

COMPARATIVO ENTRE DESINFETANTES UTILIZADOS NO PRE-DIPPING DE VACAS LEITEIRAS

(Comparative between disinfectants used in pre-dipping for dairy cows)

Bruna Sesco de MENDONÇA¹; Ranulfo Combuca da SILVA JUNIOR²;
Emerson Henri YOSHIMURA³; Isabel da Silva KNUPP¹; Ferenc
Istvan BANKUTI¹; Magali Soares dos Santos POZZA^{3*}

¹Dpto de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Av. Colombo, 5475. Jd Universitário, Maringá, PR. CEP: 87.020-900; ²Dpto de Química (UEM); ³Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (UEM). *E-mail: pozzamagali@yahoo.com.br

RESUMO

A qualidade nutricional do leite pode ser alterada em qualquer fase de produção, desde a alimentação do animal até o processamento. Para a manutenção da sua qualidade microbiológica há vários métodos eficazes, dentre eles o *pré-dipping*, que consiste na higienização dos tetos das vacas antes da ordenha, minimizando a contaminação por microrganismos presentes no ambiente e no animal. Diante disso, objetivou-se avaliar três produtos comerciais com princípios ativos diferentes utilizados para o *pré-dipping* e sua ação desinfetante sobre a carga microbiológica dos tetos, além da composição e qualidade do leite. No presente trabalho foram utilizados nove animais da raça holandesa, com produção média diária de 25 litros. Os produtos avaliados para o *pré-dipping* foram à base de ácido láctico (AL), clorexidina (CL) e hipoclorito de sódio (HS). O experimento foi conduzido em blocos casualizados, sendo três formulações testadas em quatro tempos (dias), obtendo variáveis tais como: avaliação microbiológica da pele dos tetos e do leite, composição físico-química e contagem de células somáticas no leite (CCS). Não ocorreram diferenças significativas para os tratamentos avaliados para contagem total de bactérias aeróbias mesófilas na pele dos tetos dos animais. Para contagem de bactérias aeróbias mesófilas no leite, houve diferença significativa aos 14 dias de aplicação do produto. Maiores contagens foram observadas no leite de vacas tratadas com hipoclorito de sódio (4,5 log₁₀) no *pré-dipping*. Não foram observadas diferenças estatísticas para contagem de bactérias psicrófilas no leite nem para a composição físico-química do leite e CCS, entretanto a solução de HS propiciou maior contagem bacteriana no leite.

Palavras-chave: Agentes sanitizantes, microbiologia, qualidade do leite.

ABSTRACT

The nutritional quality of milk can be changed at any stage of production, from feeding to processing. To maintain its microbiological quality, there are several effective methods, including pre-dipping, which consists of cleaning the cows' teats before milking, minimizing contamination by microorganisms present in the environment and in the animal. Therefore, the objective was to evaluate three commercial products with different active ingredients used for pre-dipping and their disinfectant action on the microbiological load of the teats, in addition to the composition and quality of the milk. In this work nine animals of the Dutch breed were used, with an average daily production of 25 liters. The products evaluated for pre-dipping were based on lactic acid (AL), chlorhexidine (CL) and sodium hypochlorite

(HS). The experiment was conducted in randomized blocks, with three formulations tested in four times (days), obtaining variables such as: microbiological evaluation of the skin of the teats and the milk produced, physical-chemical composition and somatic cell count in the milk (SCC). There were no significant differences for the treatments evaluated for total count of aerobic mesophilic bacteria on the animals' skin teats. For counting of aerobic mesophilic bacteria in milk, there was a significant difference at 14 days of application of the product. Higher counts were observed in the milk of cows treated with sodium hypochlorite (4.5 log₁₀) in the pre-dipping. No statistical differences were observed for psychrophilic bacteria count in the milk or for the physical-chemical composition of the milk and SCC, however the HS solution provided a higher bacterial count in the milk.

Key words: Microbiology. milk quality, sanitizing agents.

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento muito consumido em todo mundo. Os consumidores atualmente são mais exigentes, buscam por alimentos mais saudáveis e com alto padrão de qualidade. Deste modo, há uma grande pressão sobre indústrias e produtores para produzirem leite de forma adequada obtendo um alimento de melhor qualidade. Para isso, as boas práticas de ordenha tornam-se fundamentais durante o processo de produção (LOPES *et al.*, 2013).

Um dos grandes problemas que acarretam em prejuízos para a produção leiteira é a ocorrência de quadros de mastite (inflamação da glândula mamária) (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2019), que pode se manifestar de duas formas: a mastite contagiosa, que é aquela transmitida de animal para animal e os patógenos estão alocados na região intramamária, podendo contaminar os animais na linha de ordenha pela falta de higienização do ordenhador e dos equipamentos. A segunda forma de ocorrência é a mastite ambiental, que é acarretada por microrganismos oportunistas amplamente distribuídos no ar, no solo, na água, nas fezes e nos ambientes de ordenha (PEDRINI e MARGATHO, 2003).

A higienização é um ponto crucial na bovinocultura leiteira, pois afeta diretamente a qualidade do leite produzido e na incidência de manifestações de mastite. Há muitos fatores envolvidos no processo de produção leiteira, tais como: alimentação do rebanho, manejo e higiene. Fatores como a higienização das mãos do ordenhador, dos tetos, das teteiras e dos tanques de resfriamento são relacionados com a presença ou não de contaminantes no leite. O propósito da higienização dos tetos e a realização do preparo do úbere previamente ao momento da ordenha é a diminuição da carga microbiana presente na pele dos tetos para resultar em um produto sem agentes contaminantes (MOURÃO *et al.*, 2018). A eficiência na realização desta higienização também afeta a qualidade do leite e o valor pago como bonificação ao produtor. Então, o manejo do *pré-dipping* (banho de imersão dos tetos antes da ordenha) e o princípio ativo do produto utilizado para higienização devem ser eficientes neste processo (BOZO *et al.*, 2013).

São utilizados inúmeros produtos para a prática do *pré-dipping*, variando entre eles, preço e a sua composição (SOUZA, 2013). Os produtores adquirem os produtos para *pré-dipping* de acordo com o custo ou hábito de uso. Como não existe produto ideal, é importante analisar alguns fatores para a escolha de um desinfetante eficiente, sendo que este não deve ser tóxico ao animal nem ao homem, ter boa ação desinfetante e custo acessível. Com isso,

a escolha de um produto de melhor qualidade e que seja eficaz na higienização dos tetos é fundamental (PEDRINI e MARGATHO, 2003). Os produtos mais utilizados durante o processo do *pré-dipping* para higienização dos tetos das vacas são aqueles à base de iodo, a clorexidina e o hipoclorito de sódio (OLIVEIRA *et al.*, 2013).

Os princípios ativos como a clorexidina possui efeito cumulativo e contínuo, pois permanece na pele dos tetos dos animais por cerca de seis horas, além de ser um dos mais eficientes, atua na presença de matéria orgânica (SILVA-JUNIOR *et al.*, 2019). O hipoclorito de sódio é bastante adotado nas propriedades leiteiras, pois é de baixo custo, entretanto, possui alta afinidade por material orgânico, o que reduz sua eficiência (MEDEIROS *et al.*, 2009). Em estudos conduzidos por Medeiros *et al.*, (2009) o ácido láctico mostrou alta atividade desinfetante para *Staphylococcus coagulase* positiva.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar a carga microbiana no leite e na pele dos tetos dos animais além da composição e qualidade do leite de vacas tratadas no *pré-dipping* com diferentes formulações desinfetantes (ácido láctico, clorexidina e hipoclorito de sódio).

MATERIAL E MÉTODOS

No experimento foram utilizadas nove vacas leiteiras da raça holandesa, do rebanho da Fazenda Experimental de Iguatemi (F.E.I. Maringá, Brasil.) pertencente à Universidade Estadual de Maringá. Estas vacas foram mantidas em sistema a pasto, suplementadas com silagem de milho e ordenhadas mecanicamente duas vezes ao dia, com produção média de 25 litros/dia.

Os animais selecionados não receberam medicamentos com antibióticos nos sete dias que antecederam a realização do experimento, de forma que o medicamento não influenciasse nas respostas obtidas antes do início do experimento. Os animais não apresentavam quadros de mastite subclínica e/ou clínica (evidenciadas pelo ensaio CMT - California Mastitis Test e pelo teste da caneca de fundo preto). Todos os animais passaram pelo período de uma semana de adaptação aos produtos anteriormente às análises.

Os produtos utilizados como *pré-dipping* foram comprados no comércio local (Maringá, PR) e utilizados como adquiridos, com exceção do Hipoclorito de Sódio, onde dissolvia-se um comprimido de 5g a cada litro de água destilada, seguindo as orientações do fabricante. O ácido láctico - AL (3,0% m/V) foi adquirido da Predi Masty – Launer Química (Estrela, RS), a clorexidina - CL (2,5% m/V) obtido da marca Baspan Pré Espuma (Nova Alvorada, RS) e o hipoclorito de sódio- HS (2,5% m/V) da marca Agrisept MC (São Paulo, SP). Para aplicação foram utilizadas teteiras (de plástico) convencionais e sem retorno. Os produtos foram mantidos em ambiente refrigerado (4 °C) e protegidos da luz até o momento de aplicação. Todas as soluções eram renovadas diariamente.

Os animais foram distribuídos em três tratamentos sendo três animais por tratamento: T1 = tratamento com ácido láctico (AL), T2 = tratamento com a utilização de clorexidina (CL), aplicada como controle positivo e T3 = tratamento utilizando-se hipoclorito de sódio (HS).

Em um período de 28 dias, os produtos foram aplicados no procedimento de *pré-dipping* (imersão dos tetos antes da ordenha), onde os tetos eram previamente lavados com água morna e secos com papel toalha. Após a lavagem, eram aplicados aproximadamente 10 mL das soluções, por 30 segundos, de cada tratamento por teto (com teteira de plástico sem retorno), para que em seguida iniciasse o processo de ordenha mecânica.

Os períodos de coleta das amostras de suabes dos tetos e do leite para as análises microbiológicas e de composição do leite foram aos 7, 14, 21 e 28 dias.

Para avaliação microbiológica, os tetos foram lavados com água e secos com papel toalha. Após este procedimento realizou-se aplicação dos produtos para *pré-dipping*. Para as análises de bactérias aeróbias mesófilas foram realizadas utilizando suabes (3M™ Quick Swabs) que foram passados na pele dos tetos após desinfecção e posterior semeadura em Agar PCA (Plate Count Agar – DIFCO®). Foram coletados suabes dos 36 tetos dos animais, entretanto cada amostra compreendeu o *pool* composto pelos quatro tetos. As amostras foram acondicionadas em uma caixa térmica mantida a 4 °C e logo após a coleta foram levadas até o laboratório do Centro Mesorregional de Excelência e Tecnologia do Leite (CMETL) onde foram realizadas as análises microbiológicas e de qualidade do leite.

Para o leite obtido individualmente, foi determinado a contagem total de bactérias psicrófilas e de bactérias aeróbias mesófilas utilizando-se ágar PCA (Plate Count Agar - DIFCO®) com incubação a 21 °C por 72 horas e a 35 °C por 48 horas, respectivamente (SILVA *et al.*, 2001). As amostras de leite foram acondicionadas em recipientes de vidros de 200 mL previamente esterilizados, coletadas do galão individual de ordenha após serem homogeneizadas.

As análises da incidência de mastite subclínica foram realizadas baseadas na Contagem de Células Somáticas (EKO Milk Scan, CapLab, São Paulo, Brasil). As amostras de cada animal foram homogeneizadas e analisadas em equipamento automatizado (EKO Milk, CapLab, São Paulo, Brasil) para avaliação de sua composição físico-química (gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado).

Os dados foram submetidos à análise de variância (SAS, 2001) considerando nível de significância de 5% as médias foram comparadas pelo teste de Tukey.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para contagem de bactérias aeróbias mesófilas na pele dos tetos dos animais não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos durante o período de aplicação (Tab. 01). É reportado na literatura contagens médias entre 2,5 e 4,1 (\log_{10}/mL) de aeróbios mesófilos quando aplica-se *pré-dipping* com soluções de HS (AMARAL *et al.*, 2004), valores estes semelhantes quando comparados com os resultados obtidos no presente estudo.

As maiores contagens bacterianas de aeróbios mesófilos no leite cru após a aplicação dos produtos para *pré-dipping* (em \log_{10}) foram obtidas para o tratamento contendo hipoclorito de sódio (HS) aos 14 dias de uso (Tab. 02). Tal fato pode ter sido ocasionado pela instabilidade de soluções de hipoclorito, embora a mesma tenha sido preparada diariamente, ou ainda, devido à concentração de sódio e de cloro ativo durante a utilização do produto, embora a concentração utilizada foi superior à mínima recomendada.

No presente experimento utilizou-se a concentração de 2,5% m/V de HS, entretanto, de acordo com Amaral (2004), uma solução de HS com concentração mínima para ação bactericida seria de 150 ppm (0,015% m/V), pois além da ação desinfetante esta concentração não agride os tetos dos animais nem a pele das mãos dos ordenhadores.

Tabela 01: Contagem bacteriana de aeróbios mesófilos (\log_{10}/mL) nos tetos (suabe) de vacas tratadas no *pré-dipping* com diferentes soluções desinfetantes.

Contagem bacteriana	Tratamentos			EPM	Valor de P
	AL	CL	HS		
Contagem de Aeróbios Mesófilos (suabe)	3,45	3,47	3,81	0,094	0,145

Tratamentos: AL (ácido láctico), CL (clorexidina) e HS (hipoclorito de sódio). EPM: Erro padrão médio.

Tabela 02: Contagem bacteriana de aeróbios mesófilos (\log_{10}/mL) no leite cru de vacas tratadas no *pré-dipping* com diferentes soluções desinfetantes.

Tempos (dias)	Tratamentos			EPM	Valor de P
	AL	CL	HS		
7	3,64	3,59	3,83	0,112	0,723
14	2,80b	3,13b	4,55a	0,275	0,0001
21	2,52	2,62	2,62	0,121	0,946
28	2,51	2,62	2,78	0,103	0,622
Média	2,86	2,99	3,44	0,1166	0,001

Tratamentos: AL (ácido láctico), CL (clorexidina) e HS (hipoclorito de sódio). EPM: Erro padrão médio. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O efeito positivo da higienização dos tetos com os produtos utilizados neste estudo para aplicações *pré-dipping*, refletem na qualidade do leite, visto que a contagem bacteriana média de bactérias aeróbias mesófilas referente ao período do experimento permaneceu abaixo do valor preconizado pela Instrução Normativa n° 77 (MAPA, 2018) que é de 5,48 \log_{10} (300.000 cels/mL CBT).

Para contagem de bactérias psicrófilas no leite não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos o período de aplicação (Tab.03). A alta contagem de microrganismos psicrófilos influencia na qualidade do leite, pois possuem ação proteolítica que é gerada por enzimas. A atividade enzimática interfere na vida de prateleira do leite, além diminuir o rendimento na fabricação de produtos lácteos, o que acarreta prejuízos para indústria (PINTO *et al.*, 2006). As principais fontes de contaminação dos produtos lácteos por bactérias psicrófilas pode originar-se do suprimento de água de qualidade inadequada, deficiências de procedimentos de higiene da ordenha e devido a quadros de mastite (MARIOTO *et al.*, 2020).

Tabela 03: Contagem bacteriana de psicrófilos (\log_{10}/mL) no leite cru de vacas tratadas no *pré-dipping* com diferentes soluções desinfetantes.

Contagem bacteriana	Tratamentos			EPM	Valor de <i>P</i>
	AL	CL	HS		
Psicrófilos (leite cru)	2,84	2,63	3,13	0,110	0,171

Tratamentos: AL (ácido láctico), CL (clorexidina) e HS (hipoclorito de sódio). EPM: Erro padrão médio.

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (BRASIL-RIISPOA, 1980), o leite deve apresentar no máximo 10% de microrganismos psicrófilos, em relação a contagem total de bactérias aeróbias mesófilas. Para contagem de bactérias aeróbias mesófilas no leite cru, foram obtidos no presente estudo valores inferiores a 5,48 (\log_{10}/mL) que é o máximo estabelecido pela IN 77 (MAPA, 2018). Cavalcante *et al.* (2013) obtiveram contagem de bactérias aeróbias mesófilas no leite de 3,06 \log_{10}/mL e de psicrófilos de 3,37 \log_{10}/mL quando utilizaram clorexidina a 2 % (v/v) no *pré-dipping*.

É reportado na literatura que as boas práticas de ordenha influenciam na qualidade do leite produzido. De acordo com Eckstein *et al.* (2014) as práticas de higiene adotadas em propriedades leiteiras possuem correlação positiva com aspectos de composição físico-química do leite e correlação negativa com contagem total de células somáticas (CCS) e contagem bacteriana total (CBT) (KAPPES e PILETTI, 2016).

Considerando o período experimental deste estudo, os valores médios de composição físico-química e de CCS do leite produzido apresentaram-se de acordo com os padrões estabelecidos pela IN 77 (MAPA, 2018) (Tab. 04).

Tabela 04: Composição físico-química do leite cru e contagem total de células somáticas do leite de vacas tratadas com diferentes soluções desinfetantes no *pré-dipping*.

Parâmetro	Tratamentos			EPM	Valor de <i>P</i>
	AL	CL	HS		
Gordura (g/100g)	3,39	2,97	3,26	0,124	0,400
Proteína (g/100g)	3,39	3,33	3,36	0,015	0,517
Lactose (g/100g)	4,06	4,07	4,03	0,027	0,871
ESD (g/100g)	8,02	7,92	7,98	0,040	0,538
CCS (CS/mL)	331,66	340,33	129,08	54,835	0,234

Tratamentos: AL (ácido láctico), CL (clorexidina) e HS (hipoclorito de sódio). EPM: Erro padrão médio.

Diversas condições podem influenciar a qualidade do leite cru, como a higiene da ordenha e utensílios, manejo, alimentação, genética dos rebanhos, obtenção, armazenagem e transporte do leite. Além destes fatores, a mastite é uma das principais causas de perdas na qualidade e produção do leite (COSTA *et al.*, 2017).

De acordo com a IN 76 (MAPA, 2018) o leite cru refrigerado deve ter no mínimo 3% de gordura (3,0 g/100g), pois é um importante fator de qualidade do leite. A gordura é o componente mais susceptível a alteração, podendo ser influenciada por fatores como: dieta, padrão racial, volume de produção, estação do ano e saúde do animal (MILANI, *et al.*, 2016). A relação entre gordura e CCS ainda vem sendo discutida, pois apesar de alguns trabalhos afirmarem que a alta contagem de CCS pode diminuir o teor de gordura (VOGES *et al.*, 2015).

O valor mínimo estabelecido pela IN 76 (MAPA, 2018) para teores de proteína no leite cru refrigerado é de 2,9 g/100g. Notou-se no presente estudo que os valores proteicos obtidos foram superiores ao exigido pelo IN 76 (MAPA, 2018) (Tab. 04). Os teores de proteína podem sofrer influência de fatores como: raça e dieta, além da CCS e CBT que podem influenciar negativamente nos níveis de proteína no leite (RIBEIRO NETO, 2012; VOGES *et al.*, 2015). Eckstein *et al.* (2014) concluíram que há correlação negativa entre CCS e composição físico-química do leite, assim as boas práticas pré e pós ordenha são importantes para manutenção da qualidade do leite.

A lactose é o principal carboidrato do leite e representa um dos componentes que menos sofre variação na composição do leite, por ser um regulador osmótico no alvéolo mamário (MILANI *et al.*, 2016). Entretanto, o nível de lactose pode ser alterado quando há prevalência da mastite subclínica (WINCKLER, 2019). Eckstein *et al.* (2014) obtiveram correlação negativa entre a CCS e a lactose, verificando que elevados valores de CCS diminuem a concentração deste componente no leite, pois reduz a capacidade de síntese do epitélio glandular, devido às lesões causadas pela mastite, havendo uma correlação positiva entre os componentes do leite e a adoção de boas práticas de ordenha, como o *pré-dipping*.

De acordo com a IN 76 (MAPA, 2018) no leite cru refrigerado a quantidade mínima de extrato seco desengordurado (ESD) é de 8,4 g/100g, entretanto, os níveis de ESD observados encontram-se abaixo da quantidade mínima exigida pela IN 76 para os tratamentos CL e HS. De acordo com Peixoto *et al.* (2016) o teor de ESD pode ser influenciado por fatores como raça dos animais, armazenamento do leite e variações dos teores de proteína e lactose.

Para CCS, o valor máximo permitido pela IN 76 (MAPA, 2018) deve ser de 500.000 CS/mL. Neste estudo, para esta variável não houve diferença significativa entre os tratamentos e os tempos avaliados (Tab. 04).

Em estudo “*in vitro*” realizado por Pedrini e Margatho (2003) os autores verificaram diferença significativa entre o hipoclorito de sódio e a clorexidina, sendo esta, mais eficaz na redução da carga de microrganismos percursoros da mastite. Em estudo também “*in vitro*” realizado por Santos *et al.* (2018) a clorexidina a 2% também foi o desinfetante que causou maior resposta de sensibilidade frente ao *Staphylococcus* spp., quando comparado ao hipoclorito de sódio a 2% e ao iodo a 0,57%.

Altas contagens de células somáticas podem ser influenciadas pelo número de lactações, estação do ano e boas práticas de higiene (CUNHA *et al.*, 2008; MILANI *et al.*, 2016; VALLIN *et al.*, 2009). Segundo Lange *et al.* (2016) a adoção do uso do *pré – dipping* e *pós-dipping* reduz a incidência de mastite ambiental e infecções da glândula mamária, influenciando, deste modo, na qualidade do leite.

CONCLUSÕES

Para os três produtos comerciais avaliados não foram observadas alterações na composição físico-química do leite produzido e nos valores das contagens bacterianas da pele dos tetos. Foram observadas maiores contagens microbiológicas no leite quando utilizou-se a solução de hipoclorito de sódio como desinfetante *pré-dipping*.

AGRADECIMENTOS

National Institute of Science and Technology for Dairy Production Chain (INCT-LEITE), Universidade Estadual de Londrina, Rodovia Celso Garcia Cid-Campus Universitário, Londrina, Paraná 86057-970, Brazil.

REFERÊNCIAS

AMARAL, L.A.; ISA, H.; DIAS, L.T.; JUNIOR, O.D.R.; FILHO, A.N. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.24, n.4, p.173–177, 2004.

BOZO, G.A.; SILVA, L.C.; OKANO, W. Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.65, n.2, p.589-594, 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem animal- RIISPOA. Brasília, 1980.

COUTINHO, L.C.A.; MEDEIROS, E.S.; SILVEIRA, N.S.S.; SILVA, L.B.G; MOTA, R.A. Eficácia *in vitro* de desinfetantes utilizados na anti-sepsia dos tetos frente a leveduras isoladas do leite de vaca com mastite. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.32, n.1, p.61–65, 2012.

CAVALCANTE, D. A.; LEITE- JUNIOR, B.R.C.; TRIBST, A.A.L.; CRISTIANINI, M.; COELHO, V.R.P. Uso da água ozonizada na sanitização dos tetos de bovinos e sua influência na qualidade do leite. Revista do Instituto Laticínios Cândido Tostes, v.68, n.392, p.33–39, 2013.

COSTA, H.N.; MOLINA, L.R.; LAGE, C.F.A.; MALACCO, V.M.R.; FACURY FILHO, E.J.; CARVALHO, A.Ú. Estimativa das perdas de produção leiteira em vacas mestiças Holandês x Zebu com mastite subclínica baseada em duas metodologias de análise. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.69, n.3, p.579-586, 2017.

CUNHA, R.P.L.; MOLINA, L.R.; CARVALHO, A.U.; FACURY FILHO, E.J.; FERREIRA, P.M.; GENTILINI, M.B. Mastite subclínica e relação da contagem de células somáticas com número de lactações, produção e composição química do leite em vacas da raça Holandesa. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.60, n.1, p.19-24, 2008.

ECKSTEIN, I.I.; POZZA, M.S.S.; ZAMBOM, M.A.; RAMOS, C.E.C.O.; TSUTSUMI, C.Y.; FERNANDES, T.; ECKSTEIN, E.I.; BUSANELLO, M. Qualidade do leite e sua correlação com técnicas de manejo de ordenha. *Scientia Agraria Paranaensis*, v.13, n.2, p.143–151, 2014.

GONZÁLEZ, F.H.D. Composição bioquímica do leite e hormônios da lactação. In: *Uso do leite para monitorar a nutrição e o metabolismo de vacas leiteiras*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001. 77p

KAPPES, C.I.; PILETTI, R. Análise da qualidade do leite em uma produzido em uma propriedade rural do extremo oeste catarinense. *Revista Ciências Agroveterinárias e Alimentos*, v.1, n.1, p.1-11, 2016.

LANGE, M.J.; ZAMBOM, M.A.; RAMOS, C.E.C.O.; CASTAGNARA, D.D.; BÁNKUTI, F.I.; NEUMANN, M.E.; BRITO, M.M.; TININI, R.C.R. Tipologia de sistemas de produção leiteiros baseado nas características produtivas e de manejo na Região Oeste do Paraná. *Semina: Ciências Agrárias*, v.37, n.1, p.473-481, 2016.

LIMA, M.C.G. DE; SENA, M.J. DE; 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. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.73, n.1, p.89-95, 2006.

LOPES, L.O.; LACERDA, M.S.; RONDA, J.B. Eficiência de desinfetantes em manejo de ordenha em vacas leiteiras na prevenção de mastites. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, v.21, n.21, p.1-9, 2013.

MARIOTO, L.R.M.; DANIEL, G.C.; GONZAGA, N.; MAREZE, J.; TAMANINI, R.; BELOTI, V. Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicrotrófica, termodúrica e esporulada do leite cru. *Ciência Animal Brasileira*, v.21, n.1, p.e44034, 2020.

MEDEIROS, E.S.; SANTOS, M.V.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; FARIA, E.B.; WANDERLEY, G.G.; TELES, J.A.A.; MOTA, R.A. Avaliação in vitro da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e pós-dipping frente amostras de *Staphylococcus* spp . isoladas de mastite bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.29, n.1, p.71-75, 2009.

MIGUEL, P.R.R.; POZZA, M.S.S.; CARON, L.F.; ZAMBOM, M.A.; POZZA, P.C. Incidência de contaminação no processo de obtenção do leite e suscetibilidade a agentes antimicrobianos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.33, n.1, p.403-416, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 76, de novembro de 2018, Brasil, 2018.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTP. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 77, DE 26 DE NOVEMBRO DE 2018. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Edição 230. Seção 1. pg.10, 2018.

MILANI, M. P.; VARGAS, D.P.; MELLO, R.O.; NORNBORG, M.F.B.L.; NORNBORG, J.L. Qualidade do leite em diferentes sistemas de produção , ano e estação climática. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.23, p.206–211, 2016.

MORÃO, R.P.; ALMEIDA, A.C.; MOURTHÉ, M.R.F.; MARCELO, N.A.; MAIA, P.H. B.B.; GOMES, L.V.; SILVA, F.E.G.; MATOS, A.S.F. Efeito de antisséptico contendo óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia origanoides* Cham.) nos tetos de vacas leiteiras e qualidade do leite. Unimontes científica, v.19, n.2, p.68-82, 2018.

RIBEIRO NETO, A.C.R.; BARBOSA, S.B.P; JATOBÁ, R.B.; SILVA, A.M.; SILVA, C.X.; SILVA, M.J.A.; SANTORO, K.R. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região Nordeste. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.64, n.5, p.1343-1351, 2012.

OLIVEIRA, J.L.P.; KOZERSKI, N.D.; SILVA, D.R.; SILVA, A.V.; MARTINS, L. A. Fatores de risco para mastite e qualidade do leite no município de Altônia –PR. Arquivos de Ciência e Veterinária e Zoologia, v.16, n.1, p.61-72, 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, v.70, n.4, p.391-395, 2003.

PEIXOTO, A.L.; SILVA, M.A.P.; MORAIS, L.A.; SILVA, F.R.; CARMO, R.M.; LAGE, M E. Influência do tipo de ordenha e do armazenamento do leite sobre a composição química, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.71, n.1, p.10–18, 2016.

PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETTI, M.C.D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicofila proteolíticas. Ciência Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.26, n.3, p.645-651. 2006.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; GRASSI, T.L.M.; AVANÇO, S.V.; LIMA, L.K.F. Capacitação de Produtores Rurais para a Melhoria da Qualidade do Leite Cru na Região de Araçatuba - SP. Revista Ciência em Extensão Rural, v.7, n.1, p.91-101, 2011.

SANTOS, I.C.; SILVA, D.R.; OLIVEIRA, A.F.; OLIVEIRA, V.R.; MARTINS, L.A. Eficácia *in vitro* de desinfetantes utilizados no pré-dipping frente a amostras de *Staphylococcus* spp. Jornal Interdisciplinar de Biociências, v.3, n.1, p.1-4. 2018.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Varela, 2001. 317p.

SILVA-JUNIOR, R.C.S.; CAMPANHOLI, K.S.S.; MORAIS, F.A.P.; POZZA, M.S.S.; SANTOS, G.T.; HIOKA, N.; CAETANO, W. Development and applications of safranin-loaded Pluronic® F127 and P123 photoactive nanocarriers for prevention of bovine mastitis: In vitro and in vivo studies. Dyes and Pigments, v.167, p.204–2015, 2019.

SOUZA, F.B. Considerações práticas sobre rotina de ordenha. 2013. 23p. Monografia. Curso de Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, 2013.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. System for Microsoft Windows: release 8.2. Cary: 2001. 1 CD-ROM.

VALLIN, V.M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A.P.P; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; ANGELA, H.L.; SILVA, L.C.C. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de

Ciência Animal, v.30, n.2, p.23-33, 2020.

boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. Semina: Ciências Agrárias, v.30, n.1, p.181-188, 2009.

VOGES, J.G.; NETO, A.T.; CRISTINA, D. Qualidade do leite e a sua relação com o sistema de produção e a estrutura para ordenha. Revista Brasileira de Ciência Veterinária, v.22, n.3-4, p.171-175, 2015.

WINCKLER, P.J. Prevalência da mastite subclínica em rebanhos brasileiros e o efeito sobre a composição do leite. [s.l.] Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 2019. 62p. Tese. Doutorado em Ciência Animal e Pastagem (Programa de Pós Graduação em Zootecnia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – USP, 2019.