

УДК: 637.12' 62.07

КОРЕЛАЦИИ ПОМЕГУ БРОЈОТ НА СОМАТСКИТЕ КЛЕТКИ, ХИГИЕНСКАТА ИСПРАВНОСТ И КВАЛИТЕТОТ НА СИРОВОТО КРАВЈЕ МЛЕКО КАЈ КРАВИ ВО ПРВА ЛАКТАЦИЈА

Адамов Никола¹, Петков Владимир², Атанасов Бранко³

¹Катедра за сточарство, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

²Катедра за функционална морфологија, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

³Катедра за репродукција, Факултет за ветеринарна медицина - Скопје

e-mail: adamovn@gmail.com

АБСТРАКТ

Во ова истражување испитувани се вкупно 518 мостри млеко на следниве параметри: број на соматски клетки (SCC), број на бактерии (CFU и IBC), проценета засиленост на масии, пропшени, лактоза и сува материја без масии (СМБМ) во млеко кај првошелки, кои во зависност од стадиумот на лактацијата беа поделени во три групи: во прва група беа вклучени првошелките кои беа 10ти - 100ти ден во лактација, во втора група оние од 101^{ви} до 200^{ви} ден во лактација и трета група првошелки со 201 и повеќе дено во лактација.

Бројот на соматски клетки и бројот на бактерии имаа највисока вредност кај првата група, средна вредност кај третата и најниска вредност кај втората група, а меѓусредните разлики покажаа статистичка сигнификантност. Содржината на млечните компоненти варираше помеѓу групите различно од предходните два параметри, а разликите помеѓу нивните просечни вредности во итту еден случај не беа статистички.

Бројот на соматски клетки кај сите три групи првошелки беше во позитивна и статистички корелација со бројот на бактерии, додека овие два параметри покажаа генерално негативна корелација со содржината на млечните компоненти. Без разлика на тоа дали покажателите на хигиенската исправност на млекото беа позитивно или негативно поврзани со содржината на млечните компоненти, овие корелации во итту еден случај не покажаат статистичка сигнификантност што не утешува на заклучок дека значајно намалување на содржината на млечните компоненти настапува при инфламација на млечната жлезда проследени со вредности подолеми од максималната добиена во ова истражување од 236.000 SCC/ml.

Клучни зборови: број на соматски клетки, број на бактерии, субклинички маси, хигиенска исправност и квалитет на кравје млеко

ВОВЕД

хигиенската исправност и квалитетот на сировото кравје млеко (16) предвидува да во

Бројот на соматски клетки и бројот на бактерии веќе подолго време се користат како параметри според кои се оценува хигиенската исправност на сировото кравје млеко. Во Република Македонија регулативата во која се пропишани условите за

периодот 2008 - 2012 год. бројот на бактерии се намали од 800.000/ml до 100.000/ml, а бројот на соматски клетки од 600.000/ml до 400.000/ml. Со постигнување на овие вредности биле задоволени стандардите кои моментално важат за земјите членки на Е.У. а кои се

дефинирани во рамките на регулативата ЕС 853/2004 (18). Млекото како и сите други секрети содржи клетки од различни врсти и во различен број и кај она добиено од здраво виме тие не ги менуваат неговите физички и хемиски особини ниту пак влијаат значително на неговата способност за преработка. Вимето на кравите е жлезда чии алвеоли се обложени со доста активен секреторен епител кој во текот на лактацијата нормално се троши и отпаѓа (холоапокрин тип на секреција) и преминува во млекото. Покрај тоа, во млекото се наоѓаат и епителни клетки од дисталните делови на изводните канали чиј број значително се зголемува при постоење на т.н. слепо молзење. Во млекото добиено од здрава млечна жлезда нормално преминуваат и мал број на клетки по потекло од крвта (11, 13). Вкупниот број на соматски клетки во млекото и процентуалната застапеност на поедините клеточни популации зависат од стадиумот на лактацијата, инфективниот статус на млечната жлезда како и од некои физиолошки и амбиентални фактори. Меѓутоа, денес во научните кругови општо е прифатено мислењето дека најголемо зголемување на бројот на соматските клетки во млекото настанува при развој на маститичен процес во млечната жлезда како резултат на активација на имунолошките механизми кога доаѓа до зголемено преминување на полиморфо-нуклеарните леукоцити (неутрофилите) од крвта во луменот на алвеолите (4, 11). Просечниот број на соматските клетки во млекото добиено од здрава млечна жлезда е 50.000/ml а во најголем број случаи тој е понизок од 150.000/ml. При тоа во ова млеко доминираат макрофаги и лимфоцити, а неутрофилите и епителните клетки се застапени во помал процент (1, 13, 19).

Кај млечните крави бројот на соматските клетки најчесто се зголемува (над 200.000/ml) како резултат на бактериски инфекции на млечната жлезда. Со напредување на воспалителниот процес се зголемува преминувањето на имуните клетки од крвта во млекото и во зависност од причинителот и интензитетот на воспалението вкупниот број на соматски клетки не ретко може да достигне и над 1.000.000/ml. Бактериите кои предизвикуваат силен имунолошки одговор (*Staph. aureus*, *Str. agalactiae*) обично го зголемуваат бројот на соматски клетки преку 600.000/ml, а не ретко во акутната фаза на

инфекцијата и до неколку милиони/ml. Коагулаза негативните стафилококи најчесто го зголемуваат бројот на соматските клетки од 200.000 до 500.000/ml. Група автори (17) испитувале збирни мостри млеко од четири фарми и дошле до заклучок дека од главните патогени за вимето најчесто бил изолиран *Staphylococcus aureus*, чии наод предизвикувал зголемување и преку 2.000.000 SCC/ml. Една студија (5) покажува дека кај 50% од неинфекцираните млечни жлезди бројот на соматските клетки бил испод 100.000/ml, а кај 80% од нив овој број бил понизок од 200.000/ml. Кога бројот на соматските клетки ќе ја достигне или ќе ја надмине вредноста од 200.000/ml, тогаш голема е веројатноста дека таа четвртина е инфицирана или дека се опоравува од инфекција (8). Паралелно со напредување на инфекцијата и на инфламаторниот одговор, бројот на соматските клетки, освен низ квантитативни поминува и низ квалитативни промени, кога постепено почнуваат да доминираат неутрофилните леукоцити, популација на која може да отпадне 90 и повеќе % од вкупниот број клетки во млекото.

Бројот на соматски клетки е во корелација со промените на физичките и хемиските особини на млекото, па затоа овој параметар се користи како индикатор за квалитетот на сировото кравје млеко. Квалитативните и квантитативните промени на млекото напредуваат пропорционално со развивање на воспалителниот процес и можат да се согледаат во: намалување на лактозата, зголемување на содржината на бовиниот serum албумин и имуноглобулините, зголемена деградација на казеинот, деградација на масните глобули и оксидација на масните киселини, раскинување на „тесните врски“ помеѓу клетките на секреторниот епител и зголемен трансфер на Na и Cl јони од крвта во млекото (зголемена електропроводливост) како и намалување на вкупната количина на синтетизирано млеко.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ

За ова истражување примероците од млеко беа земани од првотелки од краварската фарма „Еуроленд“ која се наоѓа во близина на Скопје. За да се утврди варирањето на параметрите кои ја дефинираат хигиенската исправност и

квалитетот на сировото млеко во различни фази од првата лактација, сите првотелки беа поделени во три групи во зависност од денот во лактација и тоа:

- во првата група беа анализирани вкупно 167 примероци млеко од првотелки кои беа од 10 до 100 дена во лактација;
- во втората група беа анализирани вкупно 176 примероци млеко од првотелки кои беа од 101 до 200 дена во лактација и
- во третата група беа анализирани вкупно 175 примероци млеко од првотелки кои имаа 201 и повеќе денови во лактација.

За истражувањето беа земени вкупно 518 збирни примероци млеко, од секоја првотелка посебно и од секоја четвртина на вимето по два до три млаза (20 - 30 мл од секое грло). Првите млазеви млеко не беа земани за анализа односно тие беа измолзувани на црна подлога заради детектирање на визуелни промени кај млекото. Примероците млеко беа замани непосредно пред утринското молзење во пластични стерилни запечатени чашки во кои претходно беше додаден конзерванс - азидиол во количина од 0,5 мл. и тоа во осум наврати на интервали од по 15 дена во периодот март - јуни 2007. Млекото веднаш по земањето беше испраќано во лабораторијата „Млекоконтрол - Пелагонија“ од Битола во која беше вршена анализата на истото. Во оваа лабораторија бројот на соматските клетки беше анализиран на апаратот Somascope, бројот на бактерии на Bactoscan, а хемискиот состав на млекото на Lactoscope. Првите два се проточни цитометри, а третиот е инфрацрвен спектрофотометар. Од приемот во лабораторијата па се до испитувањето (макс. 24 часа) сите примероци

беа држани на +4°C. Непосредно пред самата анализа примероците млеко беа хомогенизирали и загревани во водено купатило на 35-40 °C.

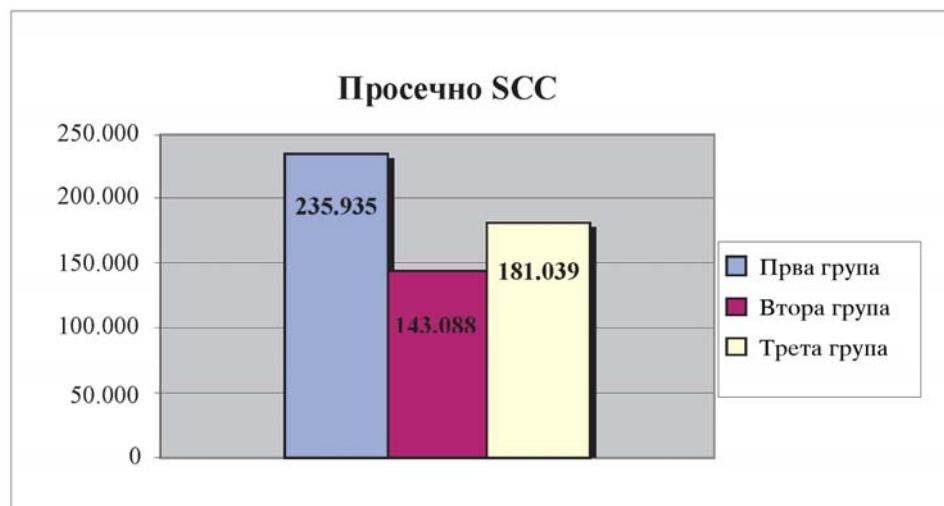
РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

• Број на соматски клетки и број на бактерии

Бројот на соматски клетки - SCC (Somatic Cell Count) кај првотелките од првата група се движеше во интервалот од 185.000/ml до 295.316/ml со просечна вредност од 235.935/ml. Кај првотелките од втората група SCC варираше во интервал од 123.636/ml до 175.895/ml со просечна вредност од 143.088/ml. Кај третата група првотелки овој параметар просечно изнесуваше 181.039/ml со варијација од 165.421/ml до 195.667/ml. Од прикажаните резултати можеме да видиме дека просечниот SCC пресметан за сите осум датуми на земање примероци беше највисок (235.935/ml) кај грлата кои беа во првата третина од лактацијата, а најнизок (143.088/ml) кај грлата во втората третина од лактацијата што може да се види од графиконот бр. 1.

Бројот на бактерии во мл. млеко беше изразен на два начина: како број на индивидуални бактериски клетки - IBC (Individual Bacterial Cells) и како број на бактериски колонии - CFU (Colony Forming Units). IBC кај првата група првотелки се движеше во распон од 26.130/ml до 36.450/ml со просечна вредност од 31.294/ml. CFU за истата група варираше од 20.174/ml до 30.150/ml со просечна вредност од 25.044/ml.

Графикон 1. Просечен број на соматски клетки по групи



Кај втората група првотелки IBC варираше од 9.630/ml до 20.905/ml со просечна вредност од 15.014/ml. CFU за истата група се движеше во опсег од 7.481/ml до 17.286/ml со просечна вредност од 12.099/ml. IBC кај третата група се движеше од 22.368/ml до 26.080/ml со просечна вредност од 24.311/ml. CFU за истата група варираше од 17.474/ml до 21.200/ml со просечна вредност од 19.418/ml. Просечните вредности за параметрите кои ја дефинираат хигиенската исправност на млекото се прикажани во табела бр. 1.

Неколку поранешни истражувања (4, 8, 9, 10, 14, 15) јасно покажуваат дека кај бактериолошки - негативните четвртини од вимето и условите на околината и физиолошките фактори како што се паритетот, стадиумот на лактацијата, физичката активност, еструсот и топлотниот стрес не го зголемуваат сигнификантно бројот на соматските клетки. Главен фактор од кој зависи бројот на соматските клетки е инфективниот статус на млечната жлезда (3, 4). Во една студија (5) авторите наведуваат дека 50% од неинфир-

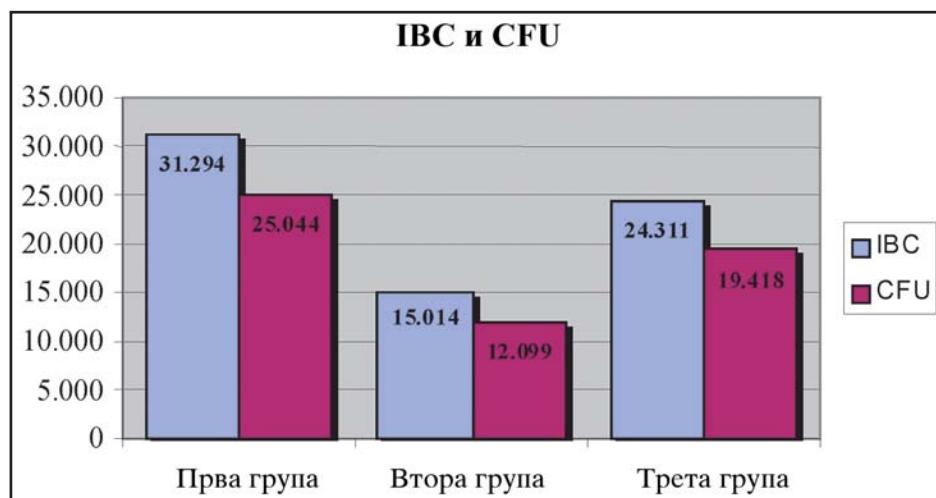
Табела 1. Просечни вредности за број на соматски клетки и број на бактерии во милилитар млеко

Параметар	Денови во лактација		
	10 - 100	101 - 200	≥ 201
SCC	235.935	143.088	181.039
IBC	31.294	15.014	24.311
CFU	25.044	12.099	19.418

Од овие резултати може да се забележи дека IBC беше највисок кај првата група (31.294/ml), а најнизок кај првотелките од втората група (15.014/ml). Исто така од табела бр. 1 може да се забележи дека и CFU параметарот варира по истиот редослед со максимална вредност од 25.044/ml кај првата група и минимална вредност од 12.099/ml кај втората група. Тоа и беше очекувано ако се има во предвид дека и двата параметри го покажуваат бројот на бактерии во мл. млеко а разликата е само во мерната единица. Во графиконот бр. 2 се прикажани вредностите за бројот на бактериите во мл. млеко кај сите три групи првотелки.

цираните крави имале SCC помал од 100.000/ml, а кај 80% од нив овој број бил помал од 200.000/ml. Нашето истражување покажува дека постои разлика во бројот на соматски клетки во различни стадиуми од првата лактација, меѓутоа тие најверојатно се последица на различниот инфективен статус на млечните жлезди. Имено, ако се спореди варирањето на SCC по групи со она на бројот на бактерии (IBC и CFU), ќе се забележи дека редоследот на варирање на трите параметри е ист, односно првата група која има највисок SCC има и најмногу бактерии во мл. млеко, а втората група која има најнизок просечен SCC има и најмалку бактерии во мл. млеко.

Графикон 2. Број на бактерии за сите три групи првотелки



Од добиените резултати може исто така да се забележи дека млекото од првотелките на оваа фарма имаше доста низок број на бактерии односно просечните вредности за сите три групи беа доста пониски од законскиот лимит од 100.000/ml. Сметаме дека вака релативно нискиот број на бактерии се должи на неколку фактори: примероците млеко беа земани директно од вимето што значи дека беше исклучена можноста за контаминација од системот за измоловување; примероците беа земани со запазување на сите принципи за асептичност; млекото за анализа потекнуваше исклучиво од првотелки кои генерално ретко имаат проблем со маститиси; на оваа фарма редовно спроведуваше миење на боските пред првотелки.

измоловување како и нивно потопување во јоден препарат по измоловувањето.

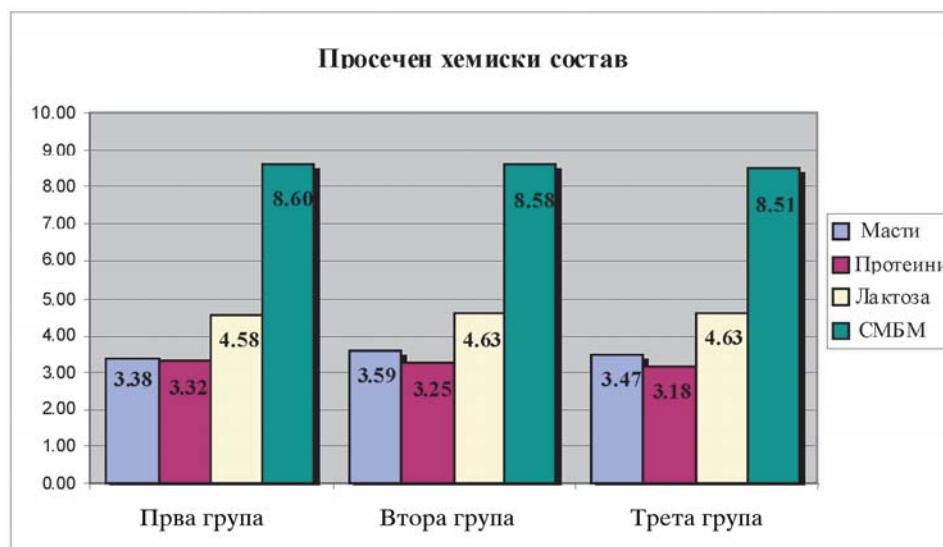
• Процентуална застапеност на млечните компоненти

Каде првата група првотелки мастите во просек беа застапени со 3.38%, протеините со 3.32%, лактозата со 4.58%, а СМБМ со 8.60%. Првотелките од втората група имаа во просек: 3.59% масти, 3.25% протеини, 4.63% лактоза и 8.58% СМБМ. Првотелките со 201 и повеќе денови во лактација (од трета група) имаа во просек: 3.47% масти, 3.18% протеини, 4.63% лактоза и 8.51% СМБМ. Во табела бр. 2 ги прикажуваме просечните вредности за млечните компоненти кај сите три групи првотелки.

Табела 2. Просечен хемиски состав на млекото кај сите три групи првотелки

Млечна компонента (%)	Денови во лактација		
	10 - 100	101 - 200	≥ 201
Масти	3.38	3.59	3.47
Протеини	3.32	3.25	3.18
Лактоза	4.58	4.63	4.63
СМБМ	8.60	8.58	8.51

Разликите во вредностите за млечните компоненти кај сите три групи се изнесени во графиконот бр. 3.

Графикон 3. Просечни вредности за хемискиот состав на млекото кај сите три групи првотелки

● Статистичка сигнificantност на разликите помеѓу испитуваните параметри

Разликите во прикажаните вредности за испитуваните параметри ги тестиравме со едносмерна анализа на варијанса (ANOVA), а таму каде што овој тест покажа сигнificantна разлика на ниво $P<0.05$ го применивме Tukey тестот за секој пар посебно. Сумираните резултати од овие тестови ги прикажуваме во tabela бр. 3.

компоненти не беа доволно големи за да бидат значајни на ниво $P<0.05$.

Од добиените резултати можеме да заклучиме дека најверојатно при број на соматски клетки до 235.935/ml и CFU до 25.044/ml односно IBC до 31.294/ml. не доаѓа до позначајни промени во содржината на главните млечни компоненти. Овие резултати се во согласност со истражувањата на други автори (5) кои наоѓаат дека содржината на

Табела 3. Варирање на показателите на хигиенската исправност и квалитетот на млекото кај сите три групи првотелки

Параметар	Прва група	Втора група	Трета група
SCC	235.935 ± 80.705^a	143.088 ± 46.229^b	181.039 ± 63.650^c
IBC	31.294 ± 8.310^a	15.014 ± 4.597^b	24.311 ± 8.043^c
CFU	25.044 ± 8.214^a	12.099 ± 4.680^b	19.418 ± 8.073^c
Масти	3.38 ± 0.26^a	3.59 ± 0.16^a	3.47 ± 0.16^a
Протеини	3.32 ± 0.12^a	3.25 ± 0.12^a	3.18 ± 0.15^a
Лактоза	4.58 ± 0.12^a	4.63 ± 0.11^a	4.63 ± 0.15^a
СМБМ	8.60 ± 0.16^a	8.58 ± 0.15^a	8.51 ± 0.21^a

¹Аритметичка средина ± стандардна девијација за 167 примероци од прва, 176 од втора и 175 примероци млеко од трета група

^{a,b,c} Во еден ист ред аритметичките средини кои се означени со различни букви се статистички сигнificantни на ниво $P<0.05$.

Од оваа tabela може да се забележи дека статистички сигнificantни разлики беа утврдени само помеѓу бројот на соматските клетки и бројот на бактериите. Разликите во просечните вредности на млечните

лактозата и на вкупната сува материја се намалуваат при SCC поголем од 1.000.000/ml.

● Корелации помеѓу испитуваните параметри

Заради утврдување на влијанието на бројот на соматските клетки и број на бактерии врз содржината на поедините млечни компоненти, помеѓу овие параметри беше пресметан коефициентот на корелација (r).

Добиените резултати се изнесени во tabela бр. 4.

Табела 4. Коефициенти на корелација помеѓу испитуваните параметри

		SCC	IBC	CFU	Масти	Протеини	Лактоза	СМБМ
Прва група	SCC	--	0.91**	0.91**	-0.37	-0.29	-0.55	-0.78*
	IBC	--	--	0.99**	-0.48	-0.35	-0.34	-0.65
	CFU	--	--	--	-0.46	-0.37	-0.33	-0.66
Втора група	SCC	--	0.74*	0.74*	-0.11	-0.12	-0.26	-0.20
	IBC	--	--	0.99**	-0.15	-0.29	-0.38	-0.36
	CFU	--	--	--	-0.15	-0.28	-0.39	-0.36
Трета група	SCC	--	0.83*	0.85**	-0.02	0.03	-0.07	-0.06
	IBC	--	--	0.99**	0.06	0.20	0.01	0.17
	CFU	--	--	--	0.16	0.16	0.01	0.13

* $P<0.05$, ** $P<0.01$

Од прикажаните резултати може јасно да се види дека без разлика на денот во лактација бројот на соматски клетки е во силна и позитивна корелација со бројот на бактерии што е во согласност со некои претходни истражувања (2, 6, 7, 12) во кои е најдено дека SCC првенствено зависи од инфективниот статус на млечната жлезда. Исто така од табела бр. 4 може да се забележи дека бројот на соматски клетки и бројот на бактерии е генерално во негативна корелација со содржината на млечните компоненти, но со исклучок на корелацијата помеѓу SCC и СМБМ кај првата група, сите останати корелации не беа доволно силни за да бидат статистички сигнификантни. Најверојатно со зголемување на бројот на соматски клетки и бактерии во млекото оваа негативна поврзаност станува посилна и преминува во сигнификантна.

ЗАКЛУЧОК

Врз основа на резултатите од ова истражување може да се заклучи следново:

- Кај првотелките бројот на соматските клетки беше највисок во првата третина од лактацијата со просечна вредност од 235.935/ml, за во втората третина да опадне и во последната третина повторно да се зголеми;
- Кај сите три групи првотелки SCC беше позитивно и сигнификантно поврзан со бројот на бактерии од што може да се заклучи дека бројот на соматските клетки кај првотелките примарно зависи од инфективниот статус на млечната жлезда додека сите останати физиолошки и амбиентални фактори имаат минорно значење;
- Млекото кое има до 235.935 SCC/ml и до 25.044 CFU/ml односно 31.294 IBC/ml не покажува сигнификантни промени во содржината на масти, протеини, лактоза и сува материја без масти. Кај првотелките, промени во содржината на овие млечни компоненти можно е да се очекуваат при повисок број на соматски клетки и бактерии, односно при посилен воспалителен процес во млечната жлезда.

CORRELATIONS AMONG SOMATIC CELL COUNT, HYGIENIC SAFETY AND QUALITY OF MILK OF PRIMIPAROUS COWS

Adamov Nikola¹, Petkov Vladimir², Atanasov Branko³

¹Department of Animal Breeding - Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

²Department of Functional Morphology, Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

³Department of Reproduction - Faculty of Veterinary Medicine - Skopje

e-mail: adamovn@gmail.com

ABSTRACT

In this work we examined a total of 518 milk samples on the following parameters: somatic cell count (SCC), total bacteria count (CFU and IBC), fat, protein, lactose and dry matter non fat (DMNF) contents, which were obtained from primiparous cows divided in three groups depending on the stage of lactation: the first group included the primiparous cows that were 10-100 days in lactation, the second group 101-200 days in lactation and the third group 201 and more days in lactation.

The somatic cell count and the total bacterial count had highest values for the first group, intermediate for the third group, and lowest for the second group with these differences being statistically significant. Milk component contents varied among groups differently from previous two parameters but their differences were not significant in neither case.

The somatic cell count of all three groups was positively and significantly correlated to the bacterial counts while these two parameters were generally in negative correlation with the milk component contents. No matter if the parameters that define the milk hygienic safety were positively or negatively correlated with the milk component contents, the correlation coefficients were not significant in neither case, which implies that significant reduction of milk components can be expected at somatic cell counts higher than the maximal obtained in this research of 236.000 SCC/ml.

Key words: somatic cell count, total bacterial count, milk quality, subclinical mastitis, hygienic safety and quality of cows milk

ЛИТЕРАТУРА

1. Burvenich, C., A.J. Guidry, M.J. Paape. 1995. Natural defense mechanisms of the lactating and dry mammary gland (overview paper). Proc. 3rd IDF Int. Mastitis Seminar. Tel Aviv, Israel.
2. De Haas, Y., R.F. Veerkamp, H.W. Barkema, Y.T. Grohn, Y.H. Schukken. 2004. Associations between pathogen specific cases of clinical mastitis and somatic cell count patterns. J. Dairy Sci. 87: 95-105.
3. De Vliegher, S., Barkema H.W., Stryhn H., Opsomer G., De Kruif A. 2005. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. J. Dairy Sci. 88: 938-947.
4. Dohoo, I.R. and A.H.Meek. 1982. Somatic cell counts in bovine milk. Can. Vet. J. 23:119-125.
5. Eberhart, R.J., H.C. Gilmore, L.J. Hutchinson, S.B. Spencer. 1979. Somatic cell counts in DHI samples. Proc. Ann. Mtg. Natl. Mastitis Counc., p. 32.
6. Erski-Biljić, Milanka, M. Žutić, B. Palaševski, S. Romanić. 1996. Preventivne mere za sprečavanje infekcije vimena i uticaj mastitisa krava na higijensku ispravnost mleka i proizvoda od mleka. Vet. glasnik 50 (5-6): 439-445.
7. Fernandes, A.M., C.A.F. Oliveira, P. Tavolaro. 2004. Relationship between somatic cell counts and composition of milk from individual Holstein cows. Arq. Inst. Biol. 71 (2): 163-166.
8. Harmon, R.J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J. Dairy Sci. 77:2103-2112.
9. Harmon, R.J. 2001. Somatic cell counts: A primer. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings.

10. Jones, G.M., T.L. Bailey Jr. 1998. Understanding the basics of mastitis. *Dairy Sci.* publication: 404-233.
11. Katić, V. 2007. Broj somatskih ćelija u oceni kvaliteta mleka. *Savremena poljoprivreda* 56 (5): 33-41.
12. Katić, V., S. Boboš, J. Jurca. 1990. Značaj preventivnih mera u suzbijanju mastitisa. *Veterinarski glasnik* 44 (3-4): 299-308.
13. Kehrli, M.E. Jr., D.E. Shuster. 1994. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 77: 619-627.
14. Miller, R.H., M.J. Paape, L.A. Fulton. 1991. Variation in milk somatic cells of heifers at first calving. *J. Dairy Sci.* 74: 3782-3790.
15. Miller, R.H., U. Emanuelsson, E. Persson, L. Brolund, J. Filipsson, H. Funke. 1983. Relationships of milk somatic cell counts to daily milk yield and composition. *Acta Agric. Scand.* 33: 209-223.
16. Правилник за посебните барања за безбедност и хигиена и начинот и постапката на вршење на службени контроли на млекото и млечните производи. Службен весник на РМ бр. 151/07.
17. Radinović, M., S. Boboš, Mira Mihajlović-Ukropina, Marija Nešić. 2008. Uticaj patogena prvog reda na higijensku ispravnost mleka. *Savremena poljoprivreda* 57 (3-4): 39-45.
18. Regulation (EC) No 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin. Official Journal of the European Union of 25.6.2004.
19. Sandholm, M., T.H. Buzalski, L. Kaartinen, S. Pyorala. 1995. The bovine udder and mastitis. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, Helsinki.

