



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
UNIDADE ACADÊMICA CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



Sybelle Georgia Mesquita da Silva

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO  
LEITE DE VACAS MESTIÇAS COLETADO EM SATUBA-AL**

Rio Largo, AL  
2015

Sybelle Georgia Mesquita da Silva

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO  
LEITE DE VACAS MESTIÇAS COLETADO EM SATUBA-AL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tania Marta Carvalho dos Santos

Rio Largo, AL  
2015

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**  
**Bibliotecária Responsável: Maria Helena Mendes Lessa**

S586q Silva, Sybelle Georgia Mesquita da.  
Qualidade microbiológica e contagem de células somáticas do leite de vacas mestiças coletado em Satuba, AL / Sybelle Georgia Mesquita da Silva. –Rio Largo, 2015.  
68 f. : il.

Orientadora: Tania Marta Carvalho dos Santos.  
Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2015.

Bibliografia: f. 55-68.

1. Higiene – Leite de vaca. 2. Contaminação - Leite. 3. Leite – Produção. 4. Qualidade – Leite. I. Título.

CDU: 637.12

## TERMO DE APROVAÇÃO

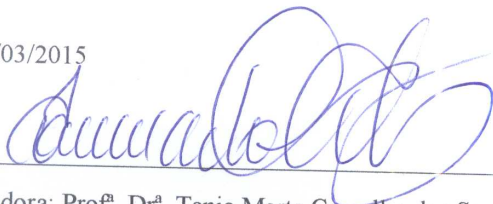
Sybelles Georgia Mesquita da Silva

### QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS DO LEITE DE VACAS MESTIÇAS COLETADO EM SATUBA – AL

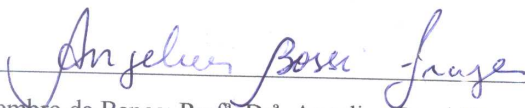
Esta dissertação foi submetida a julgamento como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Zootecnia, outorgado pela Universidade Federal de Alagoas.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

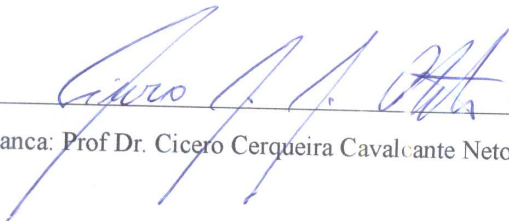
Aprovado em 02/03/2015



Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Tania Marta Carvalho dos Santos (CECA-UFAL)



Membro da Banca: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Angelina Bossi Fraga (CECA-UFAL)



Membro da Banca: Prof Dr. Cicero Cerqueira Cavalcante Neto (CECA-UFAL)

Rio Largo – AL  
2015

A Deus, minha razão de ser.  
À minha família, pelo apoio, orações e incentivo.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pois sem Ele nada posso fazer.

À minha família. Minha mãe Alzira Mesquita e minha avó Georgina Mesquita, que sempre me apoiaram. Ao meu pai Sylvio da Silva, pelo incentivo. Às minhas irmãs, companheiras, amigas e conselheiras, Daniella e Mayara Mesquita.

À minha orientadora, Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Tania Marta Carvalho dos Santos, que sempre tem uma solução pra tudo. Exemplo profissional e de caráter.

Ao meu companheiro de jornada Bruno Oliveira Araujo, pela ajuda e parceria.

Aos colegas de laboratório, em especial meus amigos Felipe Tenório e Yamina Montaldo. Obrigada pelo carinho, vocês são especiais.

Aos amigos Aécio Pinheiro e Anderson Neves, por estarem sempre dispostos a ajudar.

Aos professores José Ubaldo, Cícero Cerqueira Cavalcante Neto, Angelina Bossi Fraga e Aline Zampar.

À coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Patrícia Guimarães e aos funcionários Marquinhos e Michele, pelo auxílio prestado.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho, Obrigada!

“Que toda honra que eu venha receber, que seja só pra trazer Glória a Ti, Deus.”

## RESUMO

A qualidade microbiológica do leite pode ser definida como a estimativa da contaminação por micro-organismos, que está relacionada com a saúde da glândula mamária do rebanho e às condições gerais de manejo e higiene adotados na propriedade. A quantidade de células somáticas tem sido usada como importante ferramenta para o monitoramento da qualidade do leite. Objetivou-se verificar a qualidade microbiológica do leite cru e pasteurizado, contagem de células somáticas e contaminação do ambiente de ordenha em uma propriedade do município de Satuba. As análises seguiram metodologia descrita no "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" e do Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos. Foram realizadas coletas durante seis meses do ano de 2014. As amostras em cada etapa foram submetidas a contagens de aeróbios mesófilos em Agar Padrão de Contagem (PCA) a 28°C por cinco dias, psicotróficos em PCA 7°C por 10 dias, determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais (30°C por 48 horas), termotolerantes (45°C por 24 horas) e confirmação de *Escherichia coli*. Para análise de *Staphylococcus* spp, as amostras foram plaqueadas em meio específico (Baird-Parker Agár Base Himédia M043) e incubadas a 37°C/24h. Na detecção de *Salmonella* spp, utilizou-se meio de enriquecimento Selenito Cistina (37°C/24h) seguido de plaqueamento para o meio Salmonella Shigella Agar (Acumedia 7152A). Para *Listeria* spp, foi utilizado o meio de Aloa A®PROTAC (37°C/72h). As análises de composição química e Contagem de Células Somáticas foram realizadas pelo Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste. Todas as amostras apresentaram alta contagem padrão em placa, os resultados variaram entre 4,84 Log<sub>10</sub> a 5,78 Log<sub>10</sub> UFC/mL. Nas contagens de mesófilos, 100% das amostras apresentaram contaminação. Com relação aos psicotróficos, em 83,33% das coletas de leite cru foi identificada presença e no leite pasteurizado, esse valor caiu para 66,66%. Todas as coletas analisadas apresentaram 100% de não conformidade quanto a contagem de coliformes. Em 95,84% dos pontos analisado foi detectada a presença de *Staphylococcus* spp e em 100% das amostras houve ausência de *Salmonella* spp. Todas as coletas apresentaram contaminação por *Listeria* spp. A média da composição química esteve em conformidade com a legislação, exceto para o teor de gordura no leite cru, com 2,79%. Também nas amostras de leite houve alta contagem de células somáticas, com resultados variando entre 1,051x10<sup>6</sup> a 9,576x10<sup>6</sup> CS/mL. De acordo com os dados obtidos, conclui-se que a qualidade do leite colhido na propriedade estudada está fora dos parâmetros estabelecidos pela Instrução Normativa 62, provavelmente devido a falta de cuidados higiênicos no ambiente de ordenha.

**Palavras chave:** Higiene. Contaminação. Micro-organismos. Produção de leite.



## ABSTRACT

The microbiological quality of milk can be defined as an estimated contamination by microorganisms, which is related to the health of the mammary gland of cattle and general conditions of handling and hygiene adopted in the property. The number of somatic cells has been used as an important tool for monitoring the quality of milk. The number of somatic cells has been used as an important tool for monitoring the quality of milk. The objective was to verify the microbiological quality of raw milk and pasteurized, somatic cell count and contamination of the milking environment in a property of the municipality of Satuba. The analysis followed the methodology described in the "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" and Methods of Analyses Microbiological Food Guide. Collections were made during six months of 2014. The samples in each stage form submitted to aerobic mesophilic counts in Agar Count Standard (PCA) at 28 ° C for five days, psychrotrophic PCA 7 ° C for 10 days, determining the number most likely (PMN) total coliforms (30 ° C for 48 hours) thermotolerant (45 ° C for 24 hours) and confirmation of *Escherichia coli*. For analysis of *Staphylococcus* spp, samples were plated on specific medium (Baird-Parker Agar Base himedia M043) and incubated at 37 / 24h. In the detection of *Salmonella* spp was used enrichment medium selenite cystine (37 / 24h) followed by plating medium for Salmonella Shigella agar (Acumedia 7152A). To *Listeria* spp medium was used Aloa A@PROTAC (37 / 72h). The analysis of chemical composition and Somatic Cell Count were performed by the dairy herd management program of the Northeast. All samples showed high standard plate count, the results ranged from 4.84 log<sup>10</sup> to 5.78 log<sup>10</sup> UFC/mL. In mesophilic counts, 100% of the samples were contaminated. Regarding psychrotrophic, in 83.33% of raw milk samples was identified and presence in pasteurized milk, this value dropped to 66.66%. All the analyzed samples showed 100% of non-compliance as the coliform count. In 95.84% of the analyzed points detected the presence of *staphylococcus* and 100% of the samples was *Salmonella* spp. All samples were contaminated by *Listeria* spp. The average chemical composition was in accordance with the law, except for the fat content in raw milk, with 2.79%. Also the milk samples was high somatic cell count, with results ranging from 1,051x10<sup>6</sup> to 9,576x10<sup>6</sup> SC/mL. According to the data obtained, it is concluded that the quality of milk collected in the studied property is outside the parameters established by the Normative Instruction 62, probably due to lack of hygienic care in the milking environment.

**Keywords:** Hygiene. Contamination. Micro-organisms. Milk production.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Fatores determinantes da carga Microbiana do leite .....	16
Figura 2- Localização da cidade de Satuba-Al.....	28
Figura 3- Pontos de coleta do leite .....	28
Figura 4- Médias da Unidade Formadora de Colônia (UFC/mL) da Contagem Padrão em Placa de amostras do leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al.....	35
Figura 5- Médias de Unidades Formadoras de colônias (UFCLog/mL) de micro-organismos aeróbios mesófilos presentes nas amostras de leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al.....	38
Figura 6- Médias de Unidades Formadoras de Colônias (UFClog/mL) de micro-organismos psicrotróficos presentes nas amostras de leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al.....	40
Figura 7- Número Mais Provável de Coliformes (NMP/mL) a 30° e 45° C presentes nas amostras de leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al.....	41
Figura 8- Variação da contagem de células somáticas CSS x10 <sup>3</sup> do leite coletado cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al .....	50

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Composição química e Contagem de Células Somáticas, segundo IN62 .....	23
Tabela 2- Mudanças na composição do leite associadas com elevadas Contagens de Células Somáticas.....	26
Tabela 3- Médias das Contagens Padrão em Placas nos primeiros jatos de leite por animal ..	37
Tabela 4- Médias, Desvio padrão e Coeficiente de Variação do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) para micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos .....	37
Tabela 5- Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação do Número Mais Provável de Coliformes (NMP/ mL) a 30°C e 45°C no ambiente de ordenha .....	42
Tabela 6- Presença de Staphylococcus spp no ambiente de ordenha e nos leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al. ....	44
Tabela 7- Frequência média de Staphylococcus spp nos tetos dos animais.....	45
Tabela 8- Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da gordura proteína, lactose, sólidos totais, ureia e caseína do leite cru de vacas mestiças coletados em Satuba-Al.....	48
Tabela 9- Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da gordura proteína, lactose, sólidos totais, ureia e caseína do leite pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al .....	49
Tabela 10- Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da contagem de células somáticas CSS x10 <sup>3</sup> do leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al ..	49
Tabela 11- Médias das contagens de células somáticas (CCS) em amostras de leite por animal .....	51
Tabela 12- Correlação de Pearson entre as variáveis avaliadas em leite cru em uma Fazenda no Município de Satuba - Al .....	52

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISAO DE LITERATURA.....	13
2.1 QUALIDADE DO LEITE .....	13
2.2 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA.....	15
2.2.1 CONTAGEM PADRÃO EM PLACAS (CPP) .....	17
2.2.1.1.MICRO-ORGANISMOS DETERIORANTES .....	17
MICRO-ORGANISMOS MESÓFILOS .....	17
MICRO-ORGANISMOS PSICOTRÓFICOS.....	18
2.2.1.2 MICRO-ORGANISMOS PATOGÊNICOS .....	19
GRUPO COLIFORME .....	19
<i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i> .....	20
<i>SALMONELLA SPP</i> .....	21
<i>LISTERIA SPP</i> .....	21
2.3 COMPONENTES DO LEITE .....	22
GORDURA .....	23
SÓLIDOS NÃO GORDUROSOS.....	23
PROTEÍNA .....	24
LACTOSE .....	24
SÓLIDOS TOTAIS.....	24
2.4 CÉLULAS SOMÁTICAS (CS).....	24
1. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1. HOMOGENEIZAÇÃO DA PRIMEIRA DILUIÇÃO DA UNIDADE ANALÍTICA ( $10^{-1}$ ).....	29
3.2. DILUIÇÃO SERIADA DA AMOSTRA HOMOGENEIZADA.....	30
3.3. CONTAGEM PADRÃO EM PLACA (CPP).....	30
3.4. CONTAGEM DE MICRO-ORGANISMOS AERÓBIOS MESÓFILOS E PSICOTRÓFICOS .....	30
3.5. CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES (NMP) E PRESENÇA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	31
3.6. PRESENÇA DE <i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i> .....	31
3.7. PRESENÇA DE <i>SALMONELLA SPP</i> .....	32
3.8. PRESENÇA DE <i>LISTERIA SPP</i> .....	33

3.9. CONTAMINAÇÃO DO AMBIENTE DE ORDENHA .....	33
3.10. COMPOSIÇÃO .....	33
3.11. CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS (CCS) .....	34
3.12. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1. CONTAGEM PADRÃO EM PLACA (CPP).....	35
4.2 MICRO-ORGANISMOS MESÓFILOS E PSICOTRÓFICOS .....	37
4.3 CONTAGEM DE COLIFORMES E PRESENÇA DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	41
4.4 PRESENÇA DE <i>STAPHYLOCOCCUS SPP</i> .....	44
4.5. PRESENÇA DE <i>SALMONELLA SPP</i> .....	46
4.6 PRESENÇA DE <i>LISTERIA SPP</i> .....	47
4.7 COMPOSIÇÃO .....	48
4.8 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS .....	49
4.9 CORRELAÇÕES COMPOSIÇÃO QUÍMICA E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS .....	51
5. CONCLUSÃO.....	54
REFERÊNCIAS.....	55

## 1. INTRODUÇÃO

No atual mercado competitivo e globalizado, produzir leite e derivados com qualidade e segurança é requisito obrigatório. A segurança alimentar é um dos temas mais debatidos na atualidade dando ênfase à produção de alimentos por métodos sustentáveis, levando-se em conta a produção de alimentos seguros, saudáveis e nutritivos (WINCK et al, 2010).

O termo qualidade do leite é atualmente muito utilizado dado à importância que adquiriu no setor de produção leiteira, fazendo-se necessária a sua correta conceituação. O leite de alta qualidade pode ser caracterizado como um alimento livre de agentes patogênicos e outros contaminantes (resíduos de antibióticos e pesticidas), apresentando reduzida contaminação microbiana, sabor agradável, adequada composição e baixa contagem de células somáticas (CCS) (SANTOS, 2004).

A qualidade do leite cru está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial e com o binômio tempo/temperatura em que o leite permanece desde a ordenha até o processamento. As condições higiênico-sanitárias de obtenção e armazenamento do leite exercem grande influência na qualidade do leite, bem como de seu transporte até o seu posterior beneficiamento na indústria de laticínios. Um dos parâmetros analisados para verificação da qualidade do leite é o seu perfil microbiológico, que pode ser caracterizado por micro-organismos indicadores de higiene e patógenos (PEREIRA, 2010).

O estado de saúde e higiene da vaca, o ambiente do estábulo e da sala de ordenha e os procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha, tanque de refrigeração e utensílios que entram em contato com o leite, são importantes com respeito à contaminação microbiana do leite cru (BRITO e BRITO, 1998).

Em termos mundiais, as normas de qualidade utilizadas para o comércio internacional são definidas pelo *Codex Alimentarius*, que é um órgão da FAO/OMS, cuja função primordial é definir normas mínimas para garantir a segurança dos produtos que são comercializados internacionalmente. De acordo com a Codex, os alimentos de forma geral devem apresentar: baixas contagens bacterianas, ausência de micro-organismos patogênicos ao homem, ausência de resíduos de medicamento veterinário, mínima contaminação com contaminantes químicos ou toxinas microbianas (SANTOS e FONSECA, 2010). Considerando este conceito internacional, podemos enfocar a qualidade do leite sob diferentes aspectos: características

microbiológicas, controle de mastite e resíduos, e características de composição (SANTOS, 2004).

A presença de micro-organismos indesejáveis no leite e seus derivados não têm somente importância em saúde pública, mas também compromete a qualidade do alimento, em face das inúmeras alterações no gosto, aroma e aspecto do produto (MENEZES, 2007).

A quantidade de micro-organismos no leite influencia no tempo de prateleira e mesmo no tipo de produto para o qual o leite poderá ser utilizado. Assim, as condições higiênico-sanitárias devem ser monitoradas para garantir um produto seguro e de qualidade, sendo uma ferramenta para determinação dos pontos do processamento que podem ser melhorados (DEFANTE, 2011).

A composição do leite, assim como a Contagem de Células Somáticas (CCS) é de extrema importância quando se avalia a qualidade do leite (SANTOS e FONSECA, 2010). Estes dados servem como índices básicos para o controle desta matéria-prima em toda a cadeia do leite, incluindo produtores, indústrias e consumidores. A composição do leite reflete diretamente o rendimento industrial, assim como o valor nutritivo, enquanto que a contagem de células somáticas estima a ocorrência de mastite no rebanho, compondo um índice de qualidade higiênico-sanitária (BRASIL, 2002 apud ECKSTEIN, 2012).

Com o presente estudo objetivou-se estabelecer uma relação entre práticas de produção e a qualidade do leite produzido no em uma propriedade localizada em Satuba-AL, desde o início da linha de produção (leite cru) até o produto final (leite pasteurizado), verificando a adequação destes produtos aos parâmetros oficiais.

## 2. REVISAO DE LITERATURA

### 2.1 Qualidade do leite

A produção de leite no Brasil em 2013 foi de 35 bilhões de litros, sendo 35% a mais que os 26 bilhões contabilizados em 2007 (AGRODEBATE, 2013). Esse valor expressa a relevância da atividade leiteira para a economia brasileira, tanto no cenário interno como no externo, tornando o Brasil um dos principais produtores de leite do mundo. No entanto, um problema parece difícil de ser resolvido: a produção não é homogênea e o país não apresenta boas condições sanitárias na produção de leite (RURAL, 2013).

As características da produção leiteira no Brasil são os principais fatores que impedem um desenvolvimento mais acelerado dessa atividade. De forma geral, a maior parte dos produtores pode ser classificada como pequenos ou médios e de caráter familiar. Como consequência, ocorre pouco investimento na atividade, resultando em problemas em toda a cadeia produtiva, como baixa tecnificação, falta de controle sanitário dos animais e condições higiênicas inadequadas durante a ordenha, conservação e transporte (BRITO e BRITO, 2004).

A baixa qualidade do leite cru é notoriamente conhecida em todo o território nacional, e como consequência resulta em produtos beneficiados de qualidade insatisfatória (ARCURI et al, 2008).

Vários estudos realizados no Brasil e em diversas regiões, confirmam a baixa qualidade do leite cru produzido, evidenciado pelo elevado número de micro-organismos indicadores, especialmente os aeróbios mesófilos, sugerindo condições inadequadas na produção leiteira (FRANCO et al., 2000; LOURENÇO e SILVA, 2000; BUENO et al., 2002; BELMONTE e LAGO, 2004; PONSANO et al., 2004)

Segundo pesquisa feita por Pinheiro (2011) em uma propriedade no município de Satuba-AL, foram encontrados coliformes acima do limite estabelecido pela Instrução Normativa 51, a qual estava em vigor. Os números acima dos estabelecidos são indicadores de graves falhas na manipulação, de deficiências na higienização do estabelecimento e equipamentos e problemas relativos à higiene pessoal de manipuladores. Nesse mesmo estudo foi detectada presença de gêneros bacterianos patogênicos ao homem ou deteriorante do leite, indicando problemas com a higienização do ambiente de ordenha.

Lins (2011) analisando leite da mesma propriedade no município de Satuba detectou a presença de coliformes em valores acima do recomendado, bem como bactérias compatíveis



com *Salmonella* na maioria das amostras, sendo, portanto, um indicativo de deficiência na higienização dos equipamentos, graves falhas na manipulação, na higiene pessoal dos manipuladores e na assepsia ou anti-sepsia das vacas.

Estudo feito em Boa Esperança-MG por Tebalde et al (2007) apontaram elevadas concentrações de micro-organismos indicadores de qualidade no leite refrigerado, os quais são de grande interesse do ponto de vista de saúde pública, necessitando ações direcionadas para a solução de tal problema para melhoria da qualidade do produto.

No Paraná também foi observada contaminação do leite por Tamanini et al (2006) os quais concluíram que a qualidade microbiológica do leite pasteurizado Tipo C produzido na região norte do Paraná não foi satisfatória, pois um número elevado de amostras não atendeu aos padrões estabelecidos pela legislação. O grupo dos coliformes totais foi o grupo de micro-organismos encontrado com maior frequência em desacordo com a legislação.

Para obter leite de qualidade, Boas Práticas de Produção (BPP) devem ser aplicadas desde a ordenha até o armazenamento e transporte. A implantação de BPP resulta na redução do número de micro-organismos na matéria prima, melhoria da sanidade da glândula mamária dos animais, que associadas às boas práticas no beneficiamento, levam a uma maior vida de prateleira do produto (MATSUBARA et al., 2011).

Leite de qualidade deve ser uma meta de todo produtor, uma vez que representa benefícios para toda a cadeia produtiva. Ganha o produtor, que poderá receber mais pelo seu produto, a indústria com a melhoria da matéria-prima e também o consumidor, que terá acesso a produtos de melhor qualidade e mais seguro (PASCHOAL, 2010).

Pensando em segurança, vários países elaboraram e introduziram regulamentações para garantir a segurança do alimento em diferentes estágios na cadeia de produção (MALEEVA, 2005). No Brasil, entrou em vigor a Instrução Normativa 51 (IN 51) em 18 de Setembro de 2002. A IN 51 teve como objetivo regulamentar a produção, identidade, qualidade e transporte do leite, bem como estabelecer valores aceitáveis para contagem de micro-organismos presentes no alimento.

Vários produtores não conseguiram se adaptar ao que a Legislação exigia no tempo previsto, assim A IN 51 foi atualizada e substituída pela Instrução Normativa 62, que passou a vigorar em 01 de Janeiro de 2012. A IN 62 estabelece novos prazos para que os produtores se adaptem a Legislação e estipula novos valores para contagem de micro-organismo.

Os números aceitáveis para contagem de micro-organismos têm como base as alterações que esses eles causam no leite e derivados. Este requerimento é muito importante para a avaliação da qualidade do leite cru, pois será indicador das condições de higiene em que o leite foi obtido e armazenado, desde o processo de ordenha até o consumo (BRITO e BRITO, 1998). Os principais requerimentos utilizados para avaliação da qualidade do leite são: qualidade microbiológica, composição e contagem de células somáticas.

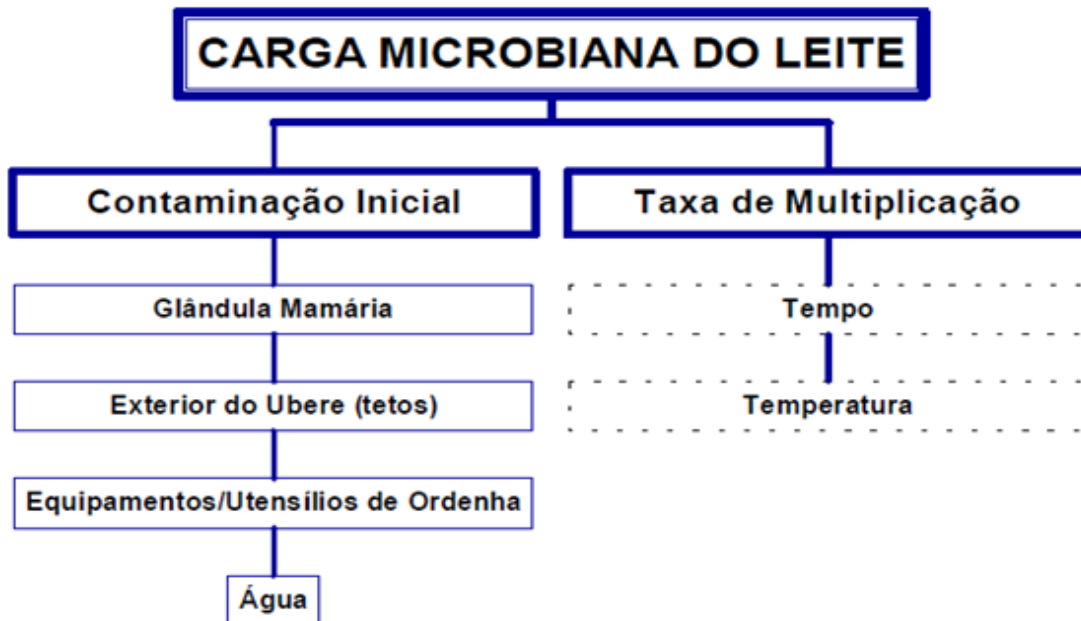
## **2.2 Qualidade microbiológica**

A qualidade microbiológica pode ser definida como a estimativa da contaminação do leite por micro-organismos, a qual está diretamente ligada com a saúde da glândula mamaria do rebanho e as condições gerais de manejo e higiene adotados na fazenda (GRACINDO e PEREIRA, 2009).

Os procedimentos empregados na ordenha determina a qualidade microbiológica do leite. Cada etapa do processo pode ser responsável pela inclusão de milhões de micro-organismos no leite na ausência de boas práticas de higiene (SANTANA, BELOTI e BARROS, 2001 apud SILVA et al, 2011).

A qualidade microbiológica está diretamente relacionada com a contaminação inicial e com a taxa de multiplicação dos micro-organismos. A carga microbiana inicial depende de fatores como: saúde da glândula mamária, exterior do úbere, equipamento de ordenha, tanque de resfriamento e qualidade da água. A taxa de multiplicação, por sua vez, depende do binômio tempo-temperatura, ponto crítico do sistema de transporte e armazenamento (NASCIMENTO e SOUZA, 2002) (Figura 1).

Figura 1- Fatores determinantes da carga Microbiana do leite



Fonte: SANTOS e FONSECA, 2010

O leite secretado no úbere é virtualmente estéril. Mas mesmo antes de deixar o úbere, o leite é infectado por bactérias que entram pelos canais dos tetos. Essas bactérias normalmente não são prejudiciais e são poucas em número (CHAPAVAL e PIEKARSKI, 2000). No entanto, quando o animal não é sadio, pode aumentar significativamente a carga microbiana do leite.

A pele dos tetos e do próprio úbere pode abrigar micro-organismos que contaminam o leite. Estes micro-organismos podem ser da microbiota normal da pele dos tetos ou mesmo de origem de áreas de alojamento das vacas no período entre as ordenhas (SANTOS, 2010).

Os equipamentos de ordenha quando devidamente limpos, desinfetados e drenados, podem ser minimizados como fonte de contaminação no leite cru. Entretanto, limpeza e desinfecção inadequadas da superfície de contato com o leite, incluindo latas e tanques, são consideradas as maiores fontes de bactérias depois de sua coleta do úbere (MORELLI, 2008).

Determinar a intensidade da contaminação em cada ponto de ordenha permite determinar os principais pontos e a origem da contaminação, ou seja, ambiental, de origem fecal, por manipulação inadequada ou oriunda do animal. Isso possibilitará a adoção de medidas de controle que melhorem a qualidade microbiológica do leite, adequando-os aos padrões estabelecidos pela IN 62 (SILVA et al, 2011).

A análise laboratorial mais utilizada para monitorar a qualidade microbiológica do leite cru é a contagem padrão em placas (CPP) ou contagem bacteriana total (CBT).

### 2.2.1 Contagem Padrão em Placas (CPP)

A Contagem Padrão em Placa quantifica o número total de bactérias presentes no leite cru, mas não identifica grupos específicos de bactérias que se proliferam quando há falhas nos processos de produção, ordenha e armazenamento. É realizada em procedimento de contagem padrão em placas com incubação de 48 horas a 32°C e também pode ser realizada por meio de contadores eletrônicos baseados em citometria de fluxo (SANTOS e CORTINHAS, 2010).

A CPP é expressa em Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL). A Instrução Normativa 62 estabelece a contagem padrão em placas como referência microbiológica, sendo seu limite máximo de  $6,0 \times 10^5$  (BRASIL, 2011).

Altos níveis de bactérias têm efeito negativo sobre a qualidade do leite, especialmente no que concerne ao sabor, à vida de prateleira e à segurança alimentar do produto disponibilizado ao consumidor. As principais fontes de contaminação do leite estão relacionadas às práticas de ordenha, armazenamento e transporte, visto que o resfriamento, a presença de resíduos de antimicrobianos ou produtos químicos e a qualidade microbiológica da água podem influenciar de forma significativa na contagem bacteriana total (FONSECA e SANTOS, 2000).

Os principais micro-organismos envolvidos com a contaminação do leite são as bactérias. Estes podem ser divididos em dois grupos principais:

#### 2.2.1.1. Micro-organismos deteriorantes

Causam alterações nos principais componentes do leite, o que leva a redução da qualidade industrial e alterações organolépticas, mas não estão associados a ocorrência de doenças (SANTOS e FONSECA, 2010).

#### Micro-organismos mesófilos

São micro-organismos que possuem crescimento ideal em temperaturas entre 30 a 35°C. Basicamente, podemos dizer que os micro-organismos mesófilos predominam em situações em que há falta de condições básicas de higiene, bem como falta de refrigeração do leite. (SANTOS e FONSECA, 2010).

Sua presença em grande número indica, de uma maneira geral, que: a matéria-prima utilizada na produção foi excessivamente contaminada; limpeza e desinfecção de superfícies inadequadas; higiene inadequada na produção; o controle da temperatura durante os processos de tratamento industrial, transporte e armazenamento foram realizados de forma inadequada. Esta determinação permite obter informações sobre a alteração incipiente dos alimentos, fornecendo também ideia sobre o tempo útil de conservação (SIQUEIRA, 1995).

#### Micro-organismos psicotróficos

Os micro-organismos psicotróficos encontrados no leite e em produtos lácteos incluem várias espécies de bactérias e que não constituem um grupo taxonômico específico, algumas até fazem parte de grupos que realizam fermentação desejável em alguns derivados, como é o caso de algumas bactérias ácido-láticas (BAL's). As principais bactérias representantes deste grupo são: *Pseudomonas* spp., *Achromobacter* spp., *Aeromonas* spp., *Serratia* spp., *Alcaligenes* spp., *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Corynebacterium* spp., *Listeria* spp., *Streptococcus* spp., e *Lactobacillus* spp., entre outras (PEREIA, 2010).

Além da capacidade de desenvolver-se às temperaturas de refrigeração, bactérias psicotróficas possuem habilidade de produzir enzimas hidrolíticas termorresistentes, as quais retêm de 30 a 100% de sua atividade enzimática após tratamento térmico de pasteurização e de Ultra Alta Temperatura (UAT) (SAMARŽIJA; ZAMBERLIN e POGACIC, 2012). As enzimas termorresistentes, principalmente lipases e proteases, são a grande preocupação, pois reduzem rendimento de fabricação de queijos, limitam a vida de prateleira, alteram sabores, odores e aparência (ÂNGELO et al, 2014).

Do ponto de vista da qualidade do leite, as bactérias psicotróficas são o grupo que mais contribui para deterioração do leite e produtos lácteos. Elas causam deterioração quando se multiplicam no leite cru antes da pasteurização ou após a pasteurização, pela atividade de suas enzimas extracelulares resistentes ao calor e pela contaminação pós-pasteurização (BRITO et al, 1998).

Embora represente menos de 10% da microbiota inicial, em condições adequadas de higiene, a população de psicotróficos pode alcançar níveis elevados com uma condição higiênica precária, falhas sanitização do tanque e equipamento de ordenha ou refrigeração inadequada do leite (resfriamento em temperaturas entre 5 e 15°C), ou quando o tempo de

estocagem do leite refrigerado é demasiadamente longo. Por esta razão, a contagem de psicotróficos em leite cru pode atingir mais de 90% da população bacteriana total (SAMARŽIJA; ZAMBERLIN e POGACIC, 2012).

#### 2.2.1.2 Micro-organismos patogênicos

Podem causar doença, infecção ou intoxicação a partir do consumo do leite cru ou derivado, mas que não estão associados a deterioração do leite (SANTOS E FONSECA, 2010).

A presença de bactérias patogênicas no leite cru é uma preocupação de saúde pública, sendo um risco potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados, bem como para quem o manuseia. O leite cru contaminado pode ser ainda fonte de contaminação cruzada para os produtos lácteos processados, quando considerada a possibilidade da contaminação do ambiente na indústria (ARCURI et al, 2006).

#### Grupo Coliforme

O habitat das bactérias que pertencem ao grupo coliforme é o trato intestinal do homem e de outros animais; entretanto, espécies dos gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella* podem persistir longos períodos e se multiplicar em ambientes não fecais (SIQUEIRA, 1995).

Na contagem de coliformes podem-se diferenciar dois grupos: o de coliformes totais e o de coliformes termotolerantes (SIQUEIRA, 1995). No grupo de coliformes totais estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em um período de 24 a 48 horas a 35°C (JAY, 2005). O grupo dos coliformes termotolerantes é um subgrupo dos coliformes totais, restrito aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas a 44,5°C a 45,5°C, com produção de gás (MORELLI, 2008)

O índice de coliformes totais é utilizado para avaliar as condições higiênicas, sendo que as altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpezas e sanificações deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem. O índice de coliformes termotolerantes é indicador de contaminação fecal, visto que a população deste grupo tem seu habitat exclusivo no trato intestinal do homem e de outros animais (SIQUEIRA, 1995).

Números elevados de coliformes no leite cru indicam falta de higiene na ordenha, limpeza inadequada de equipamentos de ordenha ou de utensílios que entram em contato com o leite e água contaminada (BRITO et al, 20--)

A presença desses micro-organismos conduz à deterioração e perda de qualidade, com conseqüente perigo à saúde humana caso confirme a presença de linhagens patogênicas (SILVA et al, 2008).

A *Escherichia coli* está incluída no grupo dos coliformes totais e termotolerantes e sua presença em alimentos é considerada uma indicação de contaminação pós-sanitização ou pós-processo (principalmente no caso de pasteurização), evidenciando práticas de higiene e sanificação fora dos padrões requeridos para o processamento de alimentos (SILVA; JUNQUEIRA e SILVEIRA, 1997).

#### *Staphylococcus* spp

Os *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos que tendem a formar agrupamentos semelhantes a cachos de uva, sendo amplamente distribuídos na natureza, também fazendo parte da microbiota normal da pele e mucosas de mamíferos e aves. (SILVA, 2004 apud CHAPAVAL et al, 2009).

Na obtenção e durante o processamento do alimento, essas bactérias são um importante elo na cadeia epidemiológica e a falta de cuidados na manipulação do alimento favorece a multiplicação destes micro-organismos, que podem vir a causar alterações e/ou produzirem sintomas de intoxicação alimentar aos consumidores (STAMFORD et al, 2006 apud COSTA, 2008).

Dentre os alimentos mais relatados nos casos de intoxicação alimentar podem ser destacados produtos lácteos. Os fatores que contribuem para a elevada frequência desses surtos incluem a baixa qualidade do leite cru, além da sua manipulação indevida desde a fazenda produtora até o comércio varejista (SENA, 2000).

As células bacterianas dos *Staphylococcus* spp são destruídas por tratamento térmico, mas suas enterotoxinas permanecem ativas nos alimentos, por isso consideradas termoestáveis, sendo um risco em potencial para a saúde pública (CARMO, 1997 apud COSTA, 2008).

Em função do risco à saúde pública, sua presença em alimentos representa a obrigatoriedade de sua pesquisa e enumeração, como parte das ações de fiscalização sanitária de órgãos governamentais (SILVA, 2004 apud CHAPAVAL et al, 2009).

### *Salmonella* spp

Este gênero de bactéria apresenta-se em três espécies: *Salmonella typhi*, *Salmonella choleraesuis* e *Salmonella enteritidis*. Esta última apresenta mais de 1400 variações. Com exceção da *Salmonella typhi*, que afeta os seres humanos provocando a febre tifoide e gastroenterites, a maioria são patogênicas tanto para os homens quanto para os animais (MICROBIOVIDA, 2013).

As toxinfecções alimentares causadas por *salmonellas* são frequentemente associadas à ingestão de carnes, aves, ovos, leite e derivados sem tratamento térmico (JAY, 2005).

As salmoneloses são objeto de grande preocupação, especialmente aquelas causadas por *Salmonella Typhi*, patógeno específico do homem e agente etiológico da febre tifoide (OCHIAI et al., 2008).

### *Listeria* spp

O gênero *Listeria* compreende as seis espécies *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi* (ROCOURT e BUCHRIESER, 2007) das quais somente *L. monocytogenes* é considerada consistentemente patogênica para o homem, embora infecções ocasionais por *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* e *L. ivanovii* venham sendo relatadas (CHAMBEL et al., 2007).

A listeriose causada no homem inclui infecções severas, como septicemias, encefalite, meningite e aborto, com altas taxas de hospitalizações e mortes. Acomete principalmente pessoas idosas, recém-nascidos, gestantes e indivíduos imunocomprometidos (SWAMINATHAN, 2001).

No Brasil, a listeriose humana é subdiagnosticada e subnotificada (SILVA et al., 2007 apud BARANCELLI et al, 2011), É provável que a maioria dos casos humanos esporádicos tenha o alimento como veículo de transmissão da *L. monocytogenes* (HOFER et al., 2006) o



que reforça a necessidade de identificar as fontes de infecção e os possíveis alimentos envolvidos (BARANCELLI et al, 2011).

O leite está entre os produtos alimentícios mais frequentemente envolvidos na transmissão de *L. monocytogenes* (BARANCELLI et al, 2011), embora *L. monocytogenes* esteja comprovadamente presente em diversos produtos, sobretudo em derivados lácteos (MARTINS *et al.*, 2009).

Uma das formas mais eficazes de prevenir a presença de *Listeria* ssp em indústrias de leite é a adequada higienização do ambiente, equipamentos e utensílios. A higienização de uma indústria de leite e a utilização de saneantes adequados é muito importante (TIDE et al, 1999 apud PIETA, 2010). A pasteurização também é uma forma de prevenção, visto que esta bactéria é sensível à pasteurização (SPECK, 1976).

### **2.3 Componentes do leite**

Fisiologicamente, o leite é definido como produto da secreção da glândula mamária das fêmeas mamíferas, logo após o parto com a finalidade de alimentar o recém-nascido na sua primeira fase de vida (ABREU, 1998). Do ponto de vista físico-químico, leite é uma emulsão natural e perfeita na qual os glóbulos de gordura estão mantidos em suspensão, em um líquido salino açucarado, graças a substâncias proteicas e minerais em estado coloidal (ROCHA, 2008).

A sua composição varia de acordo com um grande número de fatores, dentre eles estão: espécie, raça, genética do animal, alimentação, idade e período de lactação. Considerando o estágio de lactação, o colostro, produzido nos primeiros dias pós-parto, apresenta sua composição diferenciada. No início, o colostro é excepcionalmente rico em proteínas. Contêm importantes quantidades de imunoglobulinas e, em média, sua concentração é duas vezes maior de caseínas,  $\beta$ - lactoglobulina e  $\alpha$ -lactoalbumina que o leite produzido no meio da lactação. A queda da taxa proteica ocorre rapidamente durante os primeiros dias de lactação, com a passagem de colostro para leite normal, atingindo seu ponto mais baixo após o pico de lactação para em seguida aumentar sob a influência da gestação (VARNA e SUTHERLAND, 1994).

Em geral, o leite de vaca apresenta as seguintes médias de composição: 87-88% de água; 3,0-4,0% de gordura; 4,5-4,8% de lactose; 3,2-3,5% de proteínas e 0,5-0,7% de sais minerais (FERREIRA, 2007).

A Instrução Normativa 62 estabelece valores mínimos de composição para que o leite seja de qualidade satisfatória (Tabela 1)

Tabela 1: Composição química e Contagem de Células Somáticas, segundo IN 62

	<b>Gordura</b>	<b>Sólidos Não Gordurosos (SNG)</b>	<b>Proteína</b>	<b>Sólidos Totais</b>
<b>Leite cru</b>	Mín 3,0	Mín 8,4	Mín 2,9	Mín 11,4
<b>Leite pasteurizado</b>	Mín 3,0	Mín 8,4		

Brasil, 2011

### Gordura

A gordura é o componente lipídico do leite, formada por uma complexa mistura, sendo os triglicerídeos os lipídeos mais importantes (98%) (DÜRR, 2005). É o componente de maior variabilidade do leite. De um modo geral, pode variar de 2,2% a 4,0%. Essa porcentagem é fortemente influenciada pela genética e fatores ambientais. Dentre estes, o manejo nutricional pode exercer uma influencia muito importante na composição da gordura (SILVA, 2011)

### Sólidos Não gordurosos

Os sólidos não gordurosos do leite também chamado de extrato seco desengordurado (ESD) correspondem à fração composta por proteína, lactose, e cinzas. Nestas, incluem-se 16 as vitaminas, os macro e microminerais, e outros elementos traços. Para produtos em que não se faz necessária a gordura do leite, ou que seja indesejável, a determinação do percentual de sólidos não gordurosos torna-se de grande importância, e está sendo mais enfatizada ultimamente, devido ao aumento da demanda por parte dos consumidores (GRANT, 1993 apud HARTMANN 2002).

ESD é constituído por lactose (55%), proteínas e minerais (37%) e vitaminas hidrossolúveis (8%) (SOLER e VEIGA, 2001 apud XAVIER, 2009). A proteína total do leite é composta por numerosas proteínas específicas. A principal é a do grupo caseína, com 77% a 82% de suas proteínas totais (BEHMER, 1999 apud SILVA, 2011). A porcentagem de proteína varia, dentre outros fatores, de acordo com a raça, e é proporcional à quantidade de gordura presente no leite (BRITO et al, 2004).

## Proteína

As proteínas constituem um dos ingredientes mais valorizados pelos suas excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais. Suas propriedades nutritivas e tecnológicas derivam da composição dos aminoácidos que atendem a maioria das exigências fisiológicas do ser humano (CHEFTEL et al., 1989; SWAISGOOD, 1982 apud SGARBIERI, 2005).

## Lactose

A lactose é o principal carboidrato do leite. Produzido pelas células epiteliais da glândula mamária. Além da lactose, podem ser encontrados no leite outros carboidratos, como a glicose e a galactose, mas em pequenas quantidades (GONZÁLEZ, 2001; BRITO e BRITO, 2004).

A lactose tem importante papel na síntese do leite, pois atrai a água do sangue para equilibrar a pressão osmótica na glândula mamária. A quantidade de água no leite e, conseqüentemente, o volume de leite produzido pela vaca, depende da quantidade de lactose secretada pela glândula mamaria. Em função da estreita relação entre a síntese de lactose e a quantidade de água drenada para o leite, a lactose é o componente que tem menos variação (GONZÁLEZ, 2001).

## Sólidos Totais

A água é o componente que entra em maior proporção na composição do leite, e com a exclusão dela, os demais componentes constituem a fração denominada sólidos totais, ou extrato seco do leite. Esta fração divide-se em gorduras, e sólidos não gordurosos (OLIVEIRA; CARUSO, 1996 apud HARTMANN, 2002).

O teor de sólidos totais é importante não apenas para o leite comercializado na forma líquida, por afetar o valor nutricional por unidade de volume, mas também para o leite destinado a outras formas de processamento. Além disso, grandes volumes de água pressupõem custos maiores com transporte, estocagem e com o tamanho da planta necessária para o processamento (BOLAND, 2003 apud VIOTTO e CUNHA, 2006).

## **2.4 Células Somáticas (CS)**

As células somáticas compreendem diferentes elementos celulares normalmente presentes no leite, incluindo células de defesa do organismo, principalmente leucócitos. Os leucócitos correspondem de 75% a 98% e o restante é oriundo das células epiteliais

provenientes da descamação que ocorre no tecido de revestimento da glândula mamária (FONSECA e SANTOS, 2000).

A principal causa do aumento da contagem de células do leite é devido à resposta inflamatória da glândula mamária, que na maioria dos casos, é resultado de uma infecção bacteriana. Essa inflamação é a mastite. (BRITO e BRITO, 2004).

A contagem de células somáticas (CCS) é um critério mundialmente utilizado por indústrias, produtores e entidades governamentais para o monitoramento de mastite em nível individual e de rebanhos e para a avaliação da qualidade do leite. Os resultados da CCS podem ser obtidos a partir de amostras de quartos (monitoramento de rebanhos) e de amostras do tanque (monitoramento da qualidade do leite) (SANTOS, 2006).

A elevação da CCS é geralmente associada à diminuição na produção de leite. Esta redução ocorre devido ao dano físico às células secretoras da glândula mamária e também com as alterações na permeabilidade vascular no alvéolo secretor (BEHMER, 1999 apud PALES et al, 2005). Isto porque alguns componentes do leite originam-se do plasma sanguíneo e outros são sintetizados na glândula mamária, a partir de precursores (WALSTRA et al., 2001).

Em termos econômicos, a elevada CCS, traz grandes prejuízos econômicos tanto ao produtor de leite, quanto a indústria de laticínios e consumidores (BEHMER, 1999 apud PALES et al, 2005), pois provoca alterações nos três principais componentes do leite: gordura, proteína e lactose, além de aumentar os níveis de íons sódio, cloro e de proteínas sérica. (MÜLLER, 2002).

O nível desta redução depende da gravidade da inflamação (Tabela 2). Como resultado, a produção de vários derivados do leite, incluindo queijos, leite em pó e produtos fermentados, é prejudicada. Além disso, a estocagem do leite pasteurizado com alta CCS é prejudicada porque seu tempo de prateleira é menor (BRITO e BRITO, 2004)

Tabela 2: Mudanças na composição do leite associadas com elevadas Contagens de Células Somáticas

Componente do leite	CCS x 10 <sup>3</sup> células/mL)				Alteração e motivo
	< 100	< 250	500-1.000	>1.000	
Lactose	4,90	4,74	4,60	4,21	Redução (g/100 mL).
Caseína (total)	2,81	2,79	2,65	2,25	
Gordura	3,74	3,69	3,51	3,13	
Proteínas séricas (total)	0,81	0,82	1,10	1,31	Aumento. Passagem a partir do sangue.
Soroalbuminas	0,02	0,15	0,23	0,35	
Imunoglobulinas	0,12	0,14	0,26	0,51	
Cloro	0,091	0,096	0,121	0,147	
Sódio	0,057	0,062	0,091	0,105	
Potássio	0,173	0,180	0,135	0,157	
pH	6,6	6,6	6,8	6,9	

Fonte: Adaptado de SCHÄELLIBAUM, 2000

A porcentagem de gordura do leite diminui como resultado do aumento da contagem de células somáticas. Em alguns casos, quando a produção de leite é reduzida em maior proporção que a síntese de gordura, a porcentagem de gordura aumenta em função do efeito de concentração (PEREIRA et al, 1997 apud CHAPAVAL e PIEKARSKI, 2000).

Com relação as proteínas ocorre uma redução naquelas sintetizadas na glândula mamária ( $\alpha$  e  $\beta$  caseína,  $\alpha$ -lactoalbumina e  $\beta$ -lactoglobulina) e aumento das proteínas de origem sanguínea (albumina sérica e imunoglobulinas), em virtude do aumento de permeabilidade vascular secundária ao processo inflamatório. A proteína total do leite aumenta, mas a concentração de cada tipo de proteína varia acentuadamente (KITCHEN, 1981 apud MÜLLER, 2002).

A infecção da glândula mamaria resulta também numa menor síntese de lactose, que podem ser causados por menor disponibilidade de glicose na glândula como resultado da redução do fluxo sanguíneo (PEREIRA et al, 1997 apud CHAPAVAL e PIEKARSKI, 2000).

Um leite com baixa Contagem de Células Somáticas permitirá maiores rendimentos industriais e incremento na vida de prateleira dos produtos processados. Além disso, resultará

em maior segurança alimentar, atendimento às legislações e maior lucratividade para produtores e indústrias (ALMEIDA, 2013).

A partir de 1992, os países da União Europeia adotaram como limite máximo legal para a CCS do leite para consumo humano, o valor de 400.000 cels/mL (SCHUKKEN et al., 2003), enquanto no Canadá e nos EUA, os limites fixados são respectivamente: 500.000 e 750.000 cels/mL.consumo. Em 2011, a Instrução Normativa 62 estabeleceu o limite de  $6,0 \times 10^5$  cels/mL para o leite produzido no Brasil (SANTOS, 2006).

## 1. MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas em uma propriedade no município de Satuba – Al (Região Metropolitana de Maceió), situado a  $9^{\circ}33'46,8''$  de latitude sul e  $35^{\circ}49'26,4''$  de longitude oeste (Figura 2).

Figura 2- Localização da cidade de Satuba-Al

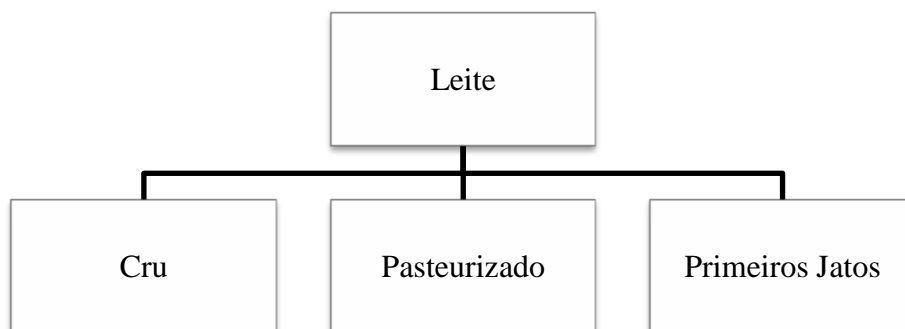


Fonte: Google mapas, 2015

A propriedade adota o sistema de ordenha mecânica, sendo antes da ordenha realizada a higiene do úbere por meio da lavagem. A imersão dos tetos em solução antisséptica (Pré-dipping) é realizada à base de hipoclorito de sódio e em seguida, eles são secados com papel toalha.

Foram realizadas seis coletas de leite durante um período de seis meses (Fevereiro a Julho de 2014), sendo uma coleta a cada mês. As amostras de leite foram coletadas em três pontos: Antes da pasteurização (Leite cru-*in natura*), após a pasteurização e os primeiros jatos de doze animais (Figura 3). Foram coletadas três amostras de 30 ml de leite cru e três amostras de 30 ml de leite pasteurizado para confecção de uma amostra composta.

Figura 3-Pontos de coleta do leite



Fonte: Autora, 2015

No ambiente de ordenha, foram coletadas amostras de: chão, ralo, latão, teteiras, mãos dos ordenhadores. Para isso, utilizaram-se swabs umedecidos com solução salina a 0,8% que foram acondicionados em tubos após a coleta. Também foi coletada uma amostra da ração fornecida aos animais no momento da ordenha para análises microbiológicas.

As coletas foram realizadas sob condições assépticas em frascos com tampas devidamente esterilizados e encaminhadas ao laboratório em caixas isotérmicas com gelo reciclável e mantidas sob refrigeração até o momento da análise.

Para as análises de Contagem Padrão em Placa, Composição e Contagem de Células Somáticas, amostras de leite foram encaminhadas ao Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE). O PROGENE é um laboratório credenciado para realização das principais análises ditadas pela Instrução Normativa 51 e 62 e faz parte da Rede Brasileira de Qualidade do Leite (RBQL), que integra o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL). Tem como base promover a melhoria da qualidade do leite e derivados, garantir a saúde da população e aumentar a competitividade dos produtos lácteos em novos mercados (BARBOSA et al, 2008).

Para as análises de micro-organismos mesófilos, psicrotróficos, contagem de coliformes, presença de *Staphylococcus* spp, *Salmonella* spp e *Listeria* spp, amostras de leite foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Agrícola do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Alagoas (CECA/ UFAL). Os procedimentos utilizados no preparo das amostras seguiram as recomendações descritas no Compendium of the Microbiological Examination of Foods (SECK,1976) e do Manual de Microbiologia de Alimentos (SIQUEIRA, 1995).

Também foram realizadas coletas da superfície dos tetos de cada quarto mamário de 12 animais ordenhados para detectar a presença de *Staphylococcus* spp. Para isso, utilizaram-se swabs umedecidos com solução salina a 0,8% e acondicionados em tubos identificados como: Anterior Direito (AD), Posterior Direito (PD), Anterior Esquerdo (AE) e Posterior Esquerdo (PE). Totalizando assim, 48 amostras.

### **3.1. Homogeneização da primeira diluição da unidade analítica ( $10^{-1}$ )**

Das três amostras coletadas foi feita uma amostra composta, utilizando 15 mL de cada uma, totalizando uma amostra de 45 mL de onde foram tirados 25 mL para a primeira diluição seriada.



O diluente utilizado para a análise do leite foi a água peptonada a 0,1%. Assim, 25 mL da amostra de leite (unidade analítica) foram diluídos em 225 mL de água peptonada a 0,1% e em seguida homogeneizada.

### **3.2. Diluição seriada da amostra homogeneizada**

A partir da primeira diluição da amostra homogeneizada foram transferidos asepticamente 1 mL para um frasco contendo 9 mL de água peptonada a 0,1% (diluição  $10^{-2}$ ). As demais diluições, feitas de igual modo até chegar a última diluição ( $10^{-4}$ ).

### **3.3. Contagem Padrão em Placa (CPP)**

Para Contagem Padrão em Placa, amostras de leite cru, pasteurizado e dos primeiros jatos de doze animais foram acondicionadas em frascos padronizados contendo o conservante azidiol, identificadas e mantidas em caixa isotérmica com gelo reciclável para serem encaminhadas ao Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE), em Recife-PE.

A contagem foi realizada pelo método de citometria de fluxo com auxílio do equipamento Bactocount IBC (Bentley®). O DNA das células da amostra é corado pelo brometo de etídio, que é um corante fluorescente. Depois de corado, o DNA das células chega a um compartimento denominado citômetro (“flow cell”), por meio de um fluido carregador, onde há incidência de laser sobre uma alíquota da amostra com DNA corado. Ocorre então a emissão de fluorescência, proporcional a quantidade de brometo de etídio ligado ao DNA, que é transformada em pulso elétrico, amplificado, filtrado e convertido em Unidade Formadora de Colônias (UFC) e o resultado é expresso em células por mL de leite (SILVA, 2011).

### **3.4. Contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos**

Para esta avaliação, foram plaqueados em profundidades 1 mL da diluição  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ , em triplicata, utilizando-se o meio de cultivo PCA (Contagem Padrão em Placa). Após o plaqueamento, as placas destinadas à contagem de micro-organismos mesófilos foram incubadas a 32°C/24h e as destinadas à contagem de micro-organismos psicrotróficos foram incubadas durante sete dias a 11°C.

Todas as colônias observadas foram consideradas para contagem, independente de sua coloração, forma e tamanho. Para contagem, selecionaram-se as placas com 30 a 300 UFC para a contagem das colônias, multiplicando a média aritmética das mesmas pelo respectivo fator de diluição e expressando o resultado em Unidade Formadora de Colônia (UFC/ml).

### **3.5. Contagem de coliformes totais e termotolerantes (determinação de NMP) e presença de *Escherichia coli***

Para a determinação do Número Mais Provável de coliformes totais e termotolerantes (NMP/mL) foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, conforme metodologia descrita pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1991). Essa técnica compreende duas fases distintas: o teste presuntivo, no que recuperam as células e se detecta a presença de micro-organismo fermentadores da lactose, e o teste confirmativo.

No teste presuntivo selecionaram-se três diluições da amostra, a saber:  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$ . Com uma pipeta esterilizada foi inoculado 1 mL em três séries de três tubos contendo caldo LST (Lauril Sulfato Triptona) e tubos de Durham invertido. As culturas foram incubadas em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Após a incubação a leitura foi executada, sendo a prova considerada positiva com a turbidez e evidente produção de gás identificada no tubo de Durham.

No teste confirmativo, de cada amostra positiva, realizaram-se semeaduras em tubos de ensaio contendo caldo *E. coli* (EC) e tubos de Durham invertido. O mesmo foi feito para os tubos contendo caldo verde brilhante (VB) e tubos de Durham invertidos. As culturas foram incubadas a  $44^{\circ}\text{C}$  por 24 horas e 48h, respectivamente. Após a incubação, a presença de bactérias do grupo dos coliformes, foi confirmada com produção de gás. Os tubos com crescimento positivo foram anotados para determinação do número mais provável por mL (NMP/mL) segundo a tabela de NMP.

Para confirmação de *E. coli*, utilizou-se os meios ágar verde brilhante e ágar eosina azul de metileno (EMB), nos quais foram inoculados 1 mL das amostras de leite e do ambiente de ordenha, em triplicata, e incubados a  $35^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ . Transcorrido este tempo, verificou-se o crescimento de colônias com características de *E. coli*, com brilho metálico esverdeado ou com o centro escuro abrangendo praticamente toda a colônia.

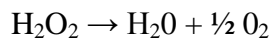
### **3.6. Presença de *Staphylococcus spp***

Para detectar a presença de *Staphylococcus spp*, foram realizadas estrias a partir da diluição  $10^{-1}$ , sobre a superfície de placas com meio seletivo Ágar Baird-Parker e armazenadas a  $37^{\circ}\text{C}/24\text{h}$ .

Para presença de *Staphylococcus* spp na superfície dos tetos, foram realizadas estrias a partir dos swabs diretamente no meio seletivo Ágar Baird-Parker.

Testes de catalase e coagulase foram realizados para prognosticar a espécie *S. aureus*. Antes disso, foi realizado meio de enriquecimento utilizando Caldo de Infusão de Cérebro e Coração (BHI) onde alíquotas de *Staphylococcus* oriundas das placas do meio seletivo foram inoculadas em 1 mL do caldo e estocados a 37°C/24h.

Para o teste de catalase, utilizou-se 0,7 mL de caldo BHI e adicionado 0,7 mL de água oxigenada, em tubos. A catalase desdobra a água oxigenda em água e oxigênio, que se desprende formando bolhas:



O teste é considerado positivo quando há borbulhamento e negativo quando isso não ocorre.

Para o teste de coagulase, utilizou-se 0,3 mL de caldo BHI e acrescentado 0,5 mL de plasma de coelho em tubos e levados a banho maria durante 4h a 37°C. A prova é considerada positiva quando há formação de coágulos.

É característica de *S. aureus* quando os testes de catalase e coagulase são positivos.

### 3.7. Presença de *Salmonella* spp

Na Pesquisa de *Salmonella* spp, foi utilizado o caldo seletivo Selenito Cistina, onde foi retirado com auxílio de pipeta estéril 1 mL da diluição  $10^{-1}$  das amostras e inoculados em tubos de ensaio contendo 9 mL do caldo de enriquecimento acima citado. O material foi incubado em estufa a 37°C por 24 horas. Após esse período, as amostras do meio de enriquecimento foram estriadas em placas de Petri contendo meio sólido seletivo Ágar Salmonella Shigella (SS). As culturas incubadas em estufa a 37°C por 24 horas. Em seguida transferidas para o meio Ágar Três Açúcares e Ferro (TSI) e incubadas por mais 24h a 37°C. A partir de então, testes bioquímicos de hidrólise de ureia e descarboxilação de lisina foram realizados para confirmação de *Salmonella*.

No teste de hidrólise ureia, 3 mL de caldo de ureia foram colocados em tubos, previamente esterilizados, receberam inóculo do TSI e a seguir incubados a 37°C, sendo a leitura realizada com 24 e 48 h.

Neste teste, comprova-se a capacidade de certos micro-organismos de produzirem uréase, com conseqüente produção de amônia em quantidade suficiente para elevar o pH do meio fortemente tamponado. A prova é considerada positiva quando o meio muda a coloração, ficando de rosa a vermelho. É negativa quando não há mudança na coloração do meio (SIQUEIRA, 1995).

Na prova de descarboxilação de lisina, foi distribuído 3 mL de caldo lisina-descarboxilase em tubos de ensaio e inoculados com alíquotas do meio TSI. Após a incubação a 37°C por 48h, foi realizada a leitura.

A prova é utilizada para medir habilidade de alguns micro-organismos de descarboxilarem um aminoácido para formar amina, que alcaliniza o meio. Assim, a prova é considerada negativa quando o meio fica violeta ou quando não há mudança na coloração e positiva quando há enegrecimento do meio (SIRQUEIRA, 1995). É característica de *Salmonella* quando o teste de uréase é negativo e o de lisina é positivo.

### **3.8. Presença de *Listeria* spp**

Para detecção de *Listeria* spp, realizou-se o método de enriquecimento utilizando 1 mL da diluição  $10^{-1}$  em caldo Tryptose Phosphatase Broth e incubados a 37°C/24h. Após esse procedimento, plaqueados em meio seletivo de *Listeria*, Aloa A® PROTAC, e incubados a 37°C por 72h.

Decorrido esse tempo, observou-se crescimento de colônias esverdeadas, características de *Listeria*.

### **3.9. Contaminação do ambiente de ordenha**

Para as amostras de contaminação do ambiente (ralo, chão da sala de ordenha, mãos dos ordenhadores, superfície do latão e teteiras) os swabs umedecidos em solução salina foram submersos em solução de água peptonada e realizados os mesmos procedimentos para testes de coliformes, *Staphylococcus* e *Salmonella*.

A ração fornecida aos animais na hora da ordenha foi coletada em frasco estéril com o auxílio de uma luva esterilizada. Foram pesadas 25 g da amostra e diluída em água peptonada.

### **3.10. Composição**

Amostras de leite cru e pasteurizado foram encaminhadas ao Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE), em tubos padronizados

contendo o conservante bronopol, identificadas e mantidas em caixa isotérmica com gelo reciclável.

A composição química foi determinada pelo equipamento Bentley 2000, através da espectroscopia infravermelha; esse instrumento mede a energia absorvida do componente em específicos comprimentos de onda, no centro da região infravermelha; os resultados são transformados em porcentagem por mL (SILVA, 2011).

### **3.11. Contagem de Células Somáticas (CCS)**

Para Contagem de Células Somáticas, amostras de leite cru e pasteurizado foram encaminhadas ao Programa de Gerenciamento de Rebanhos Leiteiros do Nordeste (PROGENE) em tubos padronizados, contendo o conservante bronopol.

Também foram coletados para análise de CCS os primeiros jatos de leite de 12 animais, antes da ordenha.

A contagem foi realizada pelo método de citometria de fluxo através do equipamento Somacount 300. O DNA das células da amostra é corado pelo brometo de etídio, que é um corante fluorescente. Depois de corado o DNA das células chega a um compartimento denominado citômetro (“flow cell”), por meio de um fluido carregador, onde há incidência de laser sobre uma alíquota da amostra com DNA corado. Ocorre então a emissão de fluorescência, proporcional a quantidade de brometo de etídio ligado ao DNA, que é transformada em pulso elétrico, amplificado, filtrado e convertido em Unidade Formadora de Colônias (UFC) e o resultado é expresso em células por mL de leite (SILVA, 2011).

### **3.12. Análise estatística**

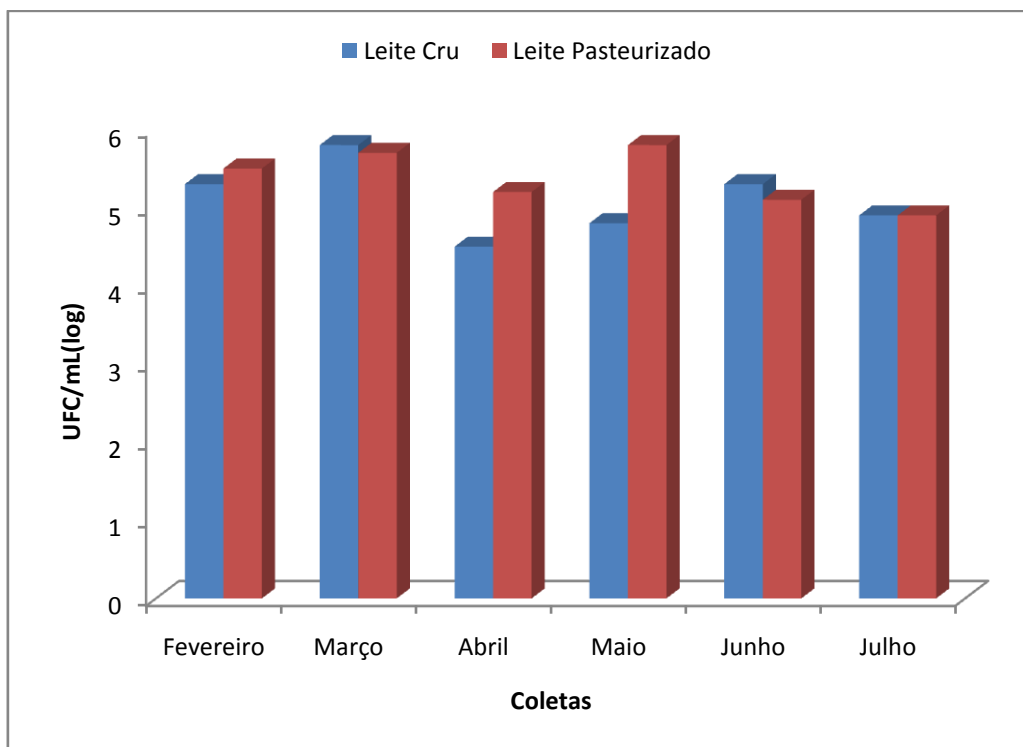
Os resultados obtidos no presente trabalho foram submetidos à análise estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação) e à Correlação de Pearson. Para análise estatística de Contagem Padrão em Placas, Contagem de micro-organismos mesófilos e psicotróficos e Número Mais Provável de coliformes foi utilizada a transformação logarítmica ( $\text{Log}_{10}$ ) a fim de normalizar a distribuição de frequência, como em Delgado-Pertiñez et al (2003).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Contagem Padrão em Placa (CPP)

As médias dos dados obtidos para Contagem Padrão em Placa estão apresentadas na figura 4. Apesar dos altos valores encontrados, apenas em uma amostra de leite pasteurizado a contagem estava acima do permitido, com média de  $6,09 \times 10^5$  UFC/mL.

Figura 4- Médias da Unidade Formadora de Colônia (UFC/mL) da Contagem Padrão em Placa de amostras do leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL



Fonte: Autora, 2015

Os resultados observados neste trabalho foram melhores que os obtidos por Pinto et al (2006) os quais, através da análise da qualidade microbiológica de leite cru refrigerado de silos de indústrias, verificaram que nenhuma amostra atendeu ao padrão microbiológico legal que era de 1.000.000 UFC/mL, pela Instrução Normativa 51.

Freitas et al (2013) avaliando amostras de leite cru de três propriedades nas regiões do Brejo, Sertão e Cariri (PB), constataram que em uma propriedade, todas as amostras estavam com contagem total acima de  $10^6$  UFC/mL. Nas demais propriedades, ao menos uma das amostras apresentaram contagem acima desse padrão. A contagem variou entre variou de  $3,8 \times 10^5$  a  $5,4 \times 10^7$  UFC/mL.

Da forma contrária, Buso et al (2012) realizaram coletas no período de um ano, no Município de Campina Verde (MG) e contataram que em nenhum dos meses os resultados excederam os limites indicados pela Instrução Normativa 62. Os resultados variaram de  $5 \times 10^3$  a  $34,5 \times 10^3$  UFC/mL, com aumento das médias no período chuvoso.

A contaminação bacteriana do leite cru pode ocorrer a partir do próprio animal, do homem e do ambiente. Exceto em casos de mastite, o leite ejetado deve apresentar baixo número de micro-organismos. Essa contaminação é variável, tanto qualitativa quanto quantitativa, em função das condições de higiene existentes. A obtenção do leite de vacas sadias, em condições higiênicas adequadas, e o seu resfriamento imediato a 4°C são as medidas fundamentais e primárias para garantir a qualidade e a segurança do leite e seus derivados (SOUZA et al., 2006).

A saúde da glândula mamária, a higiene de ordenha, o ambiente em que o animal fica alojado e os procedimentos de limpeza do equipamento de ordenha são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana do leite. Valores elevados de contagem padrão em placa (CPP) indicam problemas de assepsia no momento da ordenha, em especial da higiene do ordenhador e dos utensílios utilizados na ordenha (LUZ et al, 2011).

A CPP é um requerimento muito importante para a avaliação da qualidade do leite cru, pois é indicador das condições de higiene em que o leite foi obtido e armazenado, desde o processo de ordenha até o consumo. A alta contagem bacteriana obtida refletem as condições inadequadas de higiene, processamento e armazenamento do leite. A contaminação começa a ocorrer nos canais galactíferos e aumenta gradativamente à medida que o leite segue seu trajeto ao exterior do animal através dos tetos. Estes micro-organismos podem estar localizados no úbere e no canal do teto (FONSECA e FONSECA, 2001 apud SILVA, 2008). Por este motivo, os primeiros jatos de leite possuem maior carga microbiana, necessitando assim que sejam descartados ou realizados teste para diagnosticar mastite.

No entanto, observando a contagem bacteriana dos primeiros jatos por animal (Tabela 3), é possível verificar que as contagens são inferiores às encontrados no leite cru e pasteurizado. Esses dados refletem a falta de cuidados na limpeza e sanificação dos utensílios na ordenha e no processamento do leite.

Tabela 3: Médias das Contagens Padrão em Placas nos primeiros jatos de leite por animal

Animais	Contagem Padrão em Placas (log <sub>10</sub> UFC/mL)					
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
1	0,9726	0,4771	0,3010	0,4771	2,3291	1,2788
2	2,0851	3,0774	1,5563	2,7143	2,0777	1,0000
3	2,1716	2,3243	3,2709	2,1106	2,1523	1,0000
4	2,3115	1,1461	1,1761	3,3749	2,7042	3,1562
5	1,0237	1,2553	0,9031	1,2788	0,7782	0,9031
6	0,9340	0,3010	1,0000	1,2553	1,1139	1,0000
7	1,8122	0,4771	3,4951	1,2304	1,0792	2,7789
8	2,2396	3,7795	1,5315	3,0077	1,0000	1,8791
9	1,8102	1,3010	3,6667	1,2041	1,0000	1,8791
10	1,0397	1,4472	1,5185	0,4771	0,4771	1,2788
11	1,6029	1,3979	0,8451	1,0000	3,7453	1,8791
12	0,9726	1,8692	1,0000	0,9542	0,7782	1,8791

Fonte: Autora, 2015

#### 4.2 Micro-organismos mesófilos e psicotróficos

Na tabela 4 estão apresentadas as médias, desvio padrão e coeficiente de variação do número de Unidades Formadoras de Colônia (log<sub>10</sub> UFC/mL) para micro-organismos aeróbios mesófilos e psicotróficos. A média encontrada no leite pasteurizado (3,8622 log<sub>10</sub> UFC/mL) foi inferior a do leite cru (5,8989 log<sub>10</sub> UFC/mL) para micro-organismos psicotróficos. Quanto aos aeróbios mesófilos, a contagem obtida no leite pasteurizado (6,0367 log<sub>10</sub>) superou a contagem do leite cru (5,0311 log<sub>10</sub>).

Tabela 4: Médias, Desvio padrão e Coeficiente de Variação do número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC/mL) para micro-organismos aeróbios mesófilos e psicotróficos

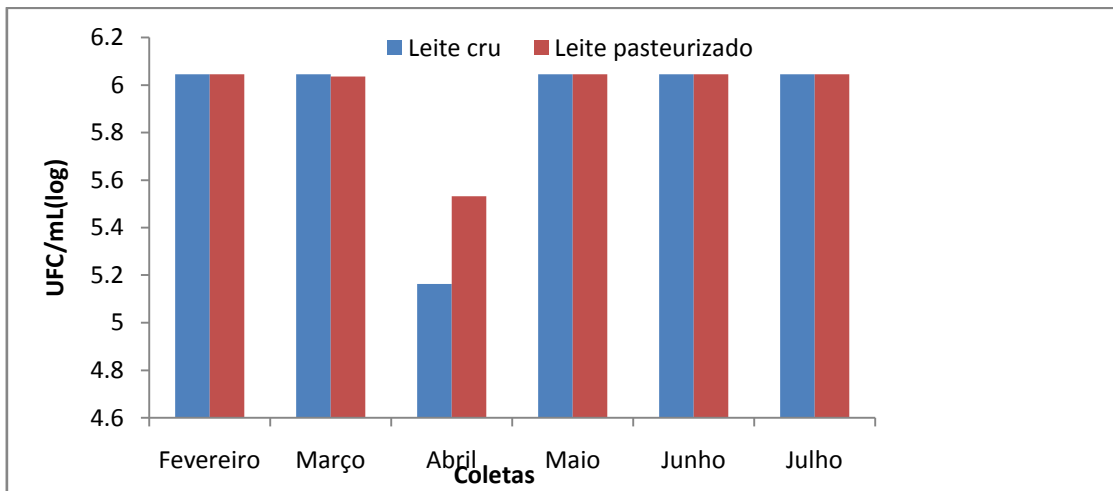
	Leite Cru		Leite pasteurizado	
	Mesófilos	Psicotróficos	Mesófilos	Psicotróficos
	UFC (log <sub>10</sub> )			
Média	5,8989	5,0311	6,0367	3,8622
Desvio Padrão	0,3588	2,4648	0,0169	3,0170
CV%	6,08	48,99	0,28	78,11

Fonte: Autora, 2015

A contagem de micro-organismos aeróbios mesófilos variou de 5,16 a 6,04 log<sub>10</sub> UFC/mL. Apesar de sofrer um decréscimo na terceira coleta, esses valores são indicativos de leite de baixa qualidade higiênico-sanitária (Figura 5).



Figura 5- Médias de Unidades Formadoras de colônias (Log UFC/mL) de micro-organismos aeróbios mesófilos presentes nas amostras de leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL



Fonte: Autora, 2015

Resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho foram descritos por Rossi Júnior et al. (2006) que obtiveram valores para micro-organismos mesófilos de até  $5 \log_{10}$  UFC/mL em leite pasteurizado. Silva et al. (2008) ao analisarem 348 amostras de leite pasteurizado, 87 (25,0%) apresentaram contagens de bactérias mesófilas, acima do permitido pela legislação em vigor. Segundo os autores os principais fatores que afetaram a qualidade do leite pasteurizado foram: qualidade do leite cru, rigor no tratamento térmico, contaminação pós-pasteurização e temperatura de estocagem.

Saeki e Matsumoto (2010) analisaram nove amostras de leite pasteurizado adquiridas no comércio de Bandeirantes (PR) e encontraram valores entre  $0,69 \log_{10}$  a  $5,30 \log_{10}$  UFC/mL para mesófilos e,  $1,0 \log_{10}$  a  $4,28 \log_{10}$  UFC/mL, para psicrotróficos. Das nove amostras, três estavam acima do permitido pela legislação para contagem de mesófilos.

Em um experimento realizado por Oliveira (2005) no Estado de Piracicaba (SP), foram coletadas três amostras de leite cru com contagem média de  $5,1 \times 10^7$  UFC/mL para mesófilos e  $5,0 \times 10^3$  UFC/mL para psicrotróficos, e submetidas à pasteurização em laboratório. Após o processo, a nova contagem para mesófilos foi de  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL e para psicrotróficos,  $1,7 \times 10$  UFC/mL.

Isto revela que a pasteurização quando realizada corretamente, é eficiente na diminuição de micro-organismos. No entanto, a eficácia dela depende da concentração inicial

na matéria prima. Assim, o leite deve ser obtido e processado de forma higiênica, para garantir a inocuidade do produto final.

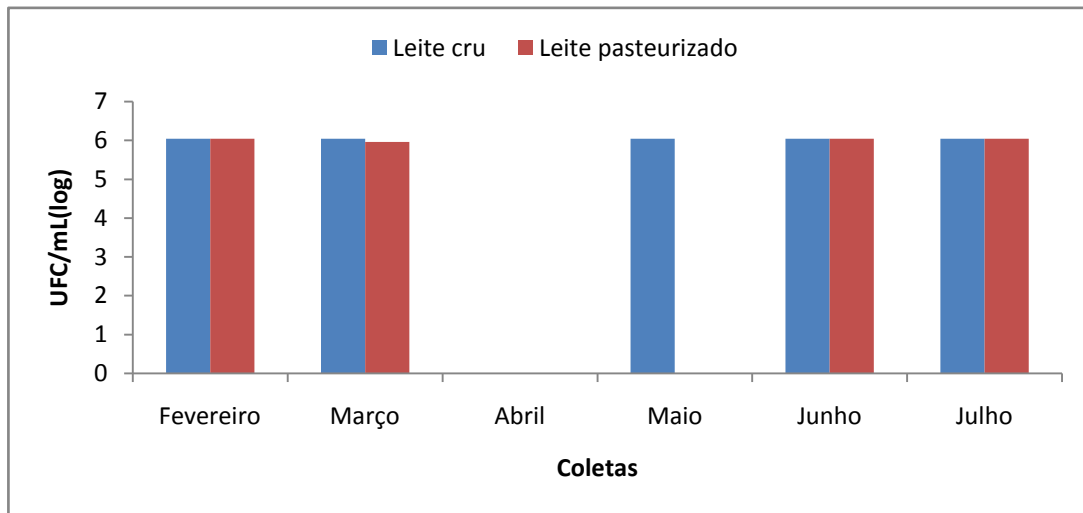
A refrigeração do leite visa reduzir a multiplicação microbiana, contudo, somente essa prática não garante total eficácia e por essa razão, cuidados de ordem higiênica também precisam ser tomados (BONILHA; DIAS e FERREIRA, 2013).

Em São Paulo, foram realizadas visitas a algumas propriedades fornecedoras de leite para observar as condições higiênicas durante e após o processo de ordenha, e implantar nestes locais medidas profiláticas. Observaram-se em todas as propriedades, após a adoção das técnicas profiláticas durante a etapa produtiva, ocorreram diminuições significativas na contagem total de bactérias psicrotróficas, comprovando a importância de práticas de higiene e limpeza sobre a qualidade microbiológica do leite (GUERREIRO et al, 2005).

O controle das bactérias mesófilas é bastante simples, bastando apenas que o leite seja produzido sob condições higiênicas adequadas e que seja resfriado imediatamente após a ordenha. Nestas condições de leite resfriado, os mesófilos não conseguem se multiplicar (SANTOS e FONSECA, 2010). Entretanto, o armazenamento por longo período facilita a proliferação de micro-organismos psicrotróficos, o que pode resultar em queda de qualidade dos produtos lácteos e redução significativa na vida de prateleira (IZIDORO et al., 2013 apud ÂNGELO et al, 2014).

Com relação à contagem de psicrotróficos, não foi observada presença deste micro-organismo na terceira coleta do leite cru e pasteurizado e na quarta coleta, do leite pasteurizado. Os valores encontrados variaram de 0 a 6,045  $\log_{10}$  UFC/mL (figura 6).

Figura 6- Médias de Unidades Formadoras de Colônias (log UFC/mL) de micro-organismos psicrotróficos presentes nas amostras de leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL



Fonte: Autora, 2015

A legislação brasileira não estipula um limite para a população de psicrotróficos, no entanto, de acordo com Pinto et al. (2006) não é recomendável a fabricação de produtos lácteos a partir do leite cru com contagem de psicrotróficos superior a 6,7 log<sub>10</sub> UFC/mL. Champagne et al. (1994) relataram que contagem acima de 6 log<sub>10</sub> UFC/mL de micro-organismos psicrotróficos torna perceptível as mudanças de aroma e sabor do leite

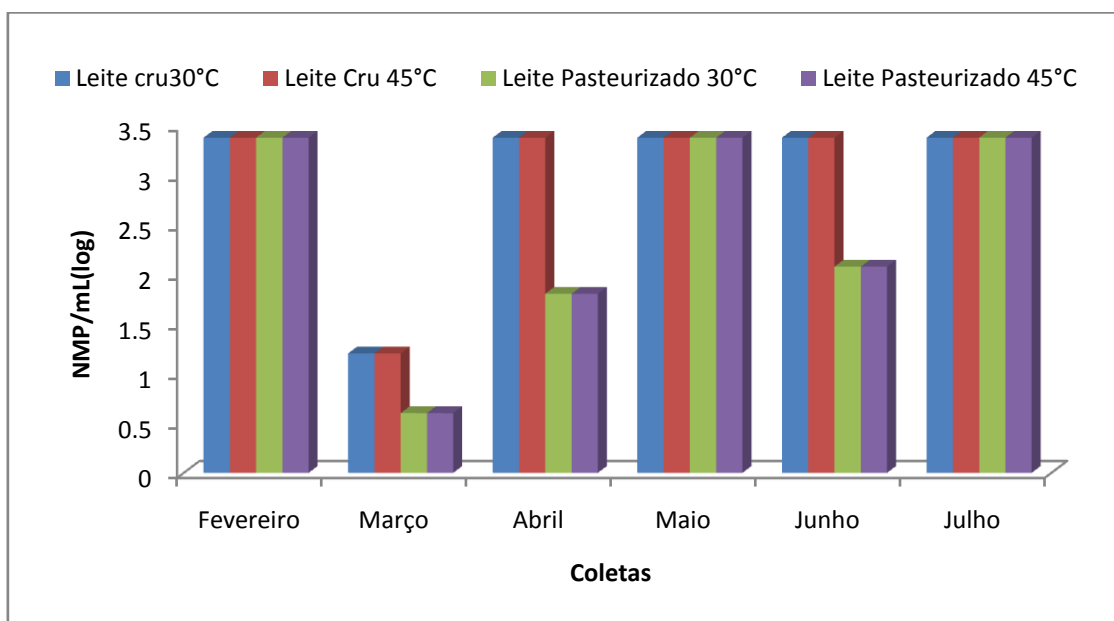
Embora represente menos de 10% da microbiota inicial, em condições adequadas de higiene, a população de psicrotróficos pode alcançar níveis elevados com uma condição higiênica precária e/ou com um elevado número de células somáticas. Por esta razão, a contagem de psicrotróficos em leite cru pode atingir mais de 90% da população bacteriana total (SAMARŽIJA ZAMBERLIN e POGACIC, 2012).

Contagens de psicrotróficos a partir de 6 log<sub>10</sub> UFC/mL permitem modificações em leite e derivados, encurtando a vida útil dos mesmos (MAHIEU, 1991). A baixa contagem de micro-organismos psicrotróficos no leite é de fundamental importância para sua qualidade, pois constitui um grupo que possui a capacidade de produzir enzimas lipolíticas e proteolíticas termorresistentes, que mantêm sua atividade após a pasteurização ou mesmo após o tratamento por UHT causando problemas na conservação e na indústria. Problemas relacionados à qualidade dos produtos lácteos como alteração de sabor e odor, perda de consistência e gelatinização ao longo da vida comercial do leite UHT, podem estar associados à ação das enzimas de origem bacteriana (ROSSI JÚNIOR et al., 2006).

### 4.3 Contagem de Coliformes e presença de *Escherichia coli*

Tanto no leite como no ambiente de ordenha, houve intensa contaminação por coliformes totais (coliformes a 35°C) e termotolerantes (coliformes a 45°C). Na maioria das coletas, os resultados chegaram ao limite máximo de contagem de coliformes, segundo tabela do Compendium of methods for the microbiological examination of foods (SECK, 1976) (Figura 7).

Figura 7- Número Mais Provável de Coliformes (NMP/mL) a 30° e 45° C presentes nas amostras de leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL



Fonte: Autora, 2015

A Instrução Normativa 62 estabelece o limite máximo de coliformes no leite cru a 35°C de 4 NMP/mL e máximo de 2 NMP/mL de coliformes a 45°C. No leite pasteurizado, esse limite cai para <0,3 NMP/mL de coliformes a 35°C. Os valores encontrados nesse estudo ficaram além dos parâmetros exigidos na Legislação. É necessário que haja maior controle na higienização na ordenha e dos equipamentos utilizados, pois estes também são fontes de contaminação.

Com relação a presença de *E. coli*, foi confirmada a presença somente na segunda coleta do leite pasteurizado.

Silva et al (2008) ao analisarem leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas constatou que das 348 amostras de leite, 55,7% apresentaram contagens de coliformes a 35 °C, coliformes a 45 °C acima do permitido pela legislação em vigor.

Maciel et al (2008) encontraram contaminação por coliformes em todas as 30 amostras de leite cru analisadas. Os números variaram de  $1,5 \times 10^3$  a  $2,4 \times 10^5$  NMP/mL e  $1,5 \times 10^3$  a  $9,3 \times 10^4$  NMP/mL pra coliformes a  $35^\circ\text{C}$  e coliformes a  $45^\circ\text{C}$ , respectivamente.

Martins e Lima (2013) avaliaram leite obtido em duas propriedades. Na propriedade com ordenha mecânica, todas as amostras apresentaram contagens que variaram de  $4,3 \times 10^2$  a  $4,6 \times 10^3$  NMP. mL<sup>-1</sup>. Já na propriedade com ordenha manual, houve contagens apenas nas 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> coletas, com resultados que variaram entre  $9,2 \times 10^1$  a  $4,6 \times 10^3$  NMP. mL<sup>-1</sup>.

Considerando que os coliformes são destruídos na pasteurização, a presença destes em leite pasteurizado indica a necessidade de uma ação mais efetiva no controle do tempo e temperatura do pasteurizador, na seleção de fornecedores de leite cru e na sanitização de equipamentos que entram em contato com o leite após pasteurização (SILVA et al, 2008).

Com relação ao ambiente de ordenha (Tabela 5), os principais pontos de contaminação para coliformes a  $30^\circ$  foram a ração, latão, chão e mão dos ordenhadores. Para coliformes a  $45^\circ$  os principais contaminantes foram a ração, chão, latão e mãos dos ordenhadores. Na contagem de coliformes totais e termotolerantes, as teteiras apresentaram menor contaminação, com média de 1,73 NMP/ml (Log<sub>10</sub>). Já a ração ofertada aos animais no momento da ordenha, teve maior índice de contaminação para ambos, com média de 3,26 NMP/ml (Log<sub>10</sub>).

Tabela 5: Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação do Número Mais Provável de Coliformes (NMP/ mL) a  $30^\circ\text{C}$  e  $45^\circ\text{C}$  no ambiente de ordenha

	Coliformes a $30^\circ\text{C}$						Coliformes a $45^\circ\text{C}$					
	NMP(log <sub>10</sub> )						NMP(log <sub>10</sub> )					
	Chão	Latão	Mão	Ração	Ralo	Teteir	Chão	Latão	Mão	Ração	Ralo	Teteir
Média	2,917	2,924	2,855	3,267	2,589	1,735	2,918	2,899	2,855	3,267	2,589	1,735
Desvio Padrão	0,519	0,802	0,819	0,175	0,927	1,010	0,519	0,860	0,819	0,175	0,926	1,010
CV%	17,81	27,43	28,69	5,35	35,80	58,20	17,81	29,68	28,69	5,35	35,80	58,20

Fonte: Autora, 2015

Observou-se que o piso da sala de ordenha dificultava o escoamento da água na lavagem e conseqüentemente havia maior acúmulo de resíduos orgânicos, fato que pode ter ocasionado a alta contagem de coliformes no chão.

O ordenhador não se limitava à ordenha dos animais. Eles também eram responsáveis por conduzir o animal da sala de espera até a ordenha, pear e lavar o piso. Estas tarefas devem ser realizadas por um auxiliar, para diminuir a carga microbiana do leite. Assim, esta rotina adotada facilitou que as mãos dos ordenhadores também apresentassem alta contagem de micro-organismos.

Maiores cuidados devem ser tomados na sanitização do latão onde o leite é armazenado antes da pasteurização. Também é de fundamental importância a conscientização dos ordenhadores para lavagem das mãos, pois são eles quem manipula todos os utensílios e servem a ração aos animais.

Molineri et al. (2012) observaram que fazendas onde os ordenhadores não lavavam as mãos durante o período de ordenha foram 7,81 vezes mais propensas a terem maior contagem de psicotróficos.

Silva et al (2011) ao rastrear as fontes de contaminação do leite cru no agreste de Pernambuco, constatou que os principais pontos de contaminação em ordem decrescente foram: água residual do latão, fundo do latão, resfriador, tetos, três primeiros jatos, teteiras, baldes e mãos dos ordenhadores. O emprego inadequado ou a ausência de boas práticas de higiene na ordenha afetou a qualidade microbiológica do leite, deixando-o com qualidade ruim, segundo autores.

Santana et al (2001) avaliando os diversos pontos de produção de leite de cinco propriedades da Região de Londrina, verificou que os principais pontos de contaminação foram os latões, tanques de expansão, água residual de equipamentos e utensílios de ordenha e tetos higienizados inadequadamente.

Yamazi et al (2010) visando avaliar a eficácia de práticas higiênicas durante a ordenha em uma propriedade rural em Viçosa (MG), notou uma redução de 63,5% de coliformes totais no leite e 88,1% de redução de *Escherichia coli*, após a implantação de boas práticas de ordenha.

A carga microbiana inicial está diretamente relacionada com a limpeza dos utensílios utilizados para retirada e transporte do leite. Desta forma a higienização dos equipamentos e utensílios da ordenha são os principais fatores responsáveis pela produção de leite de alta qualidade. Estima-se que 95% dos problemas com altas contagens bacterianas estejam

relacionadas a deficiências na limpeza e sanificação dos utensílios e do sistema de ordenha e deficiências na higiene da ordenha (FONSECA e SANTOS, 2000 apud SANTOS, 2010).

#### 4.4 Presença de *Staphylococcus* spp

Os testes realizados para *Staphylococcus* indicaram presença desse micro-organismo em 95,84% das coletas de leite e nos pontos analisados. Exceções ocorreram na teteira, primeira coleta e no latão, na quinta coleta (Tabela 6).

Tabela 6: Presença de *Staphylococcus* spp no ambiente de ordenha e nos leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-Al.

	1º Coleta	2º Coleta	3º Coleta	4º Coleta	5º Coleta	6º Coleta
<b>Ração</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença
<b>Ralo</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença
<b>Chão</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença
<b>Mão</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença
<b>Latão</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Ausência	Presença
<b>Teteira</b>	Ausência	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença
<b>Leite cru</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença
<b>Leite pasteurizado</b>	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença	Presença

Fonte: Autora, 2015

Gillespie et al (2012) coletaram durante um período de 42 meses, amostras de leite cru em nove fazendas no Estado de Tennessee (EUA) para contagem de *Staphylococcus* spp. A contagem variou entre  $7,5 \times 10^1$  e  $3,0 \times 10^4$  UFC/mL. Dentre essas amostras, 89% foi confirmada como *S. aureus*.

Pinto et al (2011) objetivando verificar o perfil microbiológico do leite bovino proveniente de quatro propriedades da bacia leiteira do Estado de Alagoas, constaram a presença de *Staphylococcus* spp em 32% das 125 amostras de leite cru. Desse total, 57,5% foram positivas para o teste de coagulase.

Andrade et al (2009) também realizaram tipificação bacteriana em amostras de leite não pasteurizados de três rebanhos na Região de Curitiba (PR). Dos 966 isolamentos realizados, os micro-organismos com maior frequência foram *Staphylococcus* spp, representando 32,7% do total.

Nos testes de coagulase realizados, houve maior incidência de coagulação no leite cru, leite pasteurizado, chão e latão. Já no teste de catalase, a maioria dos pontos analisados apresentaram resultados positivo.

Apesar de não existir legislação para contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva em leite pasteurizado, a presença deste micro-organismo é preocupante, pois concentrações desses micro-organismos variando entre 5 e 6 log<sub>10</sub> UFC/mL são consideradas suficientes para a produção de toxinas prejudiciais a saúde humana (ASSUMPCÃO et al., 2003).

Na superfície dos tetos dos animais também foi detectada presença de *Staphylococcus* na maioria das coletas e nos quartos mamários. Na quinta coleta houve 100% de presença desta bactéria nos doze animais e em todos os quartos mamário (Tabela 7). Em todos os animais, houve ao menos um resultado positivo para coagulase e catalase.

Tabela 7: Frequência média de *Staphylococcus* spp nos tetos dos animais

	%			
	AD	PD	AE	PE
Fevereiro	100	75	91,66	91,66
Março	91,66	100	100	100
Abril	100	100	91,66	91,66
Mai	100	100	91,66	100
Junho	100	100	100	100
Julho	91,66	91,66	91,66	91,66

Fonte: Autora, 2015

AD: Anterior Direito; PD: Posterior Direito; AE: Anterior Esquerdo; PE: Posterior Esquerdo

Os micro-organismos encontrados no leite total do rebanho originam-se dos úberes infectados, da superfície dos úberes e dos tetos, ou de uma variedade de outras fontes do ambiente da fazenda (GODKIN e LESLIE, 1993 apud LEE, 2012).

Segundo Yamazi et al (2010), a higienização prévia dos tetos, mãos do(s) ordenhador(es) e do local de ordenha, que incluem teteiras, latões, ordenhadeira e do piso, é fundamental para redução da contaminação por micro-organismos deteriorantes e patogênicos no leite, além de melhorar as condições higiênicas finais.



Entre as fontes de contaminação de patógeno, os manipuladores de alimentos, portadores de cepas enterotoxigênicas são os grandes responsáveis, sendo as fossas nasais o principal reservatório. Segundo Zecconi e Hahn (2000), para diminuir o risco da presença do *Staphylococcus* spp é necessário implementar medidas para reduzir a prevalência das infecções intramamárias (mastite) nos bovinos. Estas infecções são frequentes em rebanhos leiteiros, sendo responsável por grandes prejuízos à pecuária leiteira, pois ocasionam redução na produção de leite, gastos com medicamentos e assistência veterinária, além da possibilidade de veiculação deste micro-organismo, toxinas e resíduos de antimicrobianos no leite (FREITAS et al., 2005)

Objetivando reduzir o impacto deste tipo de contaminação externa, é recomendável a desinfecção dos tetos antes da ordenha, também conhecida como *pré-dipping*, como estratégia de melhoria da qualidade do leite e, adicionalmente, para o controle de mastite (PANKEY, 1989 apud BRITO et al, 2000).

Além dos efeitos positivos sobre a qualidade do leite, os procedimentos de preparação do úbere antes da ordenha têm efeito importante sobre a ocorrência de novas infecções intramamárias, visto que o risco destas novas infecções está diretamente associado com a intensidade de contaminação da extremidade do teto (PANKEY, 1989 apud SANTOS, 2002). Desta forma, um dos objetivos da desinfecção dos tetos antes da ordenha é reduzir a contaminação da extremidade dos tetos e, conseqüentemente, reduzir o risco de novas infecções (SANTOS, 2002).

#### **4.5. Presença de *Salmonella* spp**

Não foi detectada a presença *Salmonella* nas amostras estudadas. Os testes bioquímicos de uréase e descaboxilação de lisina realizados no leite e no ambiente de ordenha para detectar a presença de *Salmonella* spp foram negativos, descartando a possibilidade de contaminação por esta bactéria.

Visto que este micro-organismo é considerado patogênico, a IN 62 estabelece que para o leite de qualidade deva haver ausência de *Salmonella* spp/25 mL. Assim, os resultados encontrados estão dentro da norma em vigor.

Pietrowski et al (2008) avaliaram a qualidade microbiológica do leite pasteurizado em Ponta Grossa (PR) e também não encontraram presença de *Salmonella* sp., em nenhuma das 4 amostras analisadas, mostrando que os produtos analisados encontravam-se de acordo com a legislação.

Martins et al (2012) analisaram 8 amostras de leite pasteurizado comercializados no mercado varejista no Ceará e não detectaram presença de *Salmonella* em nenhuma delas.

Por outro lado, Moura (2012) analisou amostras de leite pasteurizado do programa “Leite é saúde” também no Estado do Ceará e constatou que das 90 amostras analisadas, 14, 1% apresentaram contaminação por *Salmonella*, indicando falhas no processamento.

#### **4.6 Presença de *Listeria* spp**

Testes realizado para *Listeria* spp no leite cru e pasteurizado apontaram contaminação por esta bactéria. Isso demonstra que a pasteurização é deficiente, já que esse micro-organismo é eliminado durante esse processo.

Almeida et al (2013) colheram 30 amostras de leite cru e 30 de leite pasteurizado e relataram a ocorrência de *Listeria* spp em 3 das amostras de leite cru, não havendo evidenciado a presença de *Listeria* em leite pasteurizado. Fato que não exclui a possibilidade da presença desta bactéria, já que é pouco competitiva em meio a outros micro-organismos, principalmente quando estes se apresentam em índices elevados, como observado nos resultados para os coliformes que deixou a maioria das amostras de leite pasteurizado tipo C em situação desconforme com a legislação, segundo autores.

Pieta (2010) em amostras das superfícies dos equipamentos e utensílios higienizados em dois laticínios no Rio Grande do Sul identificou a presença de *Listeria* spp em forma de queijo e iogurteira, um indicativo de falhas na pasteurização e contaminação pós-processo.

Catão e Ceballos (2001) investigaram a presença de *Listeria* spp em 75 amostras de leite provenientes dos Municípios de Sousa (PB), Campina Grande (PB) e Garanhuns (PE); sendo 45 amostras de leite cru e 30 amostras de leite pasteurizado. Encontraram resultado positivo em 42 amostras, 33 em leite cru e nove em leite pasteurizado. Desse total, 26 amostras foram confirmadas como *L. monocytogenes*.

A IN 62 não faz menção quanto a presença de *Listeria* spp, no entanto como se trata de um micro-organismos patogênico, é ideal a ausência dessa bactéria no leite, para que não haja comprometimento à saúde pública.

#### 4.7 Composição

A média da composição de gordura no leite cru ficou abaixo do valor mínimo estabelecido pela Instrução Normativa 62, que é de 3,0 g/100 ml. Já no leite pasteurizado, o valor médio está dentro do padrão legislativo. Todos os demais componentes estudados estão em acordo com o preconizado pela IN 62 (Tabela 8 e 9).

Tabela 8: Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da gordura proteína, lactose, sólidos totais, ureia e caseína do leite cru de vacas mestiças coletados em Satuba-AL

	%GORD	%PRO	%LAC	%SOL	UREIA	CASEINA
Média	2,7917	3,4950	4,3550	11,6867	8,0600	1,0920
Desvio Padrão	0,3579	0,1707	0,0824	0,3615	1,0607	0,1838
CV	12,82	4,88	1,89	3,09	13,16	16,83

Fonte: Autora, 2015

Valores semelhantes para a estes foram encontrados por Silva et al (2010), avaliando a qualidade do leite cru e pasteurizado de uma granja leiteira no Rio Grande do Sul. Os valores encontrados foram 3,31% de gordura, 3,33% de proteína, 4,45% de lactose e 11,97% de sólidos totais, estando em conformidade com o mínimo exigido pela Instrução Normativa 62.

Caldeira et al (2010), avaliando a composição química de leite cru coletados na plataforma de recepção de dois laticínios em Janúba (MG) encontraram valores médios de 3,5% para gordura; 2,62% para proteína; 4,98% para carboidratos e 12,13% para sólidos totais. Dentre estes valores, apenas a proteína estava abaixo do recomendado pela IN 62.

Santos et al (2011) estimaram a composição do leite pasteurizado comercializado em São Luis (MA) quanto aos valores de gordura, proteína e sólidos totais e contabilizaram valores médios de 3,0; 2,90 e 11,4, respectivamente. Todos os valores corresponderam aos parâmetros estabelecidos pela normativa vigente.

Tabela 9: Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da gordura proteína, lactose, sólidos totais, ureia e caseína do leite pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL

	%GORD	%PRO	%LAC	%SOL	UREIA	CASEINA
Média	3,1583	3,5333	4,3733	12,1167	13,8667	1,8900
Desvio Padrão	0,6757	0,1540	0,0700	0,7434	12,0426	1,6390
CV	21,39	4,36	1,60	6,14	86,85	86,72

Fonte: Autora, 2015

#### 4.8 Contagem de Células Somáticas

A tabela 10 apresenta dados obtidos Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da contagem de células somáticas (CSS x10<sup>3</sup>) do leite cru e pasteurizado

Tabela 10: Médias, Desvios-padrão e Coeficientes de Variação da contagem de células somáticas CSS x10<sup>3</sup> do leite cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL

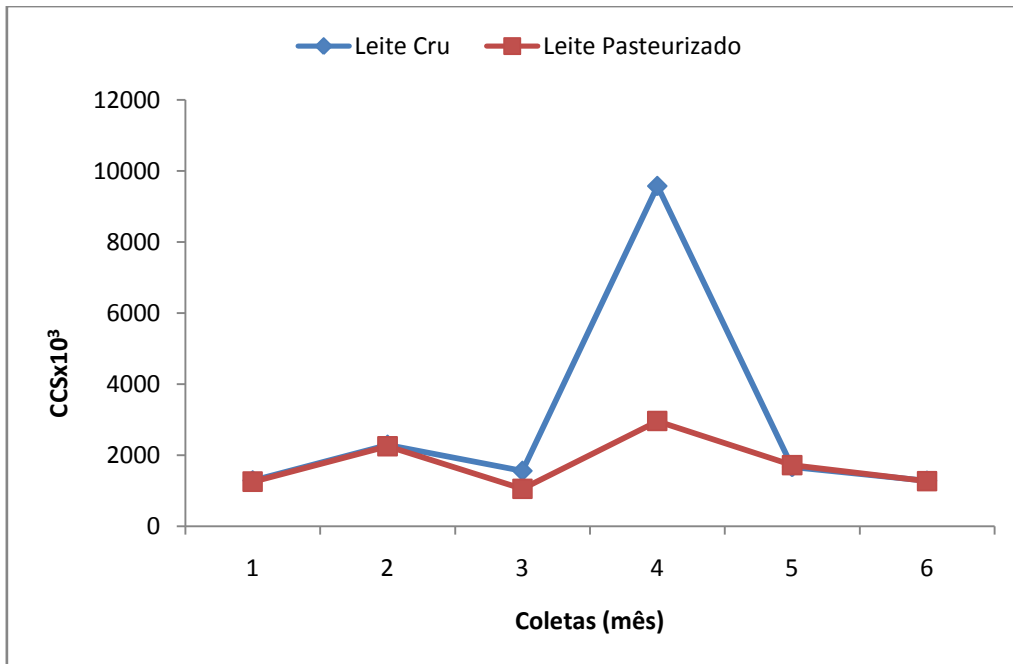
	Leite cru	Leite Pasteurizado
Média	1605,8333	1837,1050
Desvio Padrão	463,4276	659,3932
CV	28,86	35,89

Fonte: Autora, 2015

A Contagem de Células Somáticas variou entre 1,051x10<sup>6</sup> a 9,576x10<sup>6</sup> CS/mL. A Instrução Normativa 62 estabelece o limite máximo para CCS de 6,0x10<sup>5</sup> CS/mL. Mesmo no mínimo valor encontrado, as contagens ficaram além do limite máximo exigido, indicando comprometimento com a saúde do animal e também dos consumidores deste alimento, haja vista que o principal causador deste problema é produtor de enterotoxina resistente a pasteurização (Figura 8).

A pasteurização não altera a qualidade do leite cru. Em alguns casos ainda pode haver uma recontaminação e comprometer ainda mais a qualidade do alimento, como ocorreu na coleta cinco.

Figura 8- Variação da contagem de células somáticas CSS x10<sup>3</sup> do leite coletado cru e pasteurizado de vacas mestiças coletados em Satuba-AL



Fonte: Autora, 2015

Os valores observados foram superiores aos obtidos por outros autores, Buso et al (2012) ao pesquisarem durante 12 meses a qualidade do leite de uma propriedade em Campina Verde (MG), observou contagem mínima de Células somáticas de  $281 \times 10^3$  CS/mL e máxima de  $489 \times 10^3$  CS/mL, valores que estão dentro do padrão estabelecido na IN 62.

Souto et al (2009) analisaram 36 amostras de leite cru produzidos em propriedades do Estado de São Paulo e foi observado que mesmo comparando com o padrão mais rígido para IN 51 ( $<4,0 \times 10^5$  CS/mL), 33 amostras atendiam a exigência estabelecida. Esse resultado também se enquadra na IN 62.

Quanto a Contagem de Células Somáticas dos primeiros jatos por animal, os dados variaram entre  $10 \times 10^3$  a  $8533 \times 10^3$  CS/mL (Tabela 11). Grande parte das coletas os animais apresentaram resultados acima do exigido pela IN 62. Esses dados são indicativos de ocorrência de mastite, havendo então necessidade de tratamento para controle desta infecção, bem como a implantação da segregação de ordenha, para não transmitir aos animais saudáveis.

Medidas corretivas devem ser tomadas para que o produtor não tenha prejuízo econômico com a queda de produção leiteira e para que não haja perda no rebanho, devido à alta contagem de CCS. Tais medidas também irão garantir um melhor rendimento na produção de derivados lácteos e garantir a segurança do alimento.

Tabela 11: Médias das contagens de células somáticas (CCS/mL) em amostras de leite por animal

Animais	Coletas Mensais (CCS X 10 <sup>3</sup> células/mL <sup>-1</sup> )					
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	4 <sup>a</sup>	5 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>
1	315	86	61	10	2048	1405
2	89	2508	1490	2733	3574	641
3	30	1337	2919	952	87	6213
4	2512	643	579	6691	248	2874
5	1770	1048	319	486	458	459
6	3424	74	118	859	998	5212
7	3113	27	4764	142	895	3578
8	1632	8533	312	2354	2085	6517
9	3735	74	6413	813	7160	221
10	3070	681	876	10	124	270
11	944	453	402	347	559	5697
12	3098	423	13	443	5341	3447

Fonte: Autora, 2015

#### 4.9 Correlações Composição química e Contagem de Células Somáticas

O coeficiente de correlação Pearson ( $r$ ) varia de -1 a 1. O sinal indica direção positiva ou negativa do relacionamento e o valor sugere a força da relação entre as variáveis. Uma correlação perfeita (-1 ou 1) indica que o escore de uma variável pode ser determinado pelo escore da outra. No outro oposto, uma correlação de valor zero indica que não há relação linear entre as variáveis (FIGUEIREDO FILHO e SILVA JUNIOR, 2009).

Houve uma forte correlação negativa entre CCS e a caseína no leite cru ( $r = -0,61$ ) o que corrobora com o que foi abordado anteriormente, alta CCS influencia negativamente na composição de caseína. Já para lactose no leite cru, houve uma moderada correlação ( $r = 0,36$ ). Valor semelhante foi observado quanto à correlação de sólidos totais comparados a Contagem de Células Somáticas (Tabela 12).

Tabela 12: Correlação de Pearson entre as variáveis avaliadas em leite cru em uma Fazenda no Município de Satuba - AL

	%GORD	%PRO	%LAC	%SOL	UREIA	CASEINA	CCS10 <sup>3</sup>	UFC(Log)	MESO	PSI	Coli35°	Coli45°
GORD	1,00	0,11	- 0,61	0,88*	- 0,12	- 0,18	0,28	- 0,54	- 0,37	- 0,36	0,94**	- 0,97**
PROT		1,00	- 0,06	0,53	- 0,25	- 0,19	0,02	- 0,30	0,59	0,59	0,10	- 0,03
LAC			1,00	0,42	- 0,67	- 0,64	0,36	0,93**	0,68	0,68	- 0,34	0,45
SOL				1,00	- 0,36	- 0,38	0,37	- 0,46	0,02	0,03	0,88*	- 0,86*
UREIA					1,00	0,99**	- 0,56	- 0,64	- 0,67	- 0,66	- 0,41	0,25
CASEINA						1,00	- 0,61	- 0,63	- 0,58	- 0,58	- 0,47	0,32
CCS							1,00	0,34	0,05	0,05	0,50	0,48
UFC								1,00	0,44	0,43	- 0,24	0,38
MESO									1,00	0,99**	- 0,22	0,33
PSI										1,00	- 0,21	0,33
Coli35											1,00	- 0,97**
Coli45												1,00

Fonte: Autora, 2015

Gord= gordura; Prot =proteína; Lac=lactose; Sol=sólidos totais; Meso = aeróbios mesófilos, Psi= psicrotíficos; Colif. 35°C= coliformes a 35°C e Colif. Termo= coliformes termotolerantes

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ ) e  $p = 0.0000$  significa  $p < 0.0001$

Fraca correlação entre gordura e CCS foi observada no leite cru e pasteurizado  $r = 0,28$  e  $0,20$ , respectivamente (Tabela 12 e 13). Resultado também encontrado por Sabedot et al (2011), que observaram uma correlação de  $r = 0,14$  em leite cru. Cunha et al (2008) encontraram valor de  $r = 0,0719$  para essa mesma correlação, também em leite cru.

Silva et al (2014) encontraram correlações positivas entre CCS com teores de gordura e sólidos totais; e correlações negativas entre CCS e lactose, em leite bovino armazenado em tanques de refrigeração no agreste de Rio Grande do Norte.

Vargas (2014) observaram que com o aumento da CCS, houve também aumento do teor de gordura, proteína e sólidos totais, enquanto que o teor de lactose diminuiu.

Não foram encontrados valores significativos para CCS e os componentes do leite. Todavia, houve significância nas correlações Coliformes 35° e 45°, no leite cru, com gordura e sólidos totais. Diferente do resultado de Sabedot et al (2011) que não acharam correlação significativa entre esses parâmetros, mas sim para Coliformes 35° e lactose.

Tabela 13: Correlação de Pearson entre as variáveis avaliadas em leite pasteurizado em uma Fazenda no Município de Satuba –AL

	%GORD	%PRO	%LAC	%SOL	UREIA	CASEINA	CCS10 <sup>3</sup>	UFC(Log )	MESO	PSI	Coli35°	Coli45°
GORD	1,00	0,46	-0,90*	0,98**	0,84*	0,85*	0,20	-0,0001	-0,23	0,85*	0,48	0,26
PROD		1,00	-0,24	0,62	0,14	0,14	-0,12	-0,47	0,23	-0,15	0,30	0,07
LAC			1,00	-0,82*	-0,84*	-0,82	0,11	0,19	0,52	0,83*	-0,56	-0,20
SOL				1,00	0,77	0,79	0,22	-0,04	-0,13	-0,79	0,45	0,23
UREIA					1,00	0,99**	0,29	0,22	-0,62	-0,99**	0,32	-0,10
CASEINA						1,00	0,37	0,29	-0,55	-0,99**	0,30	-0,07
CCS							1,00	0,93**	0,31	-0,33	-0,19	0,08
UFC								1,00	0,13	-0,25	-0,38	-0,08
MESO									1,00	0,58	0,01	0,58
PSI										1,00	-0,31	0,09
Coli35											1,00	0,72
Coli45												1,00

Fonte: Autora, 2015

Gord= gordura; Prot =proteína; Lac=lactose; Sol=sólidos totais; Meso = aeróbios mesófilos, Psi= psicrotróficos; Colif. 35°C= coliformes a 35°C e Colif. Termo= coliformes termotolerantes

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ ) e  $p = 0.0000$  significa  $p < 0.0001$

Estes também encontraram correlação significativa positiva ( $r = 0,97$ ) para sólidos totais e gordura, valor semelhante ao observado para o leite pasteurizado ( $r = 0,98$ ). No leite cru essa correlação diminui um pouco, mas ainda assim é significativa ( $r = 0,88$ ). Ainda em relação aos sólidos totais, houve correlação significativa negativa entre ele o teor de lactose no leite pasteurizado.

Foi encontrada correlação significativa negativa também entre os micro-organismos psicrotróficos e a caseína, provavelmente devido a sua atividade proteolítica.



## 5. CONCLUSÃO

Os resultados microbiológicos obtidos refletem a falta de cuidados higiênicos na ordenha e no processamento do leite, deixando-o fora dos padrões normativos.

A alta Contagem de Células Somática no rebanho estudado, indicando possíveis infecções intramamária nos animais. No entanto, não interferiu significativamente na composição química do leite cru e pasteurizado.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, L. R. **Tecnologia de Leite e Derivados**. Lavras: Universidade Federal de Lavras. Apostila de aula. 1998.
- AGRODEBATE, **Produção de leite no Brasil deve ser de 37 bilhões de litros em 2014**. Disponível em: < <http://g1.globo.com/mato-grosso/agrodebate/noticia/2013/12/producao-de-leite-no-brasil-deve-ser-de-37-bilhoes-de-litros-em-2014.html>> Acesso em: 19 ago 2014.
- ALMEIDA, T. V. **Parâmetros de qualidade do leite cru bovino**: Contagem Bacteriana Total e Contagem de Células Somáticas. Seminário apresentado ao Curso de Mestrado em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, 2013.
- ALMEIDA, V. M; PEREIRA, L. S; COSTA, F. N. *Listeria* spp., coliformes, bactérias mesófilas e psicrotróficas no leite in natura e pasteurizado tipo C. **Rev Inst Adolfo Lutz**; v.72, p.104-9, 2013.
- ANDRADE, U. V. C; HARTMANN, W; MASSON, M. L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. **Ars Veterinaria** , v.25, n.3, 129-135, 2009.
- ÂNGELO, F. F. et al. Bactérias psicrotróficas em leite cru refrigerado. **Rev. Cien. Med. Vet.** v 22, 2014.
- ARCURI, E. F. et al. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v.38, n.8, p.2250- 2255, 2008.
- ARCURI, E. F. et al. **Qualidade** microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot**, v58, n3, p440-446, 2006.
- ASSUMPCÃO, E. G. et al. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arq Bras Med Vet Zoot**, v. 55, n. 3, p. 366-370, 2003.
- BARANCELLI, G, V. et al. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arq. Inst. Biol.**, v.78, n.1, p.155-168, jan./mar., 2011.
- BARBOSA, S. B. P; JATOBÁ, R. B; BATISTA, A. M. V. A Instrução Normativa 51e a qualidade do leite na Região Nordeste e nos Estados do Pará e Tocantins. In: BARBOSA, S. B. P; BATISTA, A. M. V; MONARDES, H. **III Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite**. Recife: CCS Gráfica e Editora, 2008, v1, p 25-33.
- BELMONTE, E. A.; LAGO, N. C. M. R. Pesquisa de microrganismos indicadores em leite pasteurizado integral comercializado nas cidades de Ribeirão Preto e Sertãozinho, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1., 2004, Rio Grande do Sul. **Anais**. Passo Fundo: Sociedade Brasileira de Qualidade do Leite, 2004. 1 CD-ROM.

BONILHA, T. A. M; DIAS, H. K. M. F; FERREIRA, G. P. A. **Análise microbiológica do leite cru produzido na fazenda do centro universitário cesumar** – unicesumar coletado por ordenha mecânica e manual. VIII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar, 2013. Disponível em:

[http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit\\_mostra/Tayrine\\_Adovanir\\_Micena\\_Bo\\_nilha\\_2.pdf](http://www.cesumar.br/prppge/pesquisa/epcc2013/oit_mostra/Tayrine_Adovanir_Micena_Bo_nilha_2.pdf) Acesso em 21 jul 2013.

BOZO, G. A. et al. Adequação da contagem de células somáticas e da contagem bacteriana total em leite cru refrigerado aos parâmetros da legislação. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.65, n.2, p.589-594, 2013.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa 62**, de 29 de dez de 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Leite tipo A, Leite tipo B, Leite tipo C, Leite Pasteurizado e Leite Cru Refrigerado**. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002.

BRITO, M. A. et al. **Composição**. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Agência de Informação EMBRAPA, Agronegócio do leite, 20--.

BRITO, M. A. et al. **Tipos de microrganismos**. Agencia de Informação Embrapa. Agronegócio do leite. Disponível em:

[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01\\_182\\_21720039246.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia8/AG01/arvore/AG01_182_21720039246.html), Acesso em 20 ago 2014.

BRITO, J. R. F; BRITO, M. A. V. P; VERNEQUE, R. S. Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, v. 30, n. 5, 2000.

BRITO, J. R. F.; BRITO, M. A. V. P.. Qualidade do leite brasileiro e os desafios para atendimento das exigências internacionais. In: Silva, M. V. M.; Sarmiento, A.M.C.; Franca, A. P. **Resíduos de antibióticos no leite e seus efeitos na saúde pública**: uma preocupação constante, 2004.

BRITO, M. A. V. P; BRITO, J. R. F. **Qualidade do leite**. Capítulo 3. 1998.

BRITO, J.R.F. et al. Adoção de boas práticas de fabricação em propriedades leiteiras da região sudeste do Brasil como um passo para produção de leite seguro. **Acta Scient Vet**, v.32, n.2, p.125-135, 2004.

BRITO, M. A. V. P. et al. Qualidade do leite armazenado em tanques de refrigeração comunitários. In: **Alternativas tecnológicas, processuais e de políticas públicas para produção de leite em bases sustentáveis**, Juiz de Fora: EMBRAPA Gado de Leite, cap2, 2003.

BUENO, V. F. F. et al. Parameters of microbiological quality of raw milk and water in dairy farms in Goiás state - Brazil. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2. 2002, São Paulo. **Anais**. Ribeirão Preto: CPQLCM, 2002. 1 CD-ROM.

BUSO, R. R; YAMASHITA, A. S; RIBEIRO, A. M. C. L. Análise anual de CCS e CBT em um rebanho de gado leiteiro do Município de Campina Verde, MG. **Vet. Not.**, v.18. n. 2 (supl.), p. 105-109, 2012.

CALDEIRA, L. A. et al. Caracterização do leite comercializado em Janaúba – MG. **Alim. Nutr.** v. 21, n. 2, p. 191-195, abr./jun. 2010.

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). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v 21, p. 281-287, 2001

CHAMBEL, L. et al. **Occurrence and persistence of *Listeria* spp. in the environment of ewe and cow's milk cheese dairies in Portugal unveiled by an integrated analysis of identification, typing and spatial–temporal mapping along production cycle.** *International Journal of Food Microbiology*, v.116, n.1, p.52-63, 2007.

CHAMPAGNE, C. P. et al. Psychrotrophs in dairy products: their effects and their control. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 34, n. 1, p. 1 - 30, 1994.

CHAPAVAL, L; PIEKARSKI, P. B. **Leite de qualidade: Manejo Reprodutivo, Nutricional e Sanitário.** Viçosa: Aprenda Fácil, 2000. 195p.

CHAPAVAL, L. et al. Detecção de *Staphylococcus sp* em leite de cabra com e sem a utilização de boas práticas de ordenha. **4º SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAPRINOS E OVINOS DE CORTE** Feira Nacional do Agronegócio da Caprino-Ovinocultura de Corte João Pessoa, Paraíba, Brasil, 16 a 20 de Novembro de 2009.

COSTA, C. D. R. S. **Importância de staphylococcus spp. Produtores de enterotoxinas em alimentos.** Monografia (Pós-Graduação em Microbiologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2008.

DEFANTE, L. **Caracterização dos sistemas de produção leiteiros na Região do Oeste do Paraná por meio de análise multivariada.** Dissertação – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 2011.

DELGADO-PERTIÑEZ, M. et al. Effect of hygiene-sanitary management on goat milk quality in semi-extensive systems in Spain. **Small Ruminant Research**, v.47 p.51–61, 2003.

DÜRR, J. W. **Como produzir leite de qualidade.** 4 ed. Brasília, SENAR, 2012.

ECKSTEIN, I. I. **Tipificação dos fatores ligados ao manejo da ordenha e avaliação do seu impacto sobre a qualidade sanitária do leite.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR, 2012.

- FERREIRA, M. A. **Controle de qualidade físico-químico em leite fluído**. Centro de Apoio ao Desenvolvimento Tecnológico da Universidade de Brasília - CDT/UnB, Abril, 2007.
- FIGUEIREDO, A. P. G. et al. Qualidade do leite de propriedades da área de proteção ambiental da Bacia do Córrego da Velha no Município de Luz (MG). **Ciência Equatorial**, Volume 2 - Número 2 - 2º Semestre 2012.
- FIGUEIREDO FILHO, D. B; SILVA JUNIOR, J. A. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, Vol. 18, n. 1, 2009.
- FONSECA, L.M.; RODRIGUES, R.; CERQUEIRA, M.M.O.P. et al. (2006). Situação da qualidade do leite cru em Minas Gerais. In: MESQUITA, A.J., DÜRR, J.W., COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. 352p.
- FONSECA, L. F. L; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175p.
- FRANCO, R. M. et al. Avaliação da qualidade higiênicosanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, v.14, n.68/69, p.70-77, 2000.
- FREITAS, M. F. L. et al. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus coagulase positivos* isolados de leite de vacas com mastite no agreste do Estado de Pernambuco. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2, p. 171-177, 2005.
- FREITAS, W. C; TRAVASSOS, A. E. R; MACIEL, J. F. Avaliação microbiológica e físico-química de leite cru e queijo de coalho produzidos no Estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.15, n.1, p.35-42, 2013
- GILLESPIE, B. E. et al. *Short communication*: evaluation of bulk tank milk microbiological quality of nine dairy farms in Tennessee. **J. Dairy Sci.** 95 :4275–4279, 2012.
- GONZALÉZ, 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**. Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.
- GRACINDO, A. P. A. C; PEREIRA, G. F, 2009. **Produzindo leite de alta qualidade**. Empresa de pesquisa agropecuária do RN, 2009.
- GUERREIRO, P. K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciênc. Agrotec.**, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.
- HARTMAN, W. **Sólidos totais em amostras de leite de tanques**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2002.
- HOFER, E.; REIS, C.M.F.; HOFER, C.B. Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas isoladas de material clínico humano. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.1, p.32-37, 2006.
- JAY, JAMES M. **Microbiologia de alimentos**, Porto Alegre: Artmed, v.6, p.138 e 462, 2005.

- LEE, S. H. **Identificação molecular de Staphylococcus aureus formadores de biofilmes em ambiente de ordenha**. Dissertação. Universidade de São Paulo, Pirassununga, SP, 2012.
- LINS, D. T. **Características microbiológica de amostras de leite cru coletadas em Satuba, Alagoas**. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Alagoas, 2011.
- LOURENÇO, L. F. H.; SILVA, M. S. S. Análises físico-química e microbiológica como indicadores da qualidade do leite cru comercializado no município de Castanhal/Pará. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 17., 2000, Fortaleza. Livro de Resumos. Fortaleza: CBCTA, 2000. v.1, p. 3.153.
- LUZ, D. F. et al. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense. **Revista Agrarian**, v.4, n.14, p.367-374, 2011.
- 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.
- MACIEL, J. F. et al. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.9, n.3, p. 443-448, jul/set, 2008.
- MAHIEU, H. Modificaciones de la leche despues de su recogida. In: LUQUET, F. M. **Leche y Productos Lacteos . La leche de la Mama a la Lecheria**. Zaragoza: Acribia, S. A., p. 181-226, 1991.
- MALEEVA, N. I. et al. **Improving Food Safety Within the Dairy Chain: An Application of Conjoint Analysis**. Journal Dairy Science, v. 88, n. 4, p. 1601-1612, 2005. Disponível em: < [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(05\)72829-0/fulltext](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(05)72829-0/fulltext) > Acesso em 21/07/14.
- MARTINS, E. S; LIMA, C. M. F. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais do município de frutal-mg: comparação das ordenhas mecânica e manual. **Rev. Bras. de Tec. Agro**. Ponta Grossa - Paraná – Brasil, v. 07, n. 01: p. 955-964, 2013.
- MARTINS, I.M.; KABUKI, D.Y.; KUAYE, A.Y. **Determination and characterization of pathogens found in dairy products**. Revista do Instituto Adolfo Lutz, v.68, n.3, p.359-365, 2009.
- MATSUBARA, M. T. et al. Boas práticas de ordenha para redução da contaminação microbiológica do leite no agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 277-286, jan./mar. 2011.
- MENEZES, S.F. **Aspectos higiênicos-sanitário de queijo de coalho comercializado no Município de Agua Branca – Alagoas e perfil de seus fornecedores e consumidores**. Monografia. Universidade Federal de Alagoas (UFAL), 2007.

- MESQUITA, A.J.; NEVES, R.B.S.; COELHO, K.O. et al.. A qualidade do leite na região Centro-Oeste. In: MESQUITA, A.J., DÜRR, J.W., COELHO, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no brasil**. Goiânia: Talento. 2006. 352p.,
- MICROBIOVIDA. **O que são Salmonelas**. Postado em 16 de fevereiro de 2013. Disponível em: < <http://microbiovida.blogspot.com.br> > Acesso em 21/08/14.
- MOLINERI, A. I. et al. Association between milking practices and psychrotrophic bacterial counts in bulk tank milk. **Revista Argentina de Microbiologia**, v. 44, p. 187-194, 2012.
- MORELLI, A. M. F. **Escherichia coli 0157:H7: Ocorrência em ambiente de produção de leite na microrregião de Viçosa, adesão em diferentes superfícies e resistência a sanitizantes**. Tese (Doutorado em Ciencia e Tecnologia de alimentos), Viçosa, MG, 2008.
- MOURA, L. B. Análise microbiológica de leite pasteurizado tipo c destinado ao programa leite é saúde no Ceará. **Rev. Verd. de Agro. e Des. Sust.** Mossoró – RN, v. 7, n. 5, p. 87-90, dez 2012.
- MÜLLER, E. E. **Qualidade do leite, Células Somáticas e prevenção da mastite**. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil, Maringá. Anais, 2002. UEM. p206-2.
- NASCIMENTO, M. S.; SOUZA, P. A. Estudo da correlação linear entre a contagem padrão em placa, a contagem de psicrotróficos e prova da redutase em leite cru resfriado. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 97, p. 81-86, 2002.
- OCHIAI, R. L.; ACOSTA C. J.; HOLLIDAY, M. C. D. et al., A study of typhoid fever in five Asian countries: disease burden and implications for controls. **Bull World Health Organ.** vol.86, 2008
- OLIVEIRA, R. P. S. **Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializados no Município de Piracicaba – SP**. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 2005.
- PALES, A. P. et al. **A importância da Contagem de Células Somáticas e Contagem Bacteriana Total para a melhoria da qualidade do leite no Brasil**. Revista Eletrônica Faculdade Montes Belos, Goiás, ISSN 1808-8597, v.1, n.2, p. 162 - 173, nov. 2005.
- PASCHOAL, J. J. **Controle da Qualidade do Leite**. Comunicado Técnico 02. Uberaba-MG, 2010.
- PEREIRA, F. E. V. **Isolamento e caracterização de microrganismos em leite cru refrigerado e leite UHT no Estado de Goiás e desenvolvimento de filme ativo antimicrobiano para inibição de *Bacillus sporothermodurans***. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos da Universidade Federal de Goiás, GO, 2010.

- PIETA, L. **Investigação da presença de *Listeria spp* e *Listeria monocytogenes* em equipamentos e utensílios de indústrias de laticínios**. Monografia (Graduação em Engenharia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- PIETROWSKI, G. A. M. et al. **Avaliação da qualidade microbiológica de leite pasteurizado tipo c comercializado na cidade de Ponta Grossa-PR**. VI Semana de Tecnologia em Alimentos, Ponta Grossa – Paraná, v. 02, n. 36, 2008.
- PINHEIRO, A. E. F. **Análise microbiológica dos primeiros jatos do leite de vacas sem raça definida (SRD) coletados no município de Satuba – Alagoas**. Trabalho de conclusão de curso – Universidade Federal de Alagoas, 2011.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrófilas proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.3, p.645-651, 2006.
- PINTO, P. A. A. et al. Perfil microbiológico do leite bovino produzido na bacia leiteira de Alagoas quanto à presença de staphylococcus coagulase positivo. **Revista Semente**, v.6, p. 191-197, 2011.
- PONSANO, E. H. G. et al. Adequação do leite produzido na região de Araçatuba aos padrões preconizados pela IN51 - MARA. Parte 2: leite individual. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 1., 2004, Rio Grande do Sul. Anais... Passo Fundo: SBQL, 2004. 1 CD-ROM.
- ROCHA, L. A. C.. **Qualidade do leite de búfala e desenvolvimento de bebida láctea com diferentes níveis de iogurte e soro de queijo**. 2008. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual do Sudoeste de Bahia, Salvador.
- ROCOURT, J; COSSART, O. *Listeria monocytogenes*, 2007. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. Ed). *Food Microbiology: fundamentals and frontiers*. Washington: ASM Press, 1997. p.337-352.
- ROSSI JUNIOR, O. D. et al. Estudo das características microbiológicas do Leite UAT ao longo de seu processamento. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 27-32, 2006.
- RURAL, GLOBO. **Produção de leite no Brasil tem problemas de baixa qualidade**. Disponível em < <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2013/05/producao-de-leite-no-brasil-tem-problemas-de-baixa-qualidade.html>. > Acesso em 16 jun 2013.
- SABEDOT, M. A. et al. Correlação entre contagem de células somáticas, parâmetros microbiológicos e componentes do leite em amostras do leite in natura. **Arq. Cien. Vet. Zool. UNIPAR** Umarama, v14, n2, p101-106, dez 2011.
- SAEKI, E. K; MATSUMOTO, L. S. Contagem de mesófilos e psicrófilos em amostras de leite pasteurizado e UHT. **Rev. Inst. Latic. “Cândido Tostes”**, Nov/Dez, nº 377, 65: 29-35, 2010.



SAMARŽIJA, D; ZAMBERLIN, S; POGAČIĆ, T. **Psychrotrophic bacteria and milk and dairy products quality**. University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Department of Dairy Science, 2012.

SANTANA, E. H. W. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotróficos. **Semina: Ci. Agrárias**, v. 22, n.2, p. 145-154, jul./dez. 2001.

SANTOS, J. M. **Leite cru refrigerado: características físico-químicas, microbiológicas e desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal dos Vales de Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, MG, 2010.

SANTOS, M. V. (2006) O uso da CCS em diferentes países In: Mesquita, A.J. Durr, J.W., Coelho, K.O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Editora Talento, p. 181-197.

SANTOS, M.V. **Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite**. In: DURR, J.W., CARVALHO, M.P., SANTOS, M.V. **O Compromisso com a Qualidade do Leite**. Passo Fundo: Editora UPF, 2004, v.1, p. 269-283.

SANTOS, M. V. **Origens e causas de altas contagens bacterianas no leite cru - Parte 1/2**, 2002. Disponível em < <http://m.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/origens-e-causas-de-altas-contagens-bacterianas-no-leite-cru-parte-12-16222n.aspx>> Acesso em 13 fev 2015.

SANTOS, M. V; CORTINHAS, C. S. **Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru**, 2010. Disponível em < <http://www.milkpoint.com.br/radar-tecnico/qualidade-do-leite/avaliacao-da-qualidade-microbiologica-do-leite-cru-61643n.aspx>> Acesso em 03 mar 2015.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Qualidade microbiológica do leite: métodos de análise e estratégias de controle**. Monitoramento da qualidade do leite, 2010.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Bactérias psicrotróficas e a qualidade do leite. **Revista CBQL**, v.19, n.1, p.1215, 2003.

SANTOS, N. A. F. et al. **Avaliação da composição e qualidade físico-química do leite pasteurizado pradonizado comercializado na cidade de São Luís, MA**. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.78, n.1, p.109-113, jan./mar., 2011.

SCHÄELLIBAUM, M. **Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos**. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2, p.21-26, Curitiba, 2000.

SCHUKKEN, Y. H. et al. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. **Veterinary Research**, v.34, n.5 p.579-596. 2003.

SENA, M.J. **Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus sp* isolados de queijos coalho comercializados em Recife - PE.** Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2000.

SGARBIERI, V.C., Revisão: Propriedades estruturais e físico-químicas das proteínas do leite. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.8, n.1, p. 43-56, jan./mar., 2005.

SILVA, A. M. **Estudo da composição química, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total do leite cru inspecionado pelo serviço estadual nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2011.

SILVA, L. C. C. et al. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 267-276, jan./mar. 2011.

SILVA, M. C. D. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciênc. e Tec. de Alim.** Campinas, 28 (1): 226-230, jan-mar, 2008.

SILVA, M. C. D. et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28 , n. 1, p. 226-230, 2008.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V.C. A, SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** 1ª.ed., São Paulo: Livraria Varela, 1997, 205p.

SILVA, V. N. et al. Correlação entre a contagem de células somáticas e composição química no leite cru resfriado em propriedades do Rio Grande do Norte. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 69, n. 3, p. 165-172, mai/jun, 2014.

SILVA, V. A. M. et al. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite cru, do leite pasteurizado tipo A e de pontos de contaminação de uma granja leiteira no RS. **Acta Scientiae Veterinariae** 38(1): 51-57, 2010.

SPECK, M. L. **Compendium for the microbiological examination of foods.** Washington, D. C. American public health association, 701p, 1976.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de Microbiologia de Alimentos.** Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (Rio de Janeiro). EMBRAPA-SPI; Rio de Janeiro:EMBRAPA - CTAA, 1995.

SOUTO, L. I. M. et al. Qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em propriedades do Estado de São Paulo, Brasil. **Vet. E Zootec**, pag 491-499, v.16, n3, set, 2009.

SOUZA, G. N. et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, , v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.

SWAMINATHAN, B. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J. (Eds). Food microbiology: fundamentals and frontiers. Washington: ASM, 2001. p.383-409.

TAMANINI, R. et al. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 449-454, jul./set. 2007.

TEBALDI, V. M. R. et al. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**,. 2008.

VARGAS, D. P. et al. correlações entre contagem de células somáticas e parâmetros físico-químicos e microbiológicos de qualidade do leite. *Cien. Anim. Bras*, v14, n4, 2014.

VARNA, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Milk and milk products**. Technology, Chemistry and Microbiology. Chapman & Hall Publishers. London. 1994. 451p.

VIANA, L. R. et al. Qualidade do leite in natura recebido pela usina escola de laticínios da UFSM. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA**, 29., 2002, Rio Grande do Sul. Anais... Gramado: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2002. 1 CD-ROM.

VIOTTO, W. H; CUNHA, C. R. Teor de sólidos do leite e rendimento industrial. In: MESQUITA, A. J; DURR, J. W; COELHO, K. O. **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006, v1, p241-258.

XAVIER, L. P. S. Processamento de sorvete. Trabalho Acadêmico (Bacharelado em Química de Alimentos). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas (RS), 2009.

YAMAZI, A. k. et al. Práticas de produção aplicadas no controle de contaminação microbiana na produção de leite cru. **Biosci. J.**, v. 26, n. 4, p. 610-618, July/Aug. 2010.

WALSTRA, P. et al. **Ciencia de la leche y tecnología de los productos lácteos**. Zaragoza: Acribia, 2001. 730p.

WINCK, C. A. et al. **Padrões de qualidade do leite cru no Brasil**: Inserção. VIII Congreso Latinoamericano de Sociología Rural, Porto de Galinhas, 2010.

ZECCONI, A.; HAHN, G. **Staphylococcus aureus in raw milk and human health risk**. **Bulletin of IDF**, v. 345, p. 15-18, 2000.