

Incidência de *Salmonella ssp* e *Staphylococcus aureus* no leite de vacas da raça Pantaneira**Incidence of *Salmonella spp* and *Staphylococcus aureus* in the milk of cows Pantaneira breed**

DOI: 10.34188/bjaerv3n3-018

Recebimento dos originais: 20/05/2020

Aceitação para publicação: 20/06/2020

Dirce Ferreira Luz

Doutora em Bioquímica Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Endereço: Rua Oscar Trindade de Barros, nº760, Bairro Serraria, Aquidauana-MS, Brasil

E-mail: dirce.ferreira@ufms.br

Tamara Ferreira da Silva

Graduada em Biologia pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Endereço: Rua Oscar Trindade de Barros, nº760, Bairro Serraria, Aquidauana-MS, Brasil

E-mail: tamara.146.ferreira@gmail.com

Sirlei Fernandes Marciel

Graduada em Biologia pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Instituição: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Endereço: Rua Oscar Trindade de Barros, nº760, Bairro Serraria, Aquidauana-MS, Brasil

E-mail: sirlei.marciel46@gmail.com

Marcus Vinicius Morais de Oliveira

Doutor em Zootecnia pela Universidade Federal de Viçosa (UFV)

Instituição: Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS)

Endereço: Rodovia Aquidauana/UEMS, Km12, Zona rural. Aquidauana-MS, Brasil

E-mail: marcusvmo@uems.br

RESUMO

A raça Pantaneira é oriunda da miscigenação de bovinos europeus trazidos pelos espanhóis e portugueses durante a colonização do Pantanal. A seleção natural tornou esse gado resistente a parasitas e magnificamente adaptado às condições ambientais desse Bioma. Tendo em vista que o leite é um dos alimentos mais nobres, a quantificação microbiana é de suma importância, visto que a multiplicação bacteriana provoca alterações nos teores de gordura, açúcar e proteína, modificando suas características nutricionais. Dentre os microrganismos, o *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella ssp* se destacam, devido a sua importância no status sanitário e patogênico. Deste modo, este trabalho buscou avaliar a incidência desses microrganismos no leite de vacas da raça Pantaneira, criadas no Núcleo de Conservação de Bovinos Pantaneiros (NUBOPAN) da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS). Foram coletadas 120 amostras de leite recém-ordenhado e analisados no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Para a quantificação do *Staphylococcus* utilizou-se o método de contagem “*Spread-plate*” em Ágar Baird Parker (BP) com telurito de potássio a 3,5%, em triplicata, depositando-se 0,1 ml de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}). Já para *Salmonella* foram utilizados os meios caldos lactosado, caldo selenito-cistina,

tetrationato, ágar verde brilhante (BGA), ágar bismuto sulfito (BSA) e ágar salmonella-shigella (SS). Não foram observadas cepas de *Salmonella ssp* e ausência de *Staphylococcus aureus*, indicando que o leite das vacas da raça Pantaneira é apropriado para o consumo Humano.

Palavras-chave: bovino pantaneiro, qualidade microbiológica, recurso genético animal

ABSTRACT

The Pantaneira breed comes from the miscegenation of European cattle brought by the Spanish and Portuguese during the colonization of the Pantanal. Natural selection has made these cattle resistant to parasites and magnificently adapted to the environmental conditions of this Biome. Considering that milk is one of the most noble foods, microbial quantification is of paramount importance, since bacterial multiplication causes changes in the levels of fat, sugar and protein, modifying its nutritional characteristics. Among the microorganisms, the *Staphylococcus aureus* and *Salmonella ssp* stand out, due to their importance in the sanitary and pathogenic status. Thus, this work sought to evaluate the incidence of these microorganisms in the milk of Pantaneiras cows, raised in the Pantaneiros of Bovine Conservation Center (NUBOPAN) of the State University of Mato Grosso do Sul (UEMS), High Pantanal South Mato Grosso region, Brazil. A total of 120 samples of freshly milked milk were collected and analyzed in the Laboratory of Microbiology of the University Federal of Mato Grosso do Sul (UFMS). For the quantification of *Staphylococcus*, was used the Spread-plate method in Baird Parker Agar (BP) with potassium telluride to 3.5% in triplicate, depositing 0,1 ml of each dilution (10^{-1} , 10^{-2} and 10^{-3}). Already for Salmonella was used of the means Lactated broth, Selenite-Cystine broth, Tetrathionate, Brilliant Green Agar (BGA), Bismuth Sulphite Agar (BSA) and Salmonella-Shigella Agar (SS). No strains of *Salmonella ssp* and absence of *Staphylococcus aureus* were observed, indicating that the milk of cows of the Pantaneira breed is suitable for Human consumption.

Keywords: animal genetic resource, microbiological quality, pantaneiro cattle.

1 INTRODUÇÃO

Os bovinos Pantaneiros foram trazidos para a região do Pantanal inicialmente pelos espanhóis e, posteriormente pelos portugueses, no início dos séculos XVI e XVIII, respectivamente. Nesse período 11 raças puras, sendo 5 espanholas (Arouquesa, Berrenda Negra/Vermelha, Negra Andaluza, Retinta, Rubia Gallega) e 6 portuguesas (Alentejana, Algarvia, Barrosa, Mertolenga, Minhota, Mirandesa), participaram do processo de formação inicial do gado Pantaneiro. Posteriormente, no ano de 1928, criadores da Nhecolândia na região compreendida pelos rios Taquari, Negro, Miranda e Paraguai, introduziram touros das raças Shorthorn e Hereford, com o intuito de melhorar as características zootécnicas do gado Pantaneiro. Portanto, o gado crioulo do Pantanal, é um grupo genético oriundo da miscigenação de bovinos europeus, sendo referendado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) como uma raça *Bos taurus taurus* genuinamente brasileira e localmente adaptada ao Bioma do Pantanal.

Segundo Rufino Junior et al. (2014) os bovinos Pantaneiros reduziram seu tamanho corpóreo para se adaptarem as condições ambientais inóspitas do Pantanal. Sendo a única raça capaz de pastejar capins submersos (SERENO, 2002) e podendo passar meses em condições extremas de seca ou de

umidade excessiva em ambientes alagados, sem desenvolver problemas nos cascos (MAZZA et al. 1992). O longo processo de adaptação e intensa seleção natural fez com que os bovinos Pantaneiros adquirissem características importantes de tolerância ao calor e resistência a parasitas (EGITO et al., 2002; SANTOS et al., 2005).

Os bovinos Pantaneiros são rústicos e apresentam uma menor exigência nutricional suportando melhor a escassez de alimentos no período da seca e em situações de alagamento (Mc Manus et al., 2010; Juliano et al., 2011), sendo caracterizada por possuir dupla aptidão, tanto para carne quanto para o leite, com alta variabilidade genética entre os indivíduos.

Apesar de outrora a raça Pantaneira possuir milhões de cabeças e constituir-se a base econômica desta região, atualmente o intenso processo de cruzamentos com outros grupos genéticos levou ao quase desaparecimento dos animais, restando apenas algumas centenas de indivíduos puros, e colocando os bovinos Pantaneiros em iminente risco de extinção. Infere-se que a raça Pantaneira foi declarada pelos Governos dos Estados de Mato Grosso (Decreto Legislativo nº 9.393/2010) e Mato Grosso do Sul (Decreto Legislativo nº 589/2017) como patrimônio genético e cultural do Pantanal, por se constituir uma herança natural portadora de referência e identidade às ações e a memória da sociedade pantaneira. Ressalta-se que mesmo diante de todas as dificuldades, o gado Pantaneiro ainda resiste, sendo considerado de suma importância para muitas Fazendas que dependem do leite para alimentar as pessoas, especialmente as crianças que lá residem.

O leite é caracterizado por ser um alimento de alto valor biológico, sendo composto por proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais. Nutrientes estes, que podem ser influenciados por fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais, sanitários, comportamentais e ambientais, durante o processo da síntese do leite na glândula mamária (SOUZA et al. 1996; CLARE e SWAISGOOD, 2000; POPESCU e ANGEL, 2009). Infere-se ainda, que a qualidade e quantidade dos componentes do leite é fundamental para a aceitação e segurança dos consumidores, bem como no rendimento dos derivados lácteos (SIMÕES e OLIVEIRA, 2012; SANT'ANA et al. 2006; BRITO et al. 2008; OLIVEIRA et al. 2010).

Vale salientar que a quantidade de microrganismos antes da pasteurização é totalmente influenciada pela quantidade de microrganismos presentes no leite cru antes da realização deste processo. Por conta disso, deve-se tomar cuidado com a contaminação do leite na hora da ordenha e promover uma adequada refrigeração do produto para diminuir a multiplicação celular microbiana.

Para Padilha et al. (2001) o controle microbiológico do leite torna-se muito importante para saúde do consumidor. Visto que a multiplicação das bactérias torna este alimento impróprio para o

consumo humano, provocando alterações químicas nos teores de gordura, açúcar e proteína, e desse modo, modificando suas características nutricionais.

Conforme Schuster et al. (2006), um dos grandes problemas é que o leite *in natura* é consumido de forma inadequada pelas pessoas sem qualquer inspeção sanitária. Outro fator importante apontado por Catão e Ceballos (2001) é que no Brasil o processo de obtenção, armazenamento e transporte do leite ocorre muitas vezes em condições de higiene deficientes, elevando assim a quantidade de microrganismos. Para Zaho e Lacasse (2008) outro aspecto que interfere na qualidade do leite é a mastite, decorrente de uma infecção na glândula mamária ocasionada essencialmente por bactérias do gênero *Staphylococcus aureus*. As bactérias do gênero *Staphylococcus aureus* são esféricas e pertencente ao grupo dos cocos gram-positivos, podendo causar infecções graves. Intoxicações por *Staphylococcus aureus* apresentam sintomas como náuseas, vômitos, cólicas abdominais, diarreia, sudorese, dores de cabeça e prostração (JAY et al., 2005).

Além das infecções intramamárias resultarem em grandes prejuízos a produção leiteira, como consequência da diminuição na produção de leite, dos gastos com medicamentos e com assistência veterinária (COSTA et al. 1999) elas também acarretam em riscos à saúde das pessoas que ingerem esse leite, pelos efeitos tóxicos e carcinogênicos por conta da alteração no equilíbrio da microbiota do intestino e pela resistência das bactérias aos antibióticos no trato digestório dos consumidores (MANSUR et al. 2003).

Por outro lado, em seres humanos a salmonelose tem sido um dos mais frequentes problemas de saúde relacionados com infecções gastrointestinais. Estando o leite e derivado vinculados à surtos de salmonelose. Bactérias do gênero *Salmonella spp* são bacilos retos gram-negativos não espiralados, anaeróbicos facultativos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*.

A presença da *Salmonella spp* no leite é de extrema preocupação, pois pode trazer problemas alimentares graves. Por isso o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento preconiza que essa bactéria não esteja presente no leite pasteurizado (MAPA, 2002). Normalmente casos de salmonelose estão caracterizados por náuseas, febre, dor abdominal, vômitos ligados a desidratação, podendo desencadear sequelas crônicas como a artrite (SOARES, 2003).

Nesse contexto, o presente trabalho buscou avaliar a qualidade microbiológica do leite de vacas da raça Pantaneira, por meio da observação da incidência de bactérias do gênero *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite foram obtidas do Núcleo de Conservação dos Bovinos Pantaneiros (NUBOPAN) pertencente à Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), na cidade de Aquidauana, MS, região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense, nas coordenadas geográficas (20 0 28'16'' e 55 0 47'14'' w). Todos os procedimentos adotados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) - UEMS que certificou a utilização dos animais de acordo com o protocolo nº 036/2019.

A ordenha dos animais foi realizada manualmente, sendo os tetos higienizados com solução antisséptica. As amostras de leite foram acondicionadas em frascos plásticos estéreis, identificadas e armazenadas em caixas de isopor com gelo. Em seguida foram transportadas para o Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campus de Aquidauana. Foram analisadas 120 amostras de leite, coletadas no período de verão (outubro a março) sendo 5 por semana, com repetições, durante seis meses, com o intuito de verificar a presença de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella spp.*

Para a quantificação de *Staphylococcus aureus* utilizou-se o método de contagem "Spread-plate" em Ágar Baird Parker (BP) com telurito de potássio a 3,5%, em triplicata, depositando-se 0,1 ml de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) sobre a superfície do ágar e, com auxílio da alça de Drigalsky, espalhou-se a amostra de leite por toda a superfície do meio, até a completa absorção. Após a secagem, a Placa foi invertida e incubada a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24/48 horas (APHA, 1992). Assim, verificou-se o desenvolvimento de colônias típicas: colônias de bordos regulares, cinzas a pretas, brilhantes, com cerca de 1mm de diâmetro normalmente circundadas por 1 halo, opaco, mais próximo da colônia. Foram selecionadas para contagem, placas que continham entre 20 a 200 colônias típicas de *Staphylococcus aureus*. Com as colônias típicas foram realizadas as provas bioquímicas da catalase e Coloração de Gram. Também foram selecionadas, até cinco colônias, para serem testadas quanto à produção da coagulase. Assim, essas colônias foram transferidas para tubos contendo caldo de infusão de cérebro e coração (BHI), sendo completamente emulsificadas. Foram adicionados 0,5mL de coagulase plasmática reconstituída com EDTA aos tubos e estes foram homogenizados e incubados a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ /18 horas examinando-se periodicamente, por 6 horas, para a verificação da formação de coágulo. Em tubos positivos para *Staphylococcus aureus* houve a formação de um coágulo firme e completo. Foram consideradas para expressão dos resultados, como *Staphylococcus aureus* as culturas Gram-positivas, com morfologia típica (cocos), catalase positivas e coagulase positivas (reação 3+ e 4+).

Para asseverar a presença do *Staphylococcus aureus* é imprescindível a confirmação dos três testes bioquímicos (catalase, coagulase e Gram). O *Staphylococcus aureus* produz uma enzima chamada coagulase, sendo que a produção deste fator aglutinante reage com o fator plasmático formando um complexo que atua no fibrogênio do plasma originando a fibrina. Já a catalase é uma enzima que na existência do peróxido de hidrogênio (H_2O_2), ela destrói o mesmo, transformando em H_2O e O_2 , podendo o oxigênio liberado ser observado mediante a formação de bolhas. Para o último teste, a coloração Gram, identifica-se a bactéria pelo aspecto da colônia e observações feitas ao microscópio, por ser um cocco Gram-positivo devem apresentar a coloração roxa ou azulada estando dispostos em grupos, com aspecto de “cachos de uva”.

Para a detecção, isolamento e identificação de *Salmonella spp.* foi utilizada a metodologia sugerida pela 'Food and Drug Administration' (FDA), descrita na “Bacteriological Analytical Manual” por Andrews et al., (1984). Assim, alíquotas de 25 ml de leite foram adicionadas a 225 ml de caldo lactosado, e incubadas a 35°C. Após 24 horas de incubação, alíquotas de 1 ml foram transferidas para 10ml dos caldos de enriquecimento tetracionato e selenito-cistina, que estiveram previamente incubados por 24 horas a 42°C e a 35°C, respectivamente. Após o período de incubação dos mesmos, foram feitas estrias, com o auxílio de alça níquel-cromo nos meios seletivos Ágar bismuto sulfito (BSA), Ágar verde brilhante (BGA) e Ágar Salmonella - Shigella (SS), cujas placas foram incubadas a 35°C por 24 a 48 horas. As colônias suspeitas foram selecionadas de cada placa em número de até 5 e semeadas em tubos de Agar tríplice-açúcar-ferro (TSIA) que, por sua vez, foram incubados a 35°C por 24 horas. Os tubos contendo colônias positivas foram identificados por meio da fermentação de carboidratos, onde, através desta, as bactérias produziram o gás sulfeto de hidrogênio.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nenhuma amostra de leite, oriundo das vacas Pantaneiras, foi detectada a presença da bactéria *Staphylococcus aureus*, indicando que os animais estavam livres de mastite e que os procedimentos higiênicos-sanitários preventivos do manejo pré-dipping realizados durante a ordenha foram eficazes para eliminar essa bactéria, considerada uma das mais comuns no ambiente (Tabela 1).

A ausência de mastite pode também ser consequência da menor quantidade de leite secretada pela glândula mamária das vacas Pantaneiras e do próprio sistema de aleitamento utilizado, com bezerro ao pé, havendo posterior retirada do leite residual do úbere via ingestão do leite pelos bezerros, que permaneceram com as vacas por mais duas horas após o término da ordenha.

Tabela 1-Incidência de *Staphylococcus aureus*, com as médias dos respectivos testes comprobatórios, expressos em porcentagem, no leite cru recém-ordenhado de bovinos Pantaneiros.

<i>S. aureus</i>	Catalase		Coagulase		Gram ⁺	
	P ²	N ³	P	N	P	N
Ausente ¹	45,5	54,5	36,4	63,6	18,2	81,8

¹ A presença de *Staphylococcus aureus* só pode ser confirmada quando os três testes (catalase, coagulase e Gram⁺) forem positivos para a mesma amostra de leite; ² P: positivo; e ³ N: negativo.

Segundo Borges et al (2008) o *Staphylococcus aureus* é um dos principais microrganismos responsáveis pela presença de mastite na glândula mamária das vacas. E sua incidência no leite aumenta de maneira significativa nas condições de armazenamento inadequado, onde o processo de refrigeração é ineficiente.

Uma vez contaminado, o leite e seus derivados podem apresentar problemas de saúde pública, causando riscos de intoxicação alimentar, devido às toxinas liberadas pelas bactérias. Sendo essa intoxicação observada quando o número de *Staphylococcus aureus* ultrapassa 10⁵ UFC/ml (Unidade Formadora de Colônia por mL) (FOOD, 1992).

No Brasil, a incidência de *Salmonella* nas intoxicações alimentares é pouco relatada, sendo que muitas vezes pequenos surtos não chegam ao conhecimento das autoridades de saúde pública (GIOMBELLI e SILVA, 2001).

Neste ensaio, foi possível observar que os três meios de isolamento utilizados, Ágar Verde Brilhante (BGA), Agar Bismuto Sulfito (BSA) e Ágar Salmonella-Shigella (SS), apresentaram baixa seletividade, uma vez que permitiram o crescimento de bactérias não pertencentes ao gênero *Salmonella spp.* O mesmo ocorreu com os caldos Lactosado, Tetrionato e Selenito-Cistina utilizados para o enriquecimento seletivo.

Na Tabela 02 podem ser observados os resultados obtidos para a bactéria *Salmonella spp.*

Tabela 2-Incidência de *Salmonellasp.* com as respectivas médias para meios de cultura comprobatórios, expressos em porcentagem, no leite cru recém-ordenhado de bovinos Pantaneiros

<i>Salmonellasp</i>	⁴ SS		⁵ BGA		⁶ BSA	
	P ²	N ³	P	N	P	N
Ausente ¹	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0

¹ A presença de *Salmonella spp* só pode ser confirmada quando o meio SS apresentar crescimento positivo, sendo os meios BGA e BSA utilizados de maneira complementar; ² P: positivo; ³ N: negativo; ⁴SS: Ágar Salmonella Shigella; ⁵BGA: Ágar Verde Brilhante; ⁶BSA: Ágar Bismuto Sulfito.

Em relação a *Salmonella spp.*, infere-se ainda que a incidência de colônias suspeitas não assegura a presença da mesma, levando em consideração o trabalho de Ávila e Gallo (1996) que isolaram colônias suspeitas à *Salmonella*, que não foram confirmadas pela análise sorológica realizada pelo Instituto Adolfo Lutz-SP.

A segurança alimentar é direito de todos, mas a população deve ficar atenta às leis que regem a fiscalização dos alimentos para que o comércio tenha sempre produtos de qualidade.

Ressalta-se que o leite destinado para o consumo Humano não é totalmente livre de microrganismos (BARUFFALDI et al. 1984), havendo, no entanto, um limite do número máximo de bactérias não patogênicas por mililitro de leite, conforme referendado pela Instrução Normativa nº76/2018 (MAPA, 2018).

4 CONCLUSÃO

O leite oriundo de vacas da raça Pantaneira é considerado adequado para o consumo Humano, pois apresenta ausência de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella ssp.*

AGRADECIMENTOS

A Pró-reitoria de extensão da UFMS; ao NUBOPAN/UEMS; ao Centro de Pesquisa do Pantanal (CPP), Rede-Pró-Centro Oeste, Ministério da Ciência Tecnologia e Inovação (MCTI), CNPq e FUNDECT.

REFERÊNCIAS

- ANDREWS, W. H.; POELMA, P. L.; WILSON, C. R. Isolation and identification of Salmonella species. In: **Bacteriological Analytical Manual - Food and Drug Administration**, 6^a ed., p.7.01-7.17, Arlington: AOAC, 1984.
- APHA. American public health association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3ed. Washington: APHA, p.325-369, 1992.
- ÁVILA, C. R.; GALLO, C. R. Pesquisa de *Salmonella spp.* em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “minas frescal” comercializados no Município de Piracicaba-SP. **Scientia Agrícola**, v.53, n.1, p.159-163, 1996.
- BARUFFALDI R.; PENNA, T. C. V.; MACHOSVILI, I. A.; ABE, L. E. Condições higiênico-Sanitárias do leite pasteurizado tipo “B” vendido na cidade de São Paulo, SP (Brasil), no período de fevereiro a agosto de 1982. **Revista Saúde Pública**, v.18, n.5, p.367-374, 1984.
- BRASIL, MAPA - **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº.051, de 18 de setembro de 2002**. Diário Oficial da União, Brasília, 20 de setembro de 2002.
- BRASIL, MAPA - **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76 de 26 de novembro de 2018**. Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. Diário Oficial da União, seção 1, novembro de 2018.
- BRITO, J. R. F.; SOUZA, G. N.; FARIA, C. G.; MORAES, L. C. D. Normas para coleta e envio de amostras de leite do rebanho para determinação dos teores de gordura, proteína, lactose, sólidos totais, contagem de células somáticas e contagem total de bactérias. Embrapa Gado de Leite, 2008. Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/produtoserv/.../ManualColeta.pdf>.

- BORGES, M. F.; RENATA, T. N.; PEREIRA, L. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, v.38, n.5, p.1431-1438, 2008.
- CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria Spp.*, Coliformes Totais e Fecais e *E. Coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.3, p.282-287, 2001.
- CLARE, D. A.; SWAISGOOD, H. E. Bioactive milk peptides: A prospectus. **Journal of Dairy Science**, v.83, n.6, p.1187-95, 2000.
- COSTA, E. O.; SÁ, R.; PONCE, H.; WATANABE, E. T.; VALLE, C. R. Avaliação da terapia de mastite clínica: eficácia terapêutica medida em número de dias em tratamento. **Revista Napgama**, v.2, n.2, p.10-14, 1999.
- EGITO, A. A; MARIANTE, A. S; ALBUQUERQUE M. S. M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Archivos de Zootecnia**, v.51, n.193-194, p.39-52, 2002.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins**. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Rockville, Maryland, p.12-16, 1992.
- GIOMBELLI, A.; SILVA, N. L. Avaliação do método tradicional para detecção de *Salmonella spp.* em alimentos. **Higiene Alimentar**, v.15, n.87, p.63-67, 2001.
- JAY, J. M.; LOESSNER, M. J.; GOLDEN, D. A. **Modern Food Microbiology**. 7. ed. New York: Springer, 2005. 790p.
- JULIANO, R. S.; RAMOS, A. F.; SANTOS, A. S.; ABREU, U. G. P. Análise de características reprodutivas indicadoras de puberdade em tourinhos Pantaneiro. **Archivos Zootecnia**, v.60, n.231, p.325-328, 2011.
- MANSUR, P. U.; FOLLY, M. M.; CARLOS, L.A.; ARAÚJO, F. M.; GAI, Z. T.; TEIXEIRA, G. N. Avaliação do período de persistência do antibiótico cloxacilina no leite de vacas com mastite subclínica. **Revista de Higiene e Alimentação**, v.17, n.104/105, p.106, 2003.
- MCMANUS, C.; ABREU, U. G.; SANTOS, S.; MELO, C. B.; LOUVANDINI, H. Bovino Pantaneiro. Série técnica: Genética. INCT: Informação Genético-Sanitária da Pecuária Brasileira. 2010. Disponível em:
http://inctpecuaria.com.br/images/informacoestecnicas/serie_tecnica_bovino_pantaneiro.pdf
- MAZZA, M. C. M; MAZZA CA, SERENO, J. R. B; SANTOS, S. A. L; MARIANTE, A. S. Phenotypical characterization of pantaneiro cattle in Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v.41, n.154, p.477-484, 1992.
- OLIVEIRA, E. N. A.; SANTOS, D. C.; OLIVEIRA, A. S.; SOUSA, F. C. Composição físico-química de leite em diferentes fases de lactação. **Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais**, v.8, p.409-415, 2010.
- PADILHA, M. R. F.; FERNANDES, Z. F.; LEAL, T. C. A.; LEAL, N. C.; ALMEIDA, A. M. P.; Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade de Recife, Pernambuco, Brasil. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.2, p.167-171, 2001.
- POPESCU, A.; ANGEL, E. Analysis of milk quality and its importance for milk processors. **LucrăriȘtiințificeZootehnieȘiBiotehnologii**, v.42, n.1, p.501-503, 2009.
- RUFINO JUNIOR, J.; OLIVEIRA, M. V. M; CARVALHO, D. M. C; TEODORO, A. L; VARGAS, J. R. F. M; GOES, R. H. T. B; COSTA, L. G. Potencial produtivo de novilhas da raça pantaneira

alimentadas com fenos de baixa qualidade. **Semina: Ciências Agrárias**, v.35, n.4, (Supl. 1), p.2605-2616, 2014.

SANT'ANA, V. A. C.; BIRGEL, E. H.; ROSENFELD, A. M. F.; SOARES, P. C. Proteinograma do leite de vacas lactantes submetidas à retenção láctea. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.43, n.2, p.262-269, 2006.

SANTOS, A. S.; SILVA, R. A. M. S.; COMASTRI FILHO, J. Á.; ABREU, U. G.P.; MCMANNUS, C.; MARIANTE, A. S.; LARA, M. A. C.; PELEGRIN, A. O.; RAVAGLIA, E. Desempenho de bezerros pantaneiros, nelore e cruzados criados no Pantanal, Brasil. **Archivos de Zootecnia**, v.54, n.206-207, p.501-508, 2005.

SCHUSTER C.; GONZALEZ, H. L.; BUCHLE, J.; TIMM, C. D. Avaliação de equipamento alternativo para pasteurização lenta de leite previamente envasado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.4, p.828-831, 2006.

SERENO, J. R. B. Uso do potencial do bovino Pantaneiro na produção de carne orgânica do Pantanal. I Conferência virtual global sobre produção orgânica de bovinos de corte. 02 de setembro à 15 de outubro de 2002 - Via Internet. 2002. Disponível em: <http://www.cpap.embrapa.br/agencia/congressovirtual/pdf/portugues/06pt04.pdf>

SIMÕES, T. V. M. D.; OLIVEIRA, A. A. Mastite bovina: considerações e impactos econômicos-Embrapa. 2012. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros. Disponível em: http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2012/doc_170.pdf

SOARES, M. C. **Segurança Alimentar – Perigos Biológicos e Químicos**. Lisboa: Publicações Ciência e Vida, 2003. 163p.

SOUZA, E. M.; MILAGRES, J. C.; REGAZZI, A. J.; MARTINEZ, M. L.; SILVA, M. A. Effects of genetic and environmental factors on milk production of dairy Gir cattle in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.25, p.889-901,1996.

ZHAO, X.; LACASSE, P. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. **Journal of Animal Science**, v.86, n.13 (suppl), p.57-65, 2008.