

Contagem de micro-organismos indicadores em leite cru obtidos por ordenha não mecanizada e mecanizada de propriedades do recôncavo baianoⁱ

Count of microorganisms in milk obtained by milking mechanized and mechanized not of reconcavo baiano

Aline Batista Sandes^{II}, Ludmilla Santana Soares e Barros^{II*}, Maria Helena Silva^{III},
Évelin S. Vasconcelos dos Santos^{II}

ⁱTrabalho extraído de dissertação de mestrado do primeiro autor.

^{II}Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas (CCAAB) da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB). Rua Rui Barbosa, 710, Centro, Cruz das Almas, Bahia, CEP, 44380-000. *Autora para correspondência. barros@ufrb.edu.br. 55 75 88178671.

^{III}. Escola de Veterinária da Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Resumo: O leite devido sua composição rica em nutrientes, favorecem a proliferação de micro-organismos, juntamente com as falhas na ordenha. Por isso, o leite dever ser sempre objeto de estudos microbiológicos, para conhecer a sua real condição de higiene. Esse trabalho teve como objetivo determinar as contagens mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, psicrotróficos e *Staphylococcus* coagulase positivo em leite cru obtido por ordenha não mecanizada e mecanizada em propriedades do Recôncavo Baiano e avaliar as propriedades quanto a higiene da ordenha e a sanidade do rebanho. Os resultados encontrados foram 90% das 18 propriedades não mecanizadas apresentavam falhas na higiene e limpeza da ordenha, somente 01 mecanizadas apresentou falhas nos procedimentos de higiene e limpeza na ordenha. Das amostras de leite provenientes de ordenha não mecanizadas 5,55%, atendem a IN 51 e apenas 25% da ordenha mecanizada. Quanto aos fungos filamentosos e leveduras os resultados variaram de $7,0 \times 10^3$ UFC/mL a $4,0 \times 10^9$ UFC/mL em amostras de leite provenientes de ordenha não mecanizada e de $<1,0 \times 10^1$ UFC/mL a $1,9 \times 10^7$ UFC/mL de ordenha mecanizada. Nas amostras provenientes de ordenha não mecanizada não foi verificado a presença de micro-organismos psicrotróficos, assim como cinco das amostras de leite obtidas por ordenha mecanizada, enquanto nas demais amostras os resultados variaram de $3,4 \times 10^5$ UFC/mL a $1,0 \times 10^7$ UFC/mL Neste estudo não foi encontrada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de leite.

Palavras-chave: mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, psicrotróficos e *Staphylococcus* coagulase positiva, leite *in natura*.

Abstract: The milk because its composition is rich in nutrients, favoring the proliferation of micro-organisms along with gaps in milking. By isse, milk should always be subject to microbiological studies, exploring its real hygienic condition. This

study aimed to determine the mesophilic aerobic counts, yeasts and molds, psychrotrophic and coagulase positive *Staphylococcus* in raw milk obtained by non-mechanized and mechanized milking in the Reconcavo Baiano and evaluate properties as the hygienic- sanitary milking and the health of the herd. The results were 90 % of 18 non-mechanized properties presented failures in hygiene and cleanliness of milking, only 01 had flaws in mechanized procedures of hygiene and cleanliness in milking. Samples of milk from milking not mechanized 5.55%, IN 51 and meet only 25 % of mechanized milking. As for yeasts and the results ranged from 7.0×10^3 CFU / mL to 4.0×10^9 CFU / ml in milk samples from non-mechanized milking and <1.0 to 1.9×10^1 CFU/mL $\times 10^7$ CFU/mL mechanized milking. In the samples from non-mechanized milking has not established the presence of psychrotrophic micro-organisms, as well as five of the milk samples obtained by mechanized milking , while in other samples the results vary from 3.4 to 1.0×10^5 CFU/mL $\times 10^7$ CFU/mL this not study the presence of coagulase positive *Staphylococcus* was found in milk samples.

Keywords: aerobic mesophilic, filamentous fungi and yeasts, and *Staphylococcus* coagulase positive psychrotrophic, fresh milk.

*Autora para correspondência. *barros@ufrb.edu.br.

Recebido em 10.2.2016. Aceito em 22.8.2016

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20160033>

Introdução

Todos os alimentos são passíveis de contaminação através da ação dos micro-organismos patogênicos ou pelas suas toxinas podendo ocasionar DTA's. Com o leite não poderia ser diferente, devido sua composição ser rica em nutrientes como proteínas, lactose, gordura e sais minerais que favorecem a proliferação de bactérias, fungos filamentosos e leveduras. Sendo sua qualidade definida através de parâmetros da sua composição química, características físico-químicas e de higiene.

Até o momento de ser excretado nos alvéolos da glândula mamária sadia o leite é estéril, existindo grande

possibilidade de sofrer contaminação microbiológica devido a falhas durante a ordenha, processamento, transporte, superfícies e utensílios ou do próprio ambiente contaminados. Todos esses fatores favorecem diretamente o crescimento de micro-organismos patogênicos, podendo atingir números da ordem de milhões de bactérias por mL.

Os principais grupos de micro-organismos patogênicos são: os mesófilos, que se multiplicam rapidamente quando o leite não é armazenado sob refrigeração e os psicrotóxicos, que se multiplicam em temperaturas baixas. Devido a existência de falhas ligadas a

temperaturas inadequadas de conservação, comumente pode ocorrer a existência de produtos lácteos com características microbiológicas fora dos padrões regulamentares. Portanto é praticamente impossível se obter um leite livre de micro-organismos contaminantes. Por essa razão a legislação define parâmetros aceitáveis, com base nas alterações que determinado número de micro-organismos podem causar ao leite e seus derivados, servindo a sua presença como indicador das condições sanitárias em que o leite foi obtido até o chegar o consumo.

Por esta razão, o leite deve ser sempre objeto de estudos microbiológicos, que irão refletir a sua real condição higiênica relacionadas com a produção, armazenamento,

Materiais e Métodos

Coleta de Amostras

As amostras de leite *in natura* foram coletadas no período de novembro de 2012 a abril de 2013, em 26 propriedades leiteiras na região do

transporte e manuseio, com a finalidade de eliminar a possibilidade da ocorrência das chamadas DTA's.

Objetivos

- Determinar as contagens de micro-organismos mesófilos aeróbios, fungos filamentosos e leveduras, psicrotóxicos e *Staphylococcus* coagulase positivo em leite cru obtidos por ordenha não mecanizada e mecanizada na região do Recôncavo Baiano;
- Avaliar as propriedades fornecedoras das amostras de leite de acordo com os parâmetros higiênico-sanitário através de aplicação de questionário sobre a ordenha e a sanidade dos animais;
- Comparar os dados obtidos das amostras pesquisadas tendo como parâmetro a IN 51 (2002) e IN 62 (2011) do Ministério da Agricultura da Pecuária e do Abastecimento.

Recôncavo Baiano, nos municípios de Teodoro Sampaio, Belém-Distrito de Cachoeira, São Gonçalo, Conceição de Feira e São Francisco do Conde.

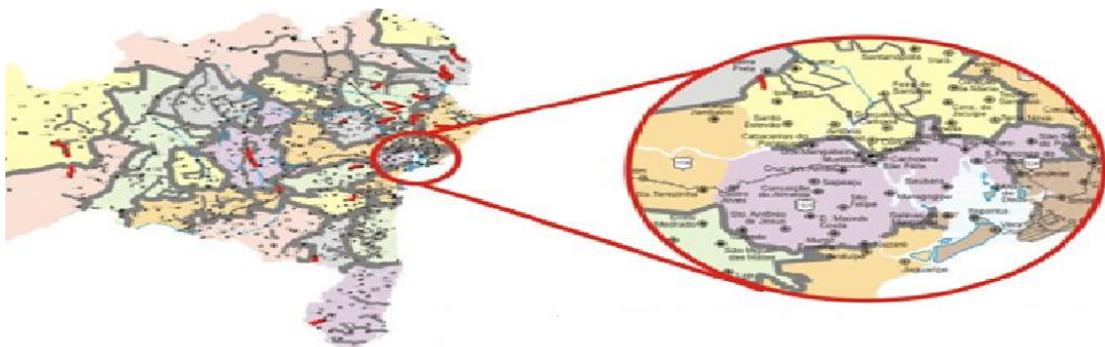


Figura1: Mapa da Bahia com destaque para a região do Recôncavo Baiano.

Inicialmente foram divididas em 02 grupos de estudo, 18 propriedades em que se encontraram fazendas com ordenhas não mecanizadas (as amostragens foram realizadas diretamente) dos latões nas propriedades, em pontos de coletas ou caminhão transportador e 08 propriedades com ordenhas mecanizadas (Figura 2) as amostragens foram retiradas diretamente do tanque de expansão, onde às medidas profiláticas de controle de qualidade higiênica do leite eram rigorosas e realizadas diariamente.

Das 18 propriedades não mecanizadas aproximadamente 80% dos animais são mestiços mantidos a pasto, e ordenhados uma vez ao dia, com produção de 66,6 litros/dia, com sistema “balde ao pé” e com a presença de bezerro. O leite é mantido em latões alguns plásticos e outros de metal e recolhido diariamente pela manhã pelo caminhão transportador ou levados diretamente até a propriedade um. Foram aplicados questionários individuais em cada propriedade, com o objetivo de conhecer as condições

higiênicas antes, durante e após o processo de ordenha e a sanidade dos animais.

Contendo as seguintes informações: tipo de ordenha; horário das ordenhas; volume de produção; origem da água e se a mesma era clorada ou não; como era realizada a limpeza do estábulo; dos equipamentos; de tetos e do ordenhador.

Adicionalmente foi realizado um levantamento sobre a sanidade das vacas e das técnicas de armazenagem do leite pós-coleta.

Em cada propriedade foi coletada 500 mL de leite *in natura* (01 amostra da ordenha matinal). Sendo imediatamente armazenadas em frascos estéreis devidamente identificados com nome da propriedade e a data de coleta.

Em seguida, as amostras foram transportadas em caixas de isopor com gelo e enviadas para o laboratório do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas (CAABB) da Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), onde foram mantidas sob refrigeração e imediatamente submetidas as análises microbiológicas.



Figura 2. Sala específica para ordenha mecanizada.

Contagem de Mesófilos Aeróbios

As amostras foram homogeneizadas e em seguida retirou-se uma alíquota de 1mL de cada amostra de leite *in natura*, onde foi preparada diluições em série de 10^0 a 10^{-8} de leite diluído em 9 mL de solução salina peptonada a 0,1%.

Posteriormente, foi retirado 1mL das diluições sequenciais e transferidas para placas de Petri em duplicata, onde verteu-se 25 mL de Ágar Contagem Padrão (ACP) fundida anteriormente a 45° C, depois, as placas (contendo a amostra e o ágar) foram suavemente homogeneizadas, numa superfície plana, com movimentos circulares

suaves, em forma de “8”. Após a solidificação à temperatura ambiente, as placas foram invertidas e incubadas em estufa, a 35°C, por 48 ± 3 horas.

A contagem foi efetuada em um contador de colônias (modelo CP 608, Phoenix – Araraquara, Brasil) (Figura 3) restringindo-se àquelas placas que apresentaram crescimento no intervalo de no mínimo 25 e no máximo 250 unidades formadoras de colônias (UFC) por placa e os resultados foram obtidos através da média do número de colônias encontrados nas placas de Petri expresso em unidades formadoras de colônia por mL de amostra (UFC/mL) (APHA, 2001; BRASIL, 2003).

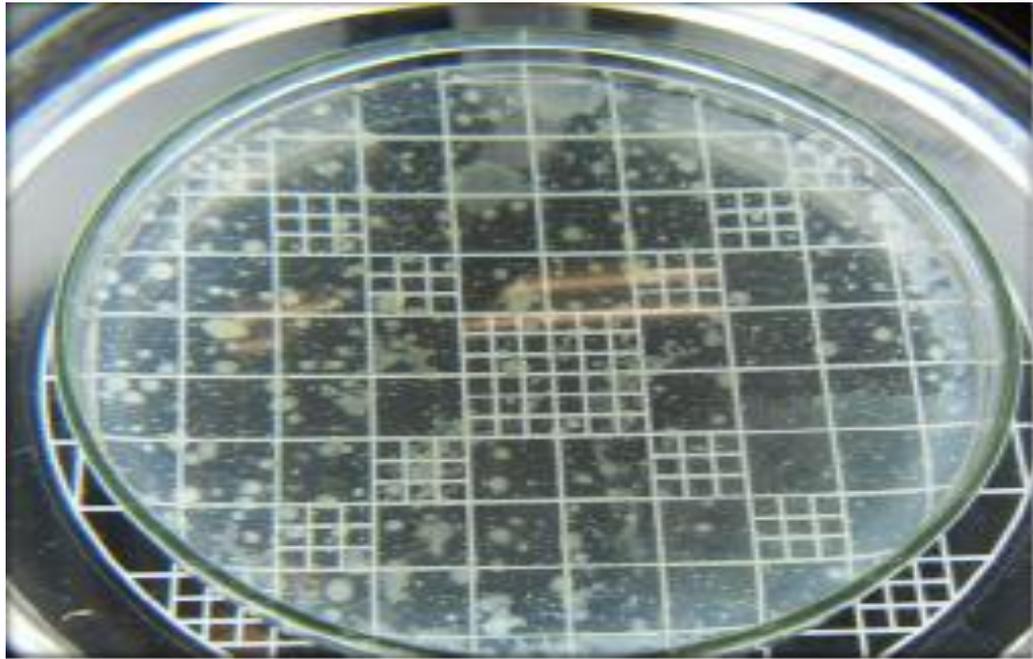


Figura 3: Contador de colônias - mesófilos aeróbios.

Fungos Filamentosos e Leveduras

A partir de 1mL de cada amostra de leite cru foram preparadas diluições seriadas, empregando-se como solução diluidora 9 mL de solução salina

peptonada a 0,1%. Em seguida, 0,1mL das diluições sequencias foram inoculadas sobre a superfície contendo Ágar Sabouraud (ASB) (Figura 4).



Figura 4. Placa de Petri colônias contendo fungos filamentosos e leveduras.

A incubação das placas foi realizada em temperatura de $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$

por 7 e 15 dias em incubadora BOD (demanda bioquímica de oxigênio). A

leitura foi efetuada no sétimo dia e no décimo quinto dia nas placas que

Contagem de Psicotróficos

A partir de 1mL de cada amostra de leite cru foram preparadas diluições seriadas, empregando-se como solução diluidora 9 mL de solução salina peptonada a 0,1%. Em seguida, 0,1mL das diluições seqüenciais, foram inoculadas sobre a superfície contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) e espalhadas com alça de Drigalski. A incubação foi realizada em temperatura de $8^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ por cinco dias (BRASIL, 2003).

A contagem das placas efetuou-se em um contador de colônias (modelo CP 608, Phoenix – Araraquara, Brasil), observando o intervalo de no mínimo 25 e no máximo 250 unidades formadoras de colônias (UFC) por placa e os resultados foram obtidos através da média do número de colônias encontrados nas placas de Petri expresso em unidades formadoras de colônia por mL de amostra (UFC/mL) (APHA, 2001; BRASIL, 2003).

Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

A partir de 1mL de cada amostra de leite cru foram preparadas diluições seriadas empregando-se como solução diluidora 9 mL de solução salina peptonada a 0,1%. Em seguida, 0,1 mL das diluições seqüenciais foram

continham entre 30 e 350 colônias (BRASIL, 2003).

inoculadas sobre a superfície contendo Ágar Baird-Parker e espalhadas com alça de Drigalski. A incubação foi realizada em temperatura de $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ de 24 a 48 horas. Foram selecionadas cinco colônias típicas (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por halo claro) e cinco colônias atípicas para semeadura em tubos contendo Brain Heart Infusion (BHI), a incubação foi realizada em temperatura de $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24 horas (BRASIL, 2003).

Prova da coagulase

Foi transferido 0,3 mL de cada tubo de cultivo em BHI, em tubos estéreis contendo plasma de coelho. A incubação foi realizada em temperatura de $36^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ por 6 horas. Verificou-se a presença de coágulos e observou-se os seguintes critérios:

Reação 1+: coágulo pequeno e desorganizado.

Reação 2+: coágulo pequeno e organizado.

Reação 3+: coágulo grande e organizado.

Reação 4+: coagulação de todo conteúdo do tubo que não se desprende quando o mesmo é invertido.

A presença de *Staphylococcus aureus* foi determinada quando a reação for do tipo 3+ e 4+. Quando houver

reação 1+ e 2+ os tubos foram repicados em caldo BHI para realização de testes complementares (coloração de Gram, termonuclease, catalase).

Análise Estatística

A análise de variância dos resultados e as médias dos mesmos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao final de 5% de probabilidade (BANZANATTO & KRONKA, 1992).

Resultados e Discussão

De acordo com o questionário aplicado *in loco* antes da coleta das amostras de leite, as propriedades produtoras de leite apresentaram práticas distintas de higiene, onde 90% das 18 propriedades não mecanizadas pesquisadas apresentavam falhas nos procedimentos de higiene e limpeza antes da ordenha, a exemplo utilização de água não tratada e não clorada e o não uso de toalhas descartáveis (Tabela 2).

Com relação aos cuidados profiláticos de doenças todas as propriedades não mecanizadas vacinavam seus animais contra Febre Aftosa, Brucelose e Raiva. Com base nas informações 16 das 18 propriedades só requisitavam o Médico Veterinário caso houvesse problemas atípicos. Estas não faziam o controle do uso de vermífugos e de carrapaticidas, já as duas propriedades que recebem a visita

mensal do Médico Veterinário agendavam períodos, doses e princípio ativo tanto do vermífugo quanto do carrapaticida a serem utilizados.

Quando questionados em relação à presença de mastite nos animais, todos os ordenhadores disseram que raramente ocorre, mesmo tendo constatado que o teste para este diagnóstico não era realizado diariamente pelo ordenhador.

Relatou-se que em todas as propriedades executavam-se práticas de limpeza dos utensílios e dos equipamentos e higienização dos tetos das vacas. Mas o que na prática observou-se foi que a água utilizada não era de fonte segura, não era realizada a cloração desta água nem controle microbiológico, sendo na maioria das propriedades proveniente de poços artesianos e/ou aguadas onde se coletava com vasilhames sem higienização adequada, além também de serem utilizadas pelos animais das propriedades.

Em 15 propriedades não mecanizadas os ordenhadores não utilizavam qualquer tipo de uniforme especial para a função, com exceção de uma propriedade e as práticas de higienização dos tetos e dos utensílios eram realizadas de forma inadequada e sem critérios e principalmente por que

não usavam papel toalha descartáveis e sim panos reutilizáveis.

Somente em uma propriedade rural foi observada a presença de sanitário próximo ao estábulo.

Com relação aos animais que pertencem as 08 propriedades mecanizadas são mais selecionados quando comparados ao sistema anterior.

Recebem ração e suplementos minerais nos cochos e tem acesso ao pasto. Produzem em média 8.000 L/dia, a ordenha é realizada duas vezes ao dia em sala específica, com sistema fechado. O leite obtido é refrigerado em tanque de expansão e a cada 02 dias transportado por um caminhão isotérmico.

Tabela 2. Resultados do questionário aplicados nas propriedades não mecanizada e mecanizada do Recôncavo Baiano.

| Características | Ordenha não mecanizadas | Ordenha mecanizadas |
|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Pré-dipping | 90% faz mais com restrições | 100% faz |
| Diagnóstico preventivo | 90% Não realiza | 100% Realiza |
| Número de ordenha | 01 | 02 |
| Higienização das tetas | 90% insuficiente | 90% suficiente |
| Resfriamento do leite | 90% não resfriam | 100% resfriam |
| Água tratada | 90% não tinham | 100% tinham |
| Vermífugo e carrapaticida | 80% não tinham controle | 100% utiliza com controle |
| Uso de vacina | Sim | Sim |
| Produção de leite | 66,6 litros /dia | 8.000 litros /dia |
| Armazenamento do leite | 90% Latões plásticos | 100% Tanque de expansão |
| Uso de uniforme | 80% não utilizam | 100% utilizam |

Constatou-se que somente uma das 08 propriedades mecanizadas pesquisadas, havia falhas nos procedimentos de higiene e limpeza

antes, durante a ordenha. Em relação aos cuidados profiláticos de doenças e parasitoses, todas as propriedades vacinavam seus animais contra Febre

Aftosa, Brucelose e Raiva e tinham maior controle das doses de vermífugo e de carrapaticida que são utilizados além de possuírem assistência mensal do Médico Veterinário. Com relação ao controle de mastite todos os ordenadores disseram que raramente ocorre e afirmaram categoricamente que fazem o teste para este diagnóstico diariamente. Constatou *in loco* que a maioria das propriedades executavam práticas de limpeza dos utensílios e dos equipamentos e higienização dos tetos das vacas, utilizando pastilhas de cloro e as teteiras com álcool iodado e utilizavam papel toalha descartáveis. A água utilizada era na maioria proveniente de poços artesianos. Todos os ordenadores utilizavam uniforme especial para a função e tinham sanitários a sua disposição nos estábulos. Segundo as Tabelas 3 e 4, a contagem de micro-organismos mesófilos aeróbios do leite obtido através de ordenha não mecanizada variou de $5,0 \times 10^4$ UFC/mL a $2,5 \times 10^9$ UFC/mL, enquanto para o leite obtido mediante ordenha mecanizada variou de $3,0 \times 10^4$ UFC/mL a $9,0 \times 10^7$ UFC/mL (Tabelas 1 e 2) demonstrando que no leite obtido através ordenha não mecanizada os valores encontrados foram superiores,

tendo em vista que as amostras de leite foram coletadas diretamente do caminhão transportador e dos latões, em temperatura ambiente, além das condições higiênico-sanitárias inadequadas durante o processo da ordenha e transporte podem ter influenciado nos resultados. Ainda nas mesmas Tabelas 2 e 3 observa-se que não houve diferença estatística ao nível de 5% entre os dois sistemas de ordenha.

De acordo a IN 62 apenas 5,55% das amostras de leite obtidas através de ordenha não mecanizadas atenderam a esta legislação, enquanto para o leite produzido mediante ordenha mecanizada 25% estão de acordo com os parâmetros exigidos, que é $3,0 \times 10^5$ UFC/mL (BRASIL, 2006). Badini et al. (1996) nos municípios de Botucatu e de São Manuel, em São Paulo, Brasil, verificaram a ocorrência de 8,3% e 83,3% respectivamente em amostras com contagens de micro-organismos mesófilos e de coliformes totais acima dos limites máximos permitidos e a presença de 50,0% e 18,3% amostras contaminadas por cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva e por coliformes fecais, respectivamente. Apenas 8,3% das amostras mostraram-se dentro dos referidos padrões legais.

Tabela 3. Micro-organismos indicadores em leite cru obtidos por ordenha não mecanizadas de propriedades do Recôncavo Baiano, entre os meses de novembro de 2012 a abril de 2013.

| Propriedades | Mesófilos aeróbios (UFC/mL) | Bolores e leveduras (UFC/mL) |
|--------------|--------------------------------|------------------------------|
| 01 | 5,8x10 ⁶ Aa | 1,2X10 ⁶ Aa |
| 02 | 2,5x10 ⁹ Aa | 4,0x10 ⁹ Aa |
| 03 | 5,4X10 ⁶ Aa | 2,0x10 ⁵ Aa |
| 04 | 4,9x10 ⁶ Aa | 4,0x10 ⁵ Aa |
| 05 | 2,1X10 ⁵ Aa | 4,0X10 ⁵ Aa |
| 06 | 2,7X10 ⁵ Aa | 2,8x10 ⁶ Aa |
| 07 | 3,4X10 ⁷ Aa | 7,0X10 ³ Aa |
| 08 | 4,2X10 ⁷ Aa | 2.1X10 ⁸ Aa |
| 09 | 9,3X10 ⁶ Aa | 4,0x10 ³ Aa |
| 10 | 6,8X10 ⁶ Aa | 1,0X10 ⁴ Aa |
| 11 | 2,6 X10 ⁸ Aa | 1,3X10 ⁴ Aa |
| 12 | 3,0X10 ⁵ Aa | 1,5X10 ⁴ Aa |
| 13 | 8,1X10 ⁷ Aa | 1,9x10 ⁶ Aa |
| 14 | 3,0X10 ⁶ Aa | 8,0x10 ⁵ Aa |
| 15 | 7,6X10 ⁷ Aa | 3,0X10 ⁷ Aa |
| 16 | 4,9X10 ⁶ Aa | 1,0x10 ⁷ Aa |
| 17 | 5,0x10 ⁴ Aa | 7,5x10 ⁵ Aa |
| 18 | 6,0x10 ⁵ Aa | 4,0x10 ⁴ Aa |

Em cada linha valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Em cada coluna valores seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Em Brasília, DF, das 1.030 amostras coletadas, 23% do leite tipo C dessa amostragem foram reprovados. Os dados demonstraram que a contaminação do leite ocorria, em 48,4% das vezes, nas propriedades, em 22,5% nos caminhões usados no

transporte da matéria-prima até os entrepostos e em 28,7% nos pontos de venda do leite (GONTIJO, et al.,1998). Beloti et al. (1999) em Cornélio Procopio, Paraná pesquisando 42 amostras de leite cru comercializado, encontraram 59,52% das amostras com

contagem de mesófilos acima do permitido.

Tabela 4. Micro-organismos indicadores em leite cru obtidos por ordenha mecanizadas de propriedades do Recôncavo Baiano, entre os meses de novembro de 2012 a abril de 2013.

| Fazendas | Mesófilos Aeróbios (UFC/mL) | Bolores e Leveduras (UFC/mL) | Psicrotróficos (UFC/mL) |
|-----------------|--|---|------------------------------------|
| 19 | 3,0x10 ⁴ Aa | 3.0x10 ⁵ Aa | <1,0x10 ¹ |
| 20 | 6,0 x10 ⁴ Aa | 2,0x10 ⁵ Aa | <1,0x10 ¹ |
| 21 | 9,0 x10 ⁷ Aa | 7,0x10 ⁵ Aa | <1,0x10 ¹ |
| 22 | 1,1x10 ⁷ Aa | 6,3x10 ⁶ Aa | 1,0X10 ⁷ |
| 23 | 8,3x10 ⁵ Aa | 7,4x10 ⁶ Aa | 7,7X10 ⁵ |
| 24 | 9,2x10 ⁶ Aa | <1,0x10 ¹ Bb | <1,0x10 ¹ |
| 25 | 4,2x10 ⁵ Aa | 4,5x10 ⁵ Aa | 3,4X10 ⁵ |
| 26 | 7,2x10 ⁶ Aa | 1,9x10 ⁷ Aa | <1,0x10 ¹ |

Em cada linha valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%. Em cada coluna valores seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Catão et al. (2001) avaliando dois grupos que foram classificadas como amostras antes e pós mudança no processo de higienização da usina observaram elevada contaminação nas amostras de leite nas duas épocas.

Em Salvador (BA), foram avaliadas 20 amostras de leite no comércio varejista. Os resultados mostraram que 13 amostras apresentaram um número de bactérias

aeróbias mesófilas variando de 10² a 10⁶ UFC/mL (LEITE et al., 2002).

Santos & Bergmann (2003) pesquisando amostras de leite cru transportado em temperatura ambiente, encontraram 57,6% das amostras com contagens de 7,0 X10⁶. Machado et al. (2006) estudando a CBT de amostras de leite cru refrigerado em Santa Catarina encontraram médias geométricas superiores a um milhão de UFC/mL em

todos os meses pesquisados no período de outubro de 2005 a junho de 2006.

Dürr (2006), detectou valores entre 31,9% a 64,4% de amostras de leite cru no Estado do Rio Grande do Sul em desacordo com a legislação no primeiro ano de implementação da IN 51/2002 para Contagem Bacteriana Total, enquanto em análise de amostras de tanques de expansão individuais e comunitários demonstram-se variação entre as contagens de bactérias mesofílicas nas amostras coletadas em tanques individuais $2,5 \times 10^3$ UFC/mL a $3,0 \times 10^6$ UFC/mL. Os autores sugeriram que, em algumas propriedades, as práticas higiênicas utilizadas não garantiram uma contagem baixa do leite estocado sob-refrigeração (PINTO et al., 2006).

Foi realizado um trabalho através de questionário sobre características de produção, ordenha e cuidados sanitários em 60 propriedades leiteiras localizadas na região de Viçosa, MG – Brasil com contagem de aeróbios mesófilos foi abaixo de parâmetros nacionais e internacionais (BRASIL, 2006). De acordo com a IN 51, o padrão de qualidade microbiológica adotado para o leite cru refrigerado atualmente na região Sudeste é uma contagem de aeróbios mesófilos máxima de 10^6 UFC mL⁻¹, e 47 (78,3%) as amostras

coletadas apresentaram contagens abaixo desse valor (NERO et al., 2009).

No município de Major Isidoro-Alagoas o número de micro-organismos mesófilos variou de $1,8 \times 10^5$ UFC/mL⁻¹ a $2,2 \times 10^6$ UFC/mL⁻¹ (MELO et al., 2010). Em relação a fungos filamentosos e leveduras os resultados encontrados variaram de $7,0 \times 10^3$ UFC/mL a $4,0 \times 10^9$ UFC/mL em amostras de leite provenientes de ordenha não mecanizada enquanto que o leite obtido através de ordenha mecanizada os resultados variaram de $<1,0 \times 10^1$ UFC/mL a $1,9 \times 10^7$ UFC/mL (Tabelas 1 e 2). Apesar da legislação não preconizar exigências com relação a estes micro-organismos os resultados obtidos são de grande relevância, pois indicam as condições higiênico-sanitárias em que foi produzido o leite. Ainda nas mesmas tabelas 1 e 2, observa-se diferença significativa ao nível de 5%, na propriedade 24 onde o leite foi obtido através de sistema de ordenha mecanizada.

Melville et al. (2006), verificou uma média de 14×10^2 UFC mL⁻¹ para fungos em dez amostras de leite cru comercializado, informalmente e sem fiscalização, no interior do Estado de São Paulo. Citadin et al. (2009) pesquisando fungos filamentosos e leveduras em leite refrigerado obtidos

de tanque de expansão e de latões encontraram contagens que variaram de $5,5 \times 10^1$ a $1,2 \times 10^5$ UFC/mL e 64,51% das amostras apresentaram contagem acima de 100 UFC/mL, indicando higiene insatisfatória durante o processo de obtenção e deficiências do equipamento de ordenha..

Machado *et al.* (2012), no município de Parintins Estado do Amazonas, em três grupos denominados A, B e C encontraram os seguintes resultados médios para leveduras, em UFC mL⁻¹, foram $2,1 \times 10^3$ no grupo A, $2,5 \times 10^3$ no grupo B e $1,0 \times 10^4$ para o grupo C, enquanto que as médias de bolores foram de $4,5 \times 10^1$ para o grupo A, $13,0 \times 10^1$ para o grupo B e $5,0 \times 10^1$ UFC mL⁻¹ para o grupo C. Os autores afirmam ainda que a alta umidade relativa do ar da região amazônica pode ter contribuído para maior proliferação destes micro-organismos no ambiente.

Nas amostras provenientes de ordenha não mecanizada não foi verificado a presença de micro-organismos psicrotróficos, como também em 11,5% das amostras de leite obtidas por ordenha mecanizada, enquanto nas demais amostras os resultados variaram de $3,4 \times 10^5$ UFC/mL a $1,0 \times 10^7$ UFC/mL (Tabelas 1 e 2). Apesar da legislação brasileira não

estabelecer padrões para o leite cru em relação a estes micro-organismos. Estes resultados são preocupantes tendo em vista a produção de enzimas termoresistentes, além do desenvolvimento do sabor residual no leite pasteurizado.

Schimith *et al.* (2003) pesquisando leite cru em diversas regiões do Rio Grande do Sul, encontraram 16,66% das amostras com contagens de psicrotróficos entre 10^5 a 10^6 UFC/mL e 83,34% acima de 10^7 UFC/mL.

Em Goiás Santos *et al.* (2009), encontraram 14% das amostras de leite cru refrigerado em tanque de expansão com 10^6 UFC/mL e 20% apresentaram contagens de 10^5 UFC/mL, enquanto SANTOS & FONSECA (2003) também pesquisando leite refrigerado de tanques de expansão encontraram valores superiores a 10^6 UFC/mL.

No Rio de Janeiro e na região da Zona da Mata de Minas Gerais, em 20 amostras de tanques coletivos e 23 tanques individuais, as contagens de bactérias psicrotróficas nas amostras de leite para os dois tipos de tanques de refrigeração variaram entre 10^2 e 10^7 UFC mL⁻¹, porém, um maior número de tanques coletivos apresentou contagens acima de 1×10^5 UFC mL⁻¹. Foi verificada a predominância de bactérias psicrotróficas gram-negativas (81,2%).

As bactérias gram-positivas (18,8%) foram identificadas os gêneros: *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Cellum/Microbacterium*, *Kurthiae* *Staphylococcus*. Os resultados ressaltam que maior atenção deve ser dada aos procedimentos que impeçam a contaminação do leite por esses micro-organismos (ARCURI et al., 2006).

Foram coletadas 50 amostras de leite cru em dois laticínios no Rio Grande do Sul entre 2005 e 2006. Do total de amostras 20 foram provenientes de tanque isotérmico de caminhões e 20 amostras no segundo estabelecimento. Os valores médios encontrados foram entre 6,0 e 6,5 log UFC/mL de bactérias psicotróficas nos diferentes laticínios. A presença de contagens elevadas desses micro-organismos no leite evidencia a existência de falhas em procedimentos de manipulação e higienização, podendo comprometer a qualidade e diminuir a vida de prateleira do produto final. Estas bactérias podem ocasionar alterações indesejáveis no leite UAT, como a gelatinização e o desenvolvimento de sabor amargo (NOMBERG, 2009).

Em Umuarama (Paraná), foram coletadas amostras de leite do entreposto da Associação de Produtores da região no período de setembro de

2008 a julho de 2009. Observou-se diferença significativa ao nível de 5% nas concentrações de *Pseudomonas* spp. nos tempos avaliados, o que demonstra que a refrigeração inadequada e prolongada contribui para o aumento da concentração desses micro-organismos e das contagens elevadas de coliformes totais e coliformes termotolerantes, indicando inadequação higiênico-sanitária das amostras de leite (SILVA, 2010). Não foi encontrada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de leite analisadas.

Em Londrina (PR) e Pelotas (RS) em 101 amostras de leite cru, 19 (18,8%) apresentaram contagem acima de 10^5 UFC/mL, nenhuma das amostras apresentaram enterotoxina detectável no leite (SANTANA *et al.*, 2010).

Em Minas Gerais Lamaita et al (2005) pesquisando 80 amostras de leite cru refrigerado a 4°C e estocado por 48 horas em tanques refrigeradores de propriedades rurais do estado de Minas Gerais, encontraram contagem de *Staphylococcus* sp, em 100% das amostras de leite de tanque refrigerador, variando a contagens de $1,0 \times 10^5$ a $2,5 \times 10^7$ UFC/mL.

Santana *et al.* (2006) avaliaram 101 propriedade leiteiras na região de Londrina e Pelotas - RG, os resultados

finais demonstraram que das 101 amostras examinadas todas apresentaram contagens de estafilococos e das 552 colônias avaliadas, 256 eram coagulase positivas. Entretanto, em Itapetinga-BA os resultados para *S.aureus* em todas as amostras analisadas variaram de $2,5 \times 10^2$ a 2×10^6 UFC/mL (MACIEL *et al.*, 2008). Tebaldi *et al.* (2008) encontraram *Staphylococcus* coagulase positiva em 10 amostras de leite provenientes de tanques de expansão, cuja contagens variaram de $2,4 \times 10^3$ a $1,73 \times 10^7$ UFC/mL, os autores afirmam ainda que elevadas concentrações podem refletir problemas de sanidade do rebanho, como a presença de animais com mastite subclínica.

Considerações Finais

Diante dos dados encontrados nas propriedades leiteiras analisadas

pertencentes a região do Recôncavo Baiano e analisando-se a importância da qualidade do leite para a manutenção e ampliação dos mercados conquistados e a geração de renda para os produtores, torna-se necessário a realização de educação permanente direcionados aos manipuladores responsáveis pela ordenha com ênfase em higiene pessoal, PPHO e manejo adequado dos animais.

Além da realização de palestras com os produtores rurais, com vistas a prestar esclarecimentos sobre a necessidade e a importância da: adequação às exigências da legislação para a melhoria da qualidade do leite produzido e do investimento financeiro com relação a aquisição de ordenhadeiras mecânicas, resfriadores e a realização de algumas modificações em instalações quando necessário.

Referências

1. ARCURI, E.F.; BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ÂNGELO, F.F.; SOUZA, G.N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.58, N°3, p.440-446, 2006.
2. BADINI, K.B.; FILHO, A.N.; AMARAL, L.A.; GERMANO, P.M.L. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Rev. Saúde Pública**, 30(6): 549-52, 1996.
- BANZATTO, D.V.; KRONKA, S.N. **Experimentação agrícola**, Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1992. 247 p.
- BIANCHI, D.M.; BARBARO, A.; GALLINA S.; VITALE, N.; CHIAVACCI, L.; CARAMELLI, M.; DE CASTELLI, L. Monitoring of foodborne pathogenic bacteria in vending machine raw milk in Piedmont, Italy. **Food Control**, 32 (2013) 435 e 439.
3. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Leite; Instrução Normativa, n.51 de 18 de setembro de 2002. Brasília. 95p.
4. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa, n.62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/silegis>> Acesso em: 10 JAN.2013.
5. CATÃO, R.M.R.; CEBALLOS B.S.O. Título: LISTERIAS PP. Coliformes totais e fecais e E. Coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil) **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 21(3): 281-287, set.-dez. 2001.
6. CITADIN, Â.S.; POZZA, M.S.S.; POZZA, P.C.; NUNES, R.V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Rev. Bras. Saúde Prod. Anim.**, v.10, N°1, p.52-59, jan./mar, 2009.
7. DÜRR, J.W.; MORO, D.V.; RHEINHEIMER, V.; TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul. In: MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e Avanços da Qualidade do Leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. 352p. p.83-94.
8. GONTIJO, C.M.; BRANCO, A.B.A.; Avaliação microbiológica do leite pasteurizado e de derivados do leite no Distrito Federal, janeiro/1990 a dezembro/1996. **Ver. Saúde Dist. Fed.**, 1998; 9:27-32.
9. LAMAITA, H.C.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; CARMO, L.S.; SANTOS, D.A.; PENNA, C.F.A.M.; SOUZA, M.R. Contagem de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.57, N°5, p.702-709, 2005.
10. LEITE, C.C.; GUIMARÃES, A.G.; ASSIS, P.N.; SILVA, M.D.; ANDRADE, C.S.O. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador – Bahia. Bacteriological quality of whole milk type “c” commercialized in Salvador – Bahia. **Rev. Bras. Saúde Produção Animal**, 3(1):21-25, 2002. Publicação Online da EMV/UFBA.

11. MACIEL, J.F.; CARVALHO, E.A.; SANTOS, L.S.; ARAÚJO, J.B.; NUNES, V.S. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. **Rev. Bras. Saúde Prod. Animal**, ANº, v.9, Nº3, p. 443-448, jul/set, 2008.
12. MACHADO, P.F.; CASSOLI, L.D. Diagnóstico da qualidade do leite na Região Sudeste. In: MESQUITA, A.J., DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. 352p. 2006.
13. MACHADO, N.J.B.; LAUREANO, M.; M. M.; MOTA, D.A.; MATOS, Í.T.S.R.; BRASIL, R.J.M.; HOSHIBA, M.A. Caracterização da qualidade microbiológica do leite cru de propriedades do município Parintins-AM. **Rev. Cienc. Agrar.**, v. 55, n. 4, p. 327-331, out./dez. 2012.
14. MELO, B.A.; SANTOS, T.M.C.; BARBOSA, Y.R. S.; MOURA, C.T.R.; MONTALDO, Y.C. aspectos microbiológicos de amostras de leite cru coletadas no município de major isidoro – alagoas. **Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil)** v.5, n.5, p.01 - 05 (Numero Especial) dezembro de 2010.
15. MELVILLE, P.A.; RUZ-PERES, M.; YOKOIA, E.; BENITES, N.R. Ocorrência de fungos em leite cru proveniente de tanques de refrigeração e latões de propriedades leiteiras, bem como de leite comercializado diretamente ao consumidor. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 3, p. 295-301, 2006.
16. MORAES, C.R.; FUENTEFRIA, A.M; ZAFFARI, C.B.; CONTE, M.; ROCHA, J.P.A.V.; SPANAMBERG, A.; VALENTE, P.; CORÇÃO, G.; COSTA, M. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, 33(3): 259-264, 2005.
17. NERO, A; VIÇOSA, G.N.; PEREIRA, F.E.V. Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 29(2): 386-390, abr.-jun. 2009.
18. NÖMBERG, M.F.B.L.; TONDO, E.C. & BRANDELLI, A. Bactérias psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**, 37(2): 157-163.2009.
19. PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETT, M.C.D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicotróficas proteolíticas; **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 26(3): 645-651, jul.-set. 2006.
20. SANTANA, H.V.; BELOTI, V.; BARROS, M.A.F; MORAES, L.B.; GUSMÃO, V.V.; PEREIRA, M.S. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Micro-organismos mesófilos aeróbios e psicotróficos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, Nº2, p. 145-154, jul./dez. 2006.
21. SANTANA, E.H.W.; CUNHA, M.L. R.S.; OLIVEIRA, T.C.R.M.; MORAES, L.B.; ALEGRO, L.C.A.; BELOTI, V. Assesment of the risk of raw milk consumption related to staphylococcal food poisoning. **Cien. Anim. Bras.**, Goiânia, v. 11, n. 3, p.643-652, jul./set., 2010.
22. SANTOS, D.; BERGMANN, G.P. Influência da temperatura durante o transporte, sobre a qualidade microbiológica do leite cru. III - Psicotróficos. **Hig. Alim.**, v.17, p.86-91, 2003.

23. SANTOS, M.V.; FONSECA, L.F.L. Bactérias psicrotróficas ea qualidade do leite. **Revista CBQL**, v. 19, n. 1, p. 1215, 2003.
24. SANTOS, P.A dos; SILVA, M.A.P., SOUZA, C.M; ISEPON, J. dos; OLIVEIRA, A.N. Efeito do tempo e da temperatura de refrigeração no Desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos em leite Cru refrigerado coletado na macrorregião de Goiânia, GO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 4, p. 1237-1245, out./dez. 2009.
25. SCHMITT, A.; DÜRR, J.W.; SOARES, J. Contagens de mesófilos e de psicrotróficos em leite cru de diferentes regiões do Rio Grande do Sul. **Revista Higiene Alimentar**, v. 17, n. 104/105, p. 181, 2003.
26. SILVA, M.R. S.; SACANAVACCA, J.; GANDRAT.K.V.; SEIXAS, F.A.V.; GANDRA, E.A. **Avaliação higiênico-sanitária do leite produzido em umuarama (Paraná)** B.CEPPA, Curitiba, v. 28, Nº 2, p. 271-280, jul./dez. 2010.
27. TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, vol.28 Nº.3, Campinas July/Sept. 2008
28. TRYNESS, A.M.; MATOPE, G., SAIDI, T.P.; Aerobic bacterial, coliform, Escherichia coli and Staphylococcus aureus counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. T.A. Mhone et al. / **International Journal of Food Microbiology**, 151 (2011) 223–228.
29. VICENTE, H.I.G.; AMARAL, L.A; FIGUEIREDO, A.M. Shigatoxigenic Escherichia Coli Serogroups O157, O111 And O113 In Feces, Water And Milk Samples From Dairy Farms. Brazilian. **Journal of Microbiology**, (2005) 36:217-222.