

MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO LEITE: PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS

Marcela Pinho Manzi¹
Helio Langoni¹

RESUMO

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de origem. Uma das principais características que define a aceitação do leite é o conjunto de suas características sensoriais, sendo as principais o sabor e aroma. O controle da qualidade do leite no Brasil tem sido fator importante para a consolidação de toda cadeia produtiva, passando, necessariamente, pelas indústrias de laticínios. A produção de leite de boa qualidade garante, certamente, a segurança alimentar dos consumidores. As medidas para a obtenção de leite de qualidade se iniciam na propriedade, na realização de procedimentos corretos, na ordenha, no armazenamento e também no transporte do produto ao laticínio. Posteriormente, na avaliação laboratorial das propriedades físico químicas, investigação de fraudes, e realização de exames microbiológicos. Por fim, medidas de educação sanitária são necessárias para que os produtores se conscientizem dos benefícios econômicos com a obtenção de leite de melhor qualidade. O objetivo desta revisão é ressaltar a importância da utilização de procedimentos diagnósticos, para o controle de mastites e a consequente obtenção de leite de melhor qualidade.

Palavras-chave: leite, bovino, qualidade, métodos de diagnóstico.

MILK QUALITY MONITORING: DIAGNOSTIC PROCEDURES

ABSTRACT

Means for milk, not otherwise specified, the product from complete and uninterrupted milking, in a hygienic, healthy cows, well fed and rested. The milk of other animals must be called according to origin of species. One of the main characteristics that defined the milk is the set of their sensory characteristics, and the main flavor. The control of milk quality in Brazil has been an important factor for the consolidation of the entire production chain, passing necessarily by the dairy industry. The production of milk with good quality guarantees, of course, food safety for consumers. The measures to obtain milk begin on the property, in carrying out correct procedures for milking, storage and transportation of the product also in the dairy. Later, in the laboratory evaluation of physicochemical properties, research fraud, and microbiological examinations. Finally, measures of health education are need for producers to become aware of the economic benefits by obtaining a better quality milk. The objective of this review is to emphasize the importance of using diagnostic procedures methods for the control of mastitis and consequently obtain better milk quality.

Keywords: milk, bovine, quality, diagnosis methods.

¹ Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp/Campus de Botucatu. Correspondência: marcela.pmanzi@gmail.com

EL MONITOREO DE CALIDAD DE LA LECHE : LOS PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO

RESUMEN

Se entiende por leche, no se especifique lo contrario, el producto derivado de la ordeña completa e ininterrumpida, las condiciones de higiene, vacas sanas, bien alimentado y descansado. La leche de otros animales debe ser nombrado de acuerdo a la especie de origen. Una característica clave que define la aceptación de la leche es el conjunto de sus características sensoriales, el sabor y el aroma principal. El control de calidad de la leche en Brasil ha sido un factor importante en la consolidación de toda la cadena de producción, que pasa necesariamente por la industria láctea. La producción de leche de buena calidad garantiza sin duda la seguridad alimentaria de los consumidores. Las medidas para lograr la calidad de la leche comienzan en la propiedad, en la realización de los procedimientos adecuados para el ordeño, almacenamiento y también en el transporte del producto a los productos lácteos. Más tarde, en la evaluación de laboratorio de las propiedades físico-químicas, investigación de fraude, y la realización de pruebas microbiológicas. Por último, las medidas de educación para la salud son necesarios para garantizar que los productores son conscientes de los beneficios económicos mediante la obtención de una mejor calidad de la leche. El objetivo de esta revisión es hacer hincapié en la importancia de utilizar los procedimientos de diagnóstico para el control de la mastitis y en consecuencia obtener una mejor calidad de la leche.

Palabras clave: leche, bovino, calidad, métodos de diagnóstico.

1. INTRODUÇÃO

Entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie de origem (1). Uma das principais características que define a aceitação do leite é o conjunto de suas características sensoriais, com ênfase ao sabor e aroma. Segundo Arcuri et al. (2), o leite de cada espécie tem sabor e aroma próprios, de caráter inconfundível e único, conferidos pelos seus constituintes. Os constituintes que contribuem para o sabor e aroma são principalmente a lactose (sabor adocicado) e os sais inorgânicos (salgado), e também outros, como álcoois, ácidos graxos, lactonas e compostos formados ou ativados durante o tratamento térmico. A sua composição é determinante para o estabelecimento da sua qualidade nutricional.

A biossíntese do leite ocorre na glândula mamaria, sob controle hormonal. Muitos dos constituintes são sintetizados nas células secretoras e alguns são agregados ao leite diretamente a partir do sangue e do epitélio glandular. Os principais constituintes são a água, lactose, gordura, substâncias minerais, ácidos orgânicos, dentre outros (3). O controle da qualidade do leite no Brasil tem sido um fator importante para a consolidação de toda cadeia produtiva, passando, necessariamente, pelas indústrias de laticínios (4). A produção de leite de boa qualidade garante, certamente, segurança alimentar dos consumidores.

A mastite é uma das principais causas da baixa qualidade do leite. É considerada a doença ou afecção mais frequente no gado leiteiro e que acarreta maiores prejuízos econômicos a produção leiteira (5). A baixa qualidade do leite pode acarretar problemas de saúde pública e prejuízos às indústrias de laticínios e derivados (6). As medidas para a obtenção de leite de qualidade se iniciam na propriedade, na realização de procedimentos corretos, na ordenha, no armazenamento e também no transporte do produto ao laticínio.

Posteriormente, na avaliação laboratorial das propriedades físico químicas, pesquisa de fraudes e realização de exames microbiológicos. As medidas de educação sanitária também são importantes para que os produtores se conscientizem dos benefícios econômicos com a obtenção de leite de melhor qualidade. O objetivo desta revisão é ressaltar a importância da utilização de procedimentos diagnósticos para o controle de mastites e a consequente obtenção de leite de melhor qualidade.

2. PROCEDIMENTOS DIAGNÓSTICOS

2.1. Ações a campo:

2.1.1. Exame Clínico: O exame clínico é fundamental para o diagnóstico de mastite clínica, visto que alterações macroscópicas são facilmente identificadas, tais como edema, nódulos, abscessos, hiperemia, fístulas e aumento da temperatura local. Além de alterações do teto, pode-se observar também como indicador da saúde da glândula mamária, o grau de calosidade do esfíncter do teto e a sujidade do úbere (7,8). O esfíncter e o canal do teto são barreiras primárias importantes contra a invasão de patógenos no úbere e lesões no esfíncter do teto são frequentemente colonizadas por *Staphylococcus* spp. e *Streptococcus* spp., fato que reforça a relação entre o estado físico dos quartos mamários e a presença de micro-organismos (9). A classificação da integridade do esfíncter do teto em escores pode servir como importante ferramenta para o controle da mastite bovina. Outro aspecto relevante é a higiene do úbere. Para tanto é importante a avaliação desta característica no momento em que a vaca está sendo ordenhada, pois reflete na qualidade do leite e relaciona-se com a ocorrência de patógenos, principalmente ambientais (10).

A prova de Tamis (canela telada de fundo escuro) é utilizada no diagnóstico da mastite clínica. Detecta presença de alterações macroscópicas no leite, como grumos, pus, que ficam aderidos à tela da caneca, e ainda estrias de sangue. Deve ser realizado logo após a limpeza dos tetos previamente a ordenha, desprezando-se os três primeiros jatos de leite.

O California Mastitis Test (CMT), desenvolvido por Schalm e Noorlander (11) é utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica. A interpretação do CMT se baseia na observação visual do leite após ser misturado ao reagente. A reação se processa entre o reagente e o material genético das células somáticas presentes no leite, formando um gel, cuja concentração é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é expresso em escores: negativo (-), suspeito (+/-), fracamente positivo (+), positivo (++) e fortemente positivo (+++) (12). Utiliza-se uma raquete, a qual é constituída por quatro receptáculos circulares. São desprezados os três primeiros jatos de leite e a seguir ordenha-se ao redor de 2 mL de leite em cada receptáculo, adicionando-se o mesmo volume de reagente. Após homogeneização com movimentos circulares vigorosos, por 30 segundos, realiza-se a leitura.

2.2. Diagnóstico em Laboratório:

2.2.1. Análises microbiológicas:

2.2.1.1. Contagem padrão de micro-organismos mesófilos estritos e facultativos viáveis (contagem global): É um indicador da qualidade microbiológica do leite, uma vez que a presença de micro-organismos mesófilos em grande quantidade em alimentos pode significar deficiências higiênicas na obtenção da matéria-prima, aplicação de processo tecnológico inadequado, manipulação higiênica incorreta do produto ou até mesmo manutenção em condições impróprias.

2.2.1.2. Contagem de bolores e leveduras: Algumas espécies de bolores e leveduras são importantes na fabricação de alimentos e têm como função conferir sabor, aroma e aspecto visual aos produtos. Outras espécies podem provocar degradação, além de produzirem micotoxinas prejudiciais à saúde do consumidor.

2.2.1.3. Contagem Bacteriana Total (CBT): A contagem bacteriana total é a mensuração do número de colônias usando meio de cultura e temperatura específicos. Os resultados são aferidos pelo número total de bactéria/mL de leite (13). A contagem bacteriana total encontrada no tanque de resfriamento é considerado indicador valioso da qualidade do leite. As técnicas de cultura microbiológica empregadas fornecem as contagens bacterianas total, termofílica (realizada após a pasteurização), bem como a de coliformes e *Staphylococcus aureus*, além do exame bacteriano qualitativo padrão que determina os tipos de bactérias presentes (14,15).

2.2.1.4 Contagem de *Staphylococcus aureus*: São cocos Gram-positivos, coagulase positiva que formam grupos com aspecto de “cachos de uvas”. Em cultivo microbiológico são vistas como colônias amareladas devido à produção de pigmentos carotenoides (16,17). *S. aureus* apresenta ampla temperatura de multiplicação entre 7°C a 48,5°C (com temperatura ótima de 35 a 37°C), e são tolerantes a concentrações de 10% a 20% de cloreto de sódio e nitratos (18). Podem produzir enterotoxinas nos alimentos, o que determinam quadros de toxi- infecção aos consumidores. *Staphylococcus aureus* está presente em lesões na pele, conjuntivas e mucosas dos humanos e animais. A presença deste micro-organismo nos alimentos pode refletir em condições inadequadas de manipulação, bem como baixo nível de higiene pessoal dos manipuladores.

2.2.1.5. Pesquisa de *Salmonella* spp.: Levantamentos epidemiológicos realizados em vários países situam as salmonelas entre os agentes patogênicos mais frequentemente encontrados em surtos de toxi-infecção de origem alimentar, tanto em países desenvolvidos, como emergentes (em desenvolvimento). O leite e derivados são, ainda, um dos mais importantes veículos de transmissão de *Salmonella* spp. (19). Bactérias do gênero *Salmonella* pertencem à família Enterobacteriaceae. São Gram - negativas, em forma de bacilo e, na sua maioria, móveis por flagelos, não esporuladas, não capsuladas, não fermentadoras de lactose. São bactérias patogênicas, com pH ótimo de desenvolvimento entre 4 e 9, e temperaturas ideais de multiplicação entre 35 e 37°C. Não resistem à pasteurização.

2.2.1.6. Pesquisa de *Listeria monocytogenes*: *Listeria* spp. é um cocobacilo Gram-positivo, não esporulado, não produtor de ácidos, aeróbio e anaeróbio facultativo, de ampla distribuição ambiental. São bactérias ubíquas, tendo sido isoladas de águas superficiais, de esgotos domésticos, águas residuárias de indústrias de laticínios e de abatedouros, de solos, de insetos, de adubo orgânico e em fezes de animais e de humanos (20). Pode também ser isoladas em diversos produtos alimentícios, sejam crus ou após tratamentos térmicos ou químicos (21). *L. monocytogenes* é patogênica para os humanos e animais. As 12 características de resistência, frente às diferentes situações, a torna patógeno emergente e de grande interesse na área de alimentos (22).

2.2.1.7. Contagem de coliformes totais e coliformes termo tolerantes: O grupo dos coliformes totais é composto por bactérias da família Enterobacteriaceae, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, quando incubados a 35-37°C, por 48 horas. Fazem parte desse grupo principalmente bactérias pertencentes aos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Destes, apenas *Escherichia coli* tem como hábitat

primário o trato intestinal dos humanos e animais homeotérmicos. Os demais, além de encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes como na vegetação e no solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal, como *Salmonella* spp. e *Shigella* spp.. A presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente (23).

2.2.2. Contagem de Células Somáticas (CCS): A contagem de células somáticas é indicativo do número de células leucocitárias do sangue e células epiteliais presentes no leite. É usada como parâmetro de infecção do úbere (24). Os leucócitos do sangue aumentam devido à resposta inflamatória do tecido mamário. Já as células epiteliais, se desprendem fisiologicamente do tecido mamário. A maior parte das células somáticas presentes na CCS corresponde aos leucócitos, particularmente neutrófilos (12). De acordo com a Instrução Normativa 51, a partir de 01/07/2011 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste brasileiras a CCS tanto para tanques individuais, quanto para os de mistura, deveria ser de, no máximo, 400.000 13 CCS/mL¹. Entretanto, este prazo foi dilatado por seis meses de acordo com a IN 62 do MAPA-30/06/2011, até 01/02/2012. São muitos os fatores que podem afetar a contagem de células somáticas. As principais são: ocorrência de mastite, tipo de micro-organismo envolvido, idade do animal, estágio de lactação, variações diurnas e sazonais, estresse e frequência de ordenha.

2.2.3. Análises Físico-Químicas

2.2.3.1. Alizarol: O princípio baseia-se na ocorrência de coagulação por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino, quando se promove desestabilização das micelas pelo álcool e na mudança de colocação da mistura. O alizarol, pela presença da alizarina, atua como indicador de pH, auxiliando a diferenciação entre o desequilíbrio salino e a acidez excessiva (28). A prova do álcool-alizarol não afere exatamente a acidez do leite, mas, verifica a tendência do leite em coagular. O leite que coagula nessa prova não resiste ao calor. Portanto, não pode ser misturado aos demais (25).

2.2.3.2. Acidez titulável: O princípio consiste na titulação de determinado volume de leite por uma solução alcalina de concentração conhecida, utilizando como indicador a fenolftaleína (28). Considera-se como acidez, quando a acidificação ultrapassa a 1,8 gramas por litro de leite, que corresponde a 18° D (18 graus Dornic). A acidificação é devida ao desdobramento da lactose pelas bactérias que se encontram em intensa multiplicação no leite. O leite ácido é impróprio para o consumo e industrialização. Após a ordenha, a acidez aumenta por influência da temperatura e, principalmente, pela falta de higiene e contato com os equipamentos utilizados durante a ordenha.

2.2.3.3. Pesquisa de Peróxido de Hidrogênio: É possível a ocorrência de fraudes no leite, como adição de hidróxido de sódio e peróxido de hidrogênio. Muitos consumidores passaram a comprar leite cru no Distrito Federal por receio da qualidade dos produtos lácteos industrializados. A água oxigenada não pode ser considerada aditivo incidental, pois é adicionada ilegalmente ao leite com a finalidade de inibir a multiplicação bacteriana. O seu controle é necessário, pois pode alterar as propriedades organolépticas do produto (26).

2.2.3.4. Índice crioscópico: O princípio baseia-se no super congelamento de amostra de leite a temperatura apropriada e aplicação de agitação mecânica, que determina rápido aumento da temperatura correspondente ao ponto de congelamento (27). Este valor é dependente de fatores relacionados ao animal, ao leite, ao ambiente, ao processamento e as técnicas

crioscópicas, gerando dificuldades para o estabelecimento de padrões crioscópicos. A adulteração ou falsificação mais comum do leite é a aguagem ou adição de água. A aguagem acelera o congelamento do leite. Pela Instrução Normativa 51, o limite do índice crioscópico é a $-0,530^{\circ}\text{H}$ (equivalente a $-0,512^{\circ}\text{C}$)¹.

2.2.3.5. Neutralizantes de acidez: A acidez titulável muitas vezes pode ser mascarada pelo emprego de neutralizantes. A alcalinidade das cinzas é o método oficial do MAPA para detectar presença de neutralizantes de acidez, pela IN n°68 de 12 de novembro de 2006. Pode indicar a adição ilegal de substâncias alcalinas, como bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio ao leite ácido, visando reduzir a acidez titulável até níveis permitidos pela legislação. O teste de alcalinidade das cinzas só é válido para leite pasteurizado e cru, devido à permissão da adição de citrato de sódio do leite UHT. Esta substância aumenta a concentração de substâncias alcalinas nas cinzas do leite (28).

2.2.3.6. Pesquisa de impurezas como Pus e Sangue: A pesquisa de sangue ou pus no leite objetiva a identificação de amostras provenientes de animais com infecções, especialmente nas glândulas mamárias. A presença de sangue no leite geralmente é um indicador de ruptura de vasos sanguíneos da glândula mamária por trauma ou de hemorragia capilar do úbere congesto em período pós-parto imediato. Caso persista por mais de três dias, o leite é inadequado para o consumo humano (29). A presença de leite corado por sangue nos quatro tetos, em momentos não relacionados ao puerpério imediato, pode sugerir leptospirose e, possivelmente, outras doenças nas quais ocorram hemólise intravascular ou lesões capilares (14).

2.2.3.7. Densidade a 15°C: Para o leite, a densidade é considerada como propriedade aditiva, dependendo diretamente da matéria dissolvida e suspensa no volume pesquisado. Segundo o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (30), o leite normal apresenta densidade variando entre 1,028 a 1,033 g/mL, medida a 15°C. Porém, segundo os Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite (Instrução Normativa n° 51) para leites tipo A, B, e C e leite cru refrigerado, os valores normais de densidade variam entre 1,028 a 1,034 g/mL¹.

2.2.3.8. Gordura: O princípio do método utilizado para determinação da gordura baseia-se no ataque seletivo da matéria orgânica por meio de ácido sulfúrico, com exceção da gordura que será separada por centrifugação, auxiliada pelo álcool amílico, que modifica a tensão superficial (31). O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado cita que o limite de teor original da matéria gorda g/100 g é de no mínimo 3,0 g¹.

2.2.3.9. PH: O pH do leite recém ordenhado de uma vaca sadia pode variar entre 6,4 a 6,8, e também é utilizado como indicador da qualidade sanitária e da estabilidade térmica do leite. Nos casos graves de mastite, o pH pode se elevar a 7,5 e na presença de colostro, pode reduzir a 6,0 (32). Em casos de mastite, ocorre aumento do pH, pois no processo inflamatório ocorre a vasodilatação, misturando o leite ao sangue (pH levemente alcalino) tornando o pH do leite mais próximo do pH do sangue (33). Em casos de proliferação bacteriana, o leite assume pH levemente ácido, devido a liberação de ácido láctico produzido pelos micro-organismos fermentadores.

2.2.3.10. Fosfatase alcalina e Peroxidase: Em casos de leite pasteurizado ou UHT, realiza-se também a pesquisa das enzimas peroxidase e fosfatase alcalina (27), para verificar se o tempo e temperatura utilizados na pasteurização foram eficientes. A fosfatase alcalina é sensível à

pasteurização, e sua presença no produto final indica que o processo de pasteurização não foi eficiente. A peroxidase não é inativada pela pasteurização, mas é destruída em temperaturas superiores a 80° C. Portanto, é utilizada para verificar se ocorreu o superaquecimento durante o tratamento térmico (34).

2.2.4. Resíduos de antimicrobianos ou inibidores da multiplicação de micro-organismos:

Resultam do uso terapêutico e profilático desses fármacos. Desta forma são fatores preocupantes no contexto de saúde pública, em decorrência dos graves problemas que podem provocar (35). A presença de resíduos de antimicrobianos no leite pode causar graves efeitos na saúde do consumidor, entre os quais: hipersensibilidade, choque anafilático, teratogenia, resistência microbiana e desequilíbrio da microbiota intestinal. Acarreta, ainda, prejuízos financeiros para a indústria de laticínios, por interferirem na produção de derivados (36).

2.3. Educação Sanitária: A melhoria da qualidade do leite é resultado de um conjunto de fatores, desde a educação até o treinamento dos produtores e técnicos (37). Um projeto de educação continuada junto aos produtores é parte essencial em programa para a melhoria na qualidade do leite. Palestras e dias de campo para produtores, e todas as pessoas envolvidas com a ordenha, projetos de assistência técnica, fornecimento de manuais técnicos informativos e a disponibilização dos resultados de análise de qualidade, são ações recomendadas em programas de melhoria da qualidade do leite. Funcionários capacitados com relação ao manejo zoo-sanitário de vacas leiteiras e bem remuneradas desenvolvem melhor suas atividades, obtendo-se leite de melhor qualidade.

CONCLUSÃO

Os procedimentos diagnósticos são de extrema importância, e são aplicados em toda a cadeia produtiva leiteira, desde as ações na propriedade com os cuidados no manejo zoo-sanitário, até os exames laboratoriais realizados com amostras de leite das vacas da propriedade ou nos tanques de expansão, visando a melhoria da qualidade do produto para os consumidores e para a indústria láctea.

REFERÊNCIAS

1. Instrução Normativa 51, de 18 de Setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo cru refrigerado e o regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel, em conformidade com os anexos a esta instrução normativa. Diário Oficial da União. 18 Set 2002; Sec. I, p.13.
2. Acuri EF, Brito JRF, Brito MAVP. Sabor e aroma: como preservar. Balde Branco [Internet]. 2005 [cited 2011 Sept 26];40(489A):62-4. Available from: http://www.laticinio.net/inf_tecnicas.asp?cod=66.
3. Sa E. Análises para detectar fraudes em leite. Leite Derivados. 2004;78.
4. Silva RCB, Barbosa SBP, Andrade AC, Silva AM, Silva CX, Mauricio EA, et al. Análises físico-químicas para determinação da qualidade em leite cru. In: Anais da 10a Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX; 2010; Recife. Recife: UFRPE; 2010.

5. Ribeiro MER, Petrini LA, Aita MF, Balbinotti M, Stumpf Jr W, Gomes JF, et al. Relação entre mastite clínica, subclínica infecciosa e não infecciosa em unidades de produção leiteiras na região sul do rio grande do sul. Rev Bras Agrocienc. 2003;9(3):287-90.
6. Fagundes H, Oliveira CAF. Infecções intra-mamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. Cienc Rural. 2004;3(4):1315-20.
7. Schreiner DA, Ruegg PL. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. J Dairy Sci. 2003;86(11):3460-5.
8. Manzi MP, Nobrega DB, Faccioli PY, Troncarelli MZ, Menozzi BD, Langoni H. Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. Res Vet Sci. 2011;93(1):430-4.
9. Neijenhuis F, Barkema HW, Hogeveen H, Noordhuizen JPTM. Classification and longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. J Dairy Sci. 2000;83(12):2795-804.
10. Schreiner DA, Ruegg PL. Effects of tail docking on milk quality and cow cleanliness. J Dairy Sci. 2002;85(10):2503-11.
11. Schalm OW, Noorlander D. Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. J Am Vet Med Assoc. 1957;130(5):199-204.
12. Xia SZ. The rheology of gel formed during the California Mastitis Test [dissertation]. Hamilton: The University of Waikato; 2006.
13. Blowey R, Edmondson P. Mastitis control in dairy herds. 2nd ed. Winslow: Butler Tanner e Dennis; 2010.
14. Blowey R, Edmondson P, Davis J. Bacterial counts in bulk milk - an update. In Practice 1999; 21:531-535.
15. Radostits M, Gay C, Blood C, Hinchcliff W. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.
16. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, Kobayashi GS. Microbiologia médica. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.
17. Moura RA, Purchio A, Wada CS, Almeida TV. Técnicas de laboratório. 3a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2006.
18. Frazier WC, Westhoff DC. Microbiologia de los alimentos. 4a ed. Zaragoza: Acribia; 2000.
19. Ávila CR, Gallo CR. Pesquisa de *Salmonella* spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo "minas frescal" comercializados no município de Piracicaba – SP. Sci Agric. 1996;53(1).

20. Nojimoto ITI, Souza SR, Valadão LM. Ocorrência de *Listeria* spp em crianças da cidade de Goiânia-Goiás. *Rev Bras Anal Clin*. 1997;29(2):73-4.
21. Franco BDGH, Landgraf M. *Microbiologia de alimentos*. São Paulo: Atheneu; 1996.
22. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Color atlas and textbook microbiology*. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Company; 1997.
23. Franco BDGM. *Microbiologia dos alimentos*. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2003.
24. Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison-Tikofsky L, Gonzalez RN. Monitoring udder health and milking quality using somatic cell counts. *Vet Res*. 2003;34(5):579-96.
25. Vieira LC, Kaneyoshi CM, Freitas H. Qualidade do leite. In: Veiga, J.B. da., *Criação de gado leiteiro na zona Bragantina*. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2005.
26. Martins JLS, Martins IS. Inibidores bacterianos no leite tipo “B” comercializado no município de São Paulo,SP (Brasil). *Rev Saude Publica*. 1985;19(5):421-30.
27. Ministério da Agricultura (BR). Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Laboratório Nacional de Referência Animal. *Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos físicos e químicos*. Brasília: Ministério da Agricultura; 1981. v.2, p.1-5.
28. Milagres MP. Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação da concentração real de ácido láctico em leite por cromatografia líquida de alta eficiência: exclusão de íons [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2008.
29. Castanheira ACG. *Manual básico de controle de qualidade de leite e derivados*. São Paulo: Cap Lab; 2010.
30. Decreto 30.691, de 7 de Julho de 1952. Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal (RIISPOA). Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. 7 Jul 1952; Sec 1, p.10785.
31. BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: II-Métodos físico-químicos**. Brasília: Ministério da Agricultura, 1981. 174 p.
32. Venturini KS, Sarcinelli MF, Silva LC. Características do leite. *Bol Tec PIE-UFES*. 2007;01007.
33. Rodrigues R, Fonseca LM, Souza MR. Acidez do leite. *Cad Tec Esc Vet UFMG*. 1995;13:63-72.
34. Prata LF. *Fundamentos de ciência do leite*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP; 2001.

35. Feltrin CW, Mello AMS, Santos JGR, Marques MV, Seibel NM, Fontoura LAM. Sulfadimethoxyne quantification in milk by high performance liquid chromatography. *Quim Nova* [Internet]. 2007 [cited 2008 Feb 5];30(1):80-2. Available from: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=S01004042200700010008&Ing=en&nrm=iso>.
36. Nascimento GGF, Maestro V, Campos MSP. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. *Rev Nutr*. 2001;14(2):119-24.
37. Cavalcanti ERC. Fatores que interferem na qualidade do leite [Internet]. Urutaí: CEFET; 2006 [cited 2011 Sept 30]. Available from: http://www.ifgoiano.edu.br/urutai/documentos/publicacoes/artigo_leite.pdf.

Recebido em: 13/10/2015

Aceito em: 15/01/2017