57**	0,42***	0,06
Meso	-	-	-	-	-	-	-	1,00	0,21	-0,37	0,19
Proteo	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00	-0,01	-0,24
Colif. 35°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00	0,36
Colif. Termo	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,00

Temp= temperatura; Gord= gordura; Protn =proteína; Lac=lactose; Sol=sólidos totais; Meso = aeróbios mesófilos, Proteo = Mesófilos Proteolíticos; Colif. 35°C= coliformes a 35°C e Colif. Termo= coliformes termotolerantes

* significativo a 1%

** significativo a 5%

*** significativo a 10%

Quanto à correlação existente entre CCS e sua ação sobre os constituintes do leite, observou-se que houve uma correlação significativa entre CCS e proteína; entretanto segundo, Muller (2000) a concentração de proteína total no leite permanece inalterada ou sofre pequenas alterações com o aumento de CCS. A correlação entre CCS e lactose foi positiva e significativa, embora Schaellibaum (2000) tenha obtido valores negativos.

O coeficiente de correlação entre CCS e gordura foi baixo e não significativo, evidenciando a existência de muita controvérsia sobre os efeitos da CCS sobre a concentração de gordura no leite (MOURA et al. 2009 e SILVA et al., 2007), pois o aumento da concentração de alguns componentes do leite pode ser ocasionado pela diminuição da produção de leite devido à infecção da glândula mamária (PEREIRA et al., 1999).

A correlação entre coliformes a 35°C e lactose ($r=0,54$) mostra uma relação entre a utilização da lactose, como fonte de carboidratos, por estes micro-organismos à medida que aumenta o nível de contaminação do leite. Entretanto, apesar de não significativa, a correlação entre coliformes a 35°C e coliformes termotolerantes foi positiva, resultado semelhante aos dados de literatura, pois os coliformes termotolerantes pertencem ao grupo dos coliformes a 35°C (SILVA et al., 1997).

Correlações positivas e significativas foram encontradas entre proteína e aeróbios mesófilos e proteína e mesófilos proteolíticos. Para as variáveis, gordura e sólidos totais, o coeficiente foi positivo ($r=0,97$) o que corrobora com os dados de literatura, pois sólidos totais são todos os componentes do leite exceto a água; entretanto, entre sólidos totais e temperatura foi negativo ($r=-0,48$) provavelmente devido a maior ação microbiana sobre os componentes do leite a medida que a temperatura aumenta. A correlação entre as características lactose e gordura foi negativa e de alta magnitude ($r=-0,65$).

Devido aos altos níveis de células somáticas, como os verificados no presente estudo, ocorrem prejuízos tanto ao produtor de leite, pela redução da produção; quanto à indústria de laticínios acarretando em alterações na composição química e contagens microbiológicas, ocasionando diminuição do rendimento industrial e redução da qualidade do produto final.

Conclusão

Em relação às contagens microbiológicas, a maioria das amostras encontra-se fora dos padrões estabelecidos pela

legislação vigente. Constatou-se influencia da CCS, que neste estudo foram altas, sobre os teores de proteína e lactose do leite e também sobre as contagens microbiológicas.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela concessão da bolsa de estudos.

Referências

- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: APHA, 2001. 676 p.
- ARCURI, E. F. et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.
- BADARÓ, A. C. L. et al. Análise da contaminação microbiológica, mesófilos proteolíticos e lactofermentadores do leite cru comercializado no município de Ipatinga, Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 24., 2007, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora, 2007. n. 357, v. 62.
- BEHMER, M. L. **Tecnologia do leite**. 13. ed. São Paulo: Nobel, 1999.
- 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**, Brasília, n. 172, p. 13-22, 2002. Seção 1.
- BRAMLEY, A. J.; McKINNON, C. H. The microbiology of raw milk. 2. ed. In: ROBINSON, R. K. (Ed.). **The microbiology of milk**. London: Elsevier Science Publishers, 1990. p. 163-208.
- BUENO, V. F. F. et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no estado de Goiás. **Revista Ciência Rural**, v. 32, n. 4, jul./ago. 2005.

- CARVALHO, A. L. et al. **Qualidade do leite do Centro-Oeste**. Goiânia: UFG, 1995.
- CITADIN, A. S. et al. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** v. 10, n. 1, p. 52-59, jan./mar. 2009.
- CHAMPAGNE, C. P. et al. Psychrotrops in dairy products: their effects and their control. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.** v. 34, p. 1-30, 1994.
- COUSINS, C. M.; BRAMLEY, A. J. Microbiologia de la leche cruda. In: ROBINSON, R. K. **Microbiologia lactológica**. Zaragoza: Acirbia, 1987. p. 109-150.
- FAGAN, E. P. et al. Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no Estado do Paraná – Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 3, p. 651-660, jul./set. 2008.
- FROEDER, E. **Qualidade microbiológica e físico química do leite cru da bacia leiteira de Viçosa-MG**. 1985. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1985.
- HICKS, C. L. et al. Psychrotrophic bacteria reduce cheese yield. **J. Food Protec.** v. 45, p. 331-334, 1982.
- INTERNATION DAIRY FEDERATION- IDF. Bovine mastitis: definition and guidelines for diagnosis. **Bulletin of Internation Dairy Federation**, Brussels, v. 211, p. 1-24, 1987.
- MACHADO, P. F. et al. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.
- MOURA, A. C. et al. Avaliação da qualidade do leite cru refrigerado no estado de Alagoas. **Revista Higiene Alimentar**, v. 23, n. 172/173, p. 156-160, 2009.
- MULLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2., 2000. Toledo. **Anais...** Toledo, 2000, p. 206-220.
- MURPHY, S. Raw milk bacteria tests: standard plate count, preliminary incubation counts, lab pasteurized count, and coliform count. What do they mean for your farm? In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, Syracuse. **Proceedings...** Syracuse, 1997. p. 34-42.
- NERO, L. A. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 25, n. 1, p. 191-195, jan./mar. 2005.
- PAULA, M. C. et al. Contagem de células somáticas em amostras de leite. **R. Bras. Zootec.** v. 33, n. 5, p. 1303-1308, 2004.
- PEREIRA, A. R. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.** v. 36, n. 3, 1999.
- PINTO, C. L. O. et al. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas **Ciênc. Tecnol. Aliment.** Campinas, v. 26, n. 3, jul./set. 2006.
- RYSANEK, D.; BABAK, V. Bulk tank milk somatic cell count as an indicator of the hygiene status of primary milk production. **Journal of Dairy Research**, v. 72, p. 400-405, 2005.
- SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 295 p.
- SILVA, J. C. et al. Contagem de células somáticas em amostras de leite cru na região de Catalão-GO. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n. 149, p. 73-80. 2007.
- SILVA, T. F. et al. Estudo da correlação entre crescimento microbiano em placa com a contagem de células somáticas (CCS) e a contagem bacteriana total (CBT), de leite proveniente de vacas com mastite subclínica do norte e noroeste fluminense. **Revista Higiene Alimentar**, v. 22, n. 165, p. 86-92, 2008.
- SCHAELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens 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.
- SKRZYPEK, R. et al. Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk-A case study from Poland. **Journal of Veterinary Medicine Series**, v. 51, p. 127-131.
- TRONCO, V. M. **Manual para inspeção e qualidade do leite**. 2. ed. Santa Maira: UFSA, 2003. 191 p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA-UFV. **Manual de utilização do programa SAEG (Sistemas para Análises Estatísticas e Genéticas)**. Viçosa: Imprensa Universitária, 1999. 59 p.
- WEHR, H. M.; FRANK, J. F. **Standard methods for examination of dairy products**. 17. ed. Washington: American Public Health Association, 2004. 570 p.