

UNIVERSIDADE DO OESTE DE SANTA CATARINA- UNOESC
CAMPUS DE SÃO MIGUEL DO OESTE
CURSO DE PÓS- GRADUAÇÃO EM NÍVEL DE ESPECIALIZAÇÃO EM
MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL E DE ALIMENTOS

NÁDIA IONE MALDANER

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU PRODUZIDO
EM DUAS PROPRIEDADES DO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA**

São Miguel do Oeste, SC

Outubro, 2011

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU PRODUZIDO
EM DUAS PROPRIEDADES DO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA**

NÁDIA IONE MALDANER

Relatório de Pesquisa em nível de especialização em
Microbiologia Industrial e de Alimentos apresentado
à Secretaria de Estado de Educação de Santa
Catarina referente à Bolsa Fumdes/2010.

Orientador (a): Eliandra Mirlei Rossi

São Miguel do Oeste, SC

Outubro, 2011

RESUMO

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU PRODUZIDO EM DUAS PROPRIEDADES DO EXTREMO OESTE DE SANTA CATARINA

A exigência dos consumidores quanto à qualidade dos produtos oferecidos desencadeou grandes transformações na atividade leiteira. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica do leite cru refrigerado, produzido em duas propriedades rurais do Extremo Oeste de Santa Catarina antes e após a aplicação das Boas Práticas de fabricação. Inicialmente foram coletadas 20 amostras de leite cru refrigerado, 2 amostras da superfície interna dos tanques de expansão, 1 dos latões, 2 das ordenhadeiras, 2 dos filtros de leite, 8 da superfície dos tetos dos animais, 2 dos desinfetantes e 2 da água utilizada nas propriedades. Em seguida foi realizada a capacitação dos produtores e a análise de 40 amostras de leite. As análises microbiológicas incluíram contagem de microrganismos mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT) e termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA), de acordo com as recomendações da Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 do MAPA. As duas amostras de água analisadas apresentaram contaminação por CT e uma por CF. Os principais pontos de contaminação por MA, CT e CF foram o tanque de leite, a ordenhadeira, filtro de leite e tetos dos animais. Dos itens citados, SA foi encontrado somente nos tetos. Os desinfetantes apresentaram altas contagens de MA (média de 5,9 Log UFC/ml) e de CT (média de 3,3 Log UFC/ml). Os valores médios para MA, CT e CF no leite cru obtidos antes e após a capacitação foram respectivamente: 4,88 Log UFC/ml e 3,69 Log UFC/mL (redução de 93,85%), NMP de 61,19 e 17,89/mL (redução de 70,76%) e NMP de 40,26 e 8,71/mL (redução de 78,36%). A presença de SA no leite cru foi observada em 5 amostras (25%) antes e 20 (50%) após a capacitação. Assim, podemos concluir que treinamentos incluindo Boas Práticas de fabricação podem melhorar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado, com resultados imediatos para MA, CT e CF. No entanto, além dos procedimentos adotados, o controle e prevenção da mastite poderiam contribuir para evitar a contaminação por SA, pois esse é um dos principais agentes causadores de mastite e consequentemente pode alterar a qualidade microbiológica do leite.

Palavras-chave: Leite. Contaminação. Boas Práticas de fabricação.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK PRODUCED IN THE TWO FARMS IN THE FAR WEST OF SANTA CATARINA

The consumer demand for quality of products offered triggered major changes in dairy farming. The objective of this study was to evaluate the microbiological contamination of refrigerated raw milk, produced on two farms in the Far West of Santa Catarina before and after the application of Good Manufacturing Practices. Initially, we collected 20 samples of raw milk cooled, two samples from the inner surface of the expansion tanks, one of the cans, two of the milking, two of the milk filters, 08 of the surface of the teats of animals, two of the disinfectants and two of the water used in the properties. We then carried out the training of farmers and analysis of 40 samples of milk. Microbiological analysis included counts of aerobic mesophilic (MA), total coliforms (CT), thermotolerant coliforms (CF) and coagulase positive *Staphylococcus* (SA), according to the recommendations of Instruction N° 62, August 26, 2003 of MAPA. The two samples studied were contaminated by CT and by CF. The main points of contamination by MA, CT and CF were the milk tank, the milking, milk filter and teats of the animals. Of the items mentioned above, SA was found only on the teats. Disinfectants showed high counts of MA (mean 5.9 log CFU/mL) and CT (mean 3.3 log CFU/mL). The average values for MA, CT and CF in raw milk obtained before and after the training were: 4.88 log CFU/mL and 3.69 log CFU/mL (93.85% reduction), the NMP 61.19 and 17.89/mL (reduction of 70.76%) and NMP of 40.26 and 8.71/mL (reduction of 78.36%). The presence of SA in raw milk samples was observed in 5 (25%) before and 20 (50%) after training. We conclude that training including Good Manufacturing Practices can improve the microbiological quality of refrigerated raw milk, with immediate results for MA, CT and CF. However, in addition to the procedures adopted, the control and prevention of mastitis could help to avoid contamination by SA, because this is a major causative agent of mastitis and therefore alter the microbiological quality of milk.

Key-words: Milk. Contamination. Good Manufacturing Practices.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Pontos de coleta das amostras nos equipamentos e utensílios de ordenha, tetos dos animais, desinfetantes e água.....23
- Figura 2. Frequência de Mesófilos Aeróbios em leite cru refrigerado antes e após a Capacitação dos Produtores.....37
- Figura 3. Frequência de *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em leite cru refrigerado antes e após a Capacitação dos Produtores..... 42

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Contagem total média de mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em amostras de desinfetantes.....32
- Tabela 2. Contagem total média de mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em amostras da superfície dos tetos, equipamentos e utensílios de ordenha.....33
- Tabela 3. Contagem total de mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (CF) em amostras de água utilizada nas propriedades.....35
- Tabela 4. Contagem total média de Mesófilos Aeróbios (MA), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em leite cru refrigerado antes e após a capacitação dos produtores.....36

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

BHI- Brain Heart Infusion
CBT- Contagem Bacteriana Total
CIP - Clean-In-Place
CF- Coliformes termotolerantes
CT- Coliformes totais
cm²- Centímetros quadrados
CMT- *Califórnia Mastitis Test*
°C- Grau Celsius
°GL- Grau Gay Lussac
CPP- Contagem Padrão em Placas
IN 51- Instrução Normativa n° 51
IN 62- Instrução Normativa n° 62
Log- Logaritmo
MA- Microrganismos mesófilos aeróbios
mL- Mililitro
NPM- Número Mais Provável
pH- Potencial de íons hidrogênio
SA- *Staphylococcus* coagulase positiva
UFC- Unidades Formadoras de Colônia
VRBA- Ágar cristal violeta vermelho neutro bile

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	03
1.1 OBJETIVO GERAL	03
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	03
3 REFERENCIAL TEÓRICO	04
3.1 LEITE	04
3.2 QUALIDADE DO LEITE	04
3.3 FATORES CRÍTICOS PARA A CONTAMINAÇÃO DO LEITE	06
3.4 MICRORGANISMOS NO LEITE	09
3.4.1 Mesófilos Aeróbios	10
3.4.2 Coliformes totais e termotolerantes	11
3.4.3 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	12
3.5 BOAS PRÁTICAS	13
3.5.1 Higiene e Manejo na Ordenha	15
3.5.2 Higienização dos Equipamentos	17
3.5.3 Refrigeração do leite	21
4 METODOLOGIA	22
4.1 CARACTERÍSTICAS DAS PROPRIEDADES	22
4.2 ESTUDO PROPOSTO	22
4.2.1 Identificação dos pontos de contaminação do leite	22
4.2.2 Levantamento de dados das propriedades	24
4.2.3 Capacitação dos produtores	24
4.2.4 Avaliação das práticas propostas	24
4.2.5 Coleta das amostras	25
4.2.5.1 Leite Cru Refrigerado	25
4.2.5.2 Água	25
4.2.5.3 Superfícies dos equipamentos, utensílios de ordenha e tetos dos animais	26
4.2.5.4 Desinfetantes	26
4.2.6 Análises Microbiológicas	27
4.2.6.1 Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios	27
4.2.6.2 Determinação de coliformes totais e termotolerantes em leite cru refrigerado	28
4.2.6.3 Determinação de coliformes totais e termotolerantes em água	28

4.2.6.4 Determinação de coliformes totais e termotolerantes em desinfetantes e superfície dos tetos, equipamentos e utensílios de ordenha	29
4.2.6.5 Determinação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	29
4.2.7 Análise estatística dos dados	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 AVALIAÇÃO DO PERFIL DAS PROPRIEDADES	31
5.2 PRINCIPAIS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE.....	32
5.3 BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO ADOTADAS.....	35
5.4 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE ANTES E APÓS A CAPACITAÇÃO..	36
6 CONCLUSÃO.....	44
REFERÊNCIAS	45
APÊNDICES	51
ANEXOS	60

1 INTRODUÇÃO

O leite, por ser uma mistura complexa, nutritiva, com alta atividade de água e pH próximo a neutralidade, é altamente perecível, pois constitui um produto favorável ao crescimento microbiano. Dependendo da manipulação a que é submetido, tem suas características físicas, químicas e biológicas facilmente alteradas pela ação de microrganismos (ARCURI et al., 2006).

Devido às suas características o leite merece atenção especial em sua produção, beneficiamento, comercialização e consumo, pois está sempre sujeito a uma série de alterações. Vários fatores, como o estado sanitário do rebanho, a limpeza dos equipamentos e utensílios destinados a sua obtenção, as condições sanitárias do local de ordenha e a qualidade da água utilizada na propriedade podem influenciar na qualidade microbiológica dos produtos lácteos (AMARAL et al., 2003).

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores de leite no mundo. No entanto, apesar da produção apresentar-se em crescimento, o produtor de leite ainda utiliza métodos não especializados, resultando em uma matéria-prima de baixa qualidade (CORREA; RIBAS; MADRONA, 2009).

A globalização de mercados, em função da variada oferta de produtos lácteos importados, induziu o consumidor brasileiro a tornar-se mais exigente em relação à qualidade e segurança dos produtos oferecidos. Visando suprir a necessidade de melhorias no setor leiteiro foi publicada a Instrução Normativa nº 51 (IN 51), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, de 18 de setembro de 2002, que estabelece padrões definitivos para a qualidade do leite cru refrigerado a partir de janeiro de 2012 (BRASIL, 2002).

Neste contexto, surge a necessidade de implantação de mudanças e melhorias na cadeia produtiva do leite, a fim de atender as exigências da IN 51. A adoção de programas de qualidade visa à diminuição de custos no processo, aumento da qualidade com consequente diferenciação do produto no mercado e atendimento as exigências do consumidor.

A indústria de laticínios passou por grandes transformações na tentativa de tornar-se mais competitiva, com o pagamento ao produtor em função da qualidade (GONZALEZ et al., 2004). Os parâmetros físico-químicos, microbiológicos e higiênico-sanitários têm sido utilizados pelas indústrias para verificar e determinar a qualidade do leite (GUERREIRO et al., 2005). Assim, condições higiênico-sanitárias devem ser monitoradas como uma

ferramenta para determinação dos pontos que podem ser melhorados no processo de obtenção do leite, a fim de garantir um produto seguro e de qualidade.

Devido à relevância do setor leiteiro no cenário econômico nacional, e considerando as exigências da principal norma referente à legislação sanitária federal (a IN 51), o presente trabalho teve o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado produzido em duas propriedades da região extremo Oeste de Santa Catarina, além de propor a aplicação de técnicas de Boas Práticas de fabricação no processo produtivo, a fim de incrementar a qualidade e promover a melhoria contínua do setor, com a profissionalização dos produtores.. Além disso, salienta-se que a capacitação de recursos humanos é fundamental para que ocorram as mudanças necessárias ao atendimento das exigências do mercado competitivo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a contaminação microbiológica do leite cru refrigerado produzido em duas propriedades rurais do Extremo Oeste de Santa Catarina em dois momentos distintos: antes e após a aplicação de técnicas de Boas Práticas de fabricação na obtenção do leite.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Quantificar o número de microrganismos mesófilos aeróbios, *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais e coliformes termotolerantes no leite cru refrigerado;

Comparar os níveis de contaminação microbiológica do leite aos padrões exigidos pela IN 51;

Identificar os principais pontos de contaminação microbiológica do leite na linha de ordenha;

Indicar as não conformidades nas práticas de manipulação na ordenha utilizadas pelos produtores e propor alterações nos pontos considerados críticos na obtenção do leite cru;

Avaliar a influência da capacitação com Boas Práticas na qualidade microbiológica do leite cru refrigerado;

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LEITE

O leite é definido como o produto da secreção mamária de mamíferos, sendo constituído por proteínas, gorduras, carboidratos, vitaminas, sais minerais e água (MORAES, 2005). A composição do leite o transforma em um alimento altamente nutritivo e de fácil assimilação, condição que o torna adequado para o consumo humano (FAGAN et al., 2008; SOUZA, 2010).

Devido as suas características físicas, químicas e biológicas, o leite é um produto delicado e altamente perecível, sendo facilmente alterado pela ação de microrganismos. Assim, o leite e produtos lácteos podem levar a surtos de toxinfecções alimentares, causados por uma variedade de microrganismos que encontram um meio ideal de crescimento (WINCK et al., 2010).

3.2 QUALIDADE DO LEITE

A qualidade do leite é um termo vasto que abrange a segurança sanitária e o valor nutricional, sendo determinada pelo sabor, integridade, inocuidade e valor nutritivo (FAGAN et al., 2008). A qualidade pode ser dividida em integridade e composição (FAGAN, 2006). O leite é considerado íntegro quanto não sofre a adição de substâncias nem a remoção de componentes, deterioração física, química ou microbiológica e quando está livre de patógenos (LOPES JÚNIOR, 2010; FAGAN, 2006; BECKER et al., 2010). Já a composição está ligada ao valor nutricional e industrial do leite (FAGAN, 2006).

Segundo Assis, Faria e Rodrigues (2007), o Brasil destaca-se como um dos maiores produtores de leite no mundo. De acordo com Winck et al. (2010), o banco de dados da USDA Dairy citou que o Brasil ocupa atualmente o sexto lugar no ranking de produção de leite com o quantitativo de 30 bilhões de litros produzidos em 2010.

Na região Extremo Oeste de Santa Catarina, a produção de leite é a principal atividade econômica e de geração de renda para inúmeros pequenos produtores. A relevância desta atividade é citada por Pereira et al. (2010), que ressalta sua importância econômica através da geração de renda para centenas de produtores, além de seu valor social, pela participação do

leite e derivados na cesta básica, devido ao seu valor nutritivo, constituindo um alimento essencial para algumas faixas da população.

Aliado ao aumento na produção deve estar a preocupação com a qualidade (BECKER et al., 2010), que atualmente constitui um dos maiores entraves da cadeia produtiva do leite do Brasil, interferindo negativamente na produção e rendimento dos derivados lácteos (MATTOS et al., 2010). Em geral, o Brasil perde em competitividade no mercado mundial por apresentar problemas de eficiência produtiva e de qualidade da matéria-prima, já que o leite *in natura* apresenta altas contagens de mesófilos aeróbios e coliformes (VALLIN et al., 2009).

Apesar da produção apresentar-se em crescimento, o produtor de leite ainda utiliza métodos não especializados, resultando em uma matéria-prima de baixa qualidade (CORREA; RIBAS; MADRONA, 2009).

Com a globalização, os setores produtivos mundiais enfrentaram o grande desafio da competitividade, com um mercado cada vez mais exigente. O mercado internacional apresenta normas rígidas para garantir a qualidade para o beneficiamento industrial (ZANELLA et al., 2006). Conseqüentemente, a indústria leiteira mundial atravessa um período de intensas transformações em sua estrutura, podendo-se identificar como principais tendências a diferenciação do pagamento ao produtor, o aumento nas exigências de qualidade por parte das indústrias, assim como uma maior preocupação dos consumidores com relação à segurança dos alimentos (GUERREIRO et al., 2005; ALMEIDA, 2006).

A qualidade que a indústria láctea pode disponibilizar para o mercado interno ou para a exportação depende da qualidade da matéria-prima que recebe para processamento. Desta forma o pagamento diferenciado ao produtor está sendo a principal ferramenta para a melhoria da qualidade do leite (FAGAN, 2006). A questão da prática do pagamento diferenciado da matéria-prima em função da qualidade, ou seja, de suas características físicas, químicas, bromatológicas e organolépticas, tende a ampliar-se, e dessa forma, vai ser um elemento de diferenciação na produção que certamente vai ditar a permanência, ou não, dos produtores na atividade (NOAL, 2006). A garantia de produtos de alta qualidade tornou-se uma necessidade para manter-se e ampliar o mercado e, deste modo, os produtores precisam se adequar de forma a manter a atividade de produção como uma operação rentável e eficaz (GUERREIRO et al., 2005; ALMEIDA, 2006).

Visando a profissionalização do setor leiteiro e a melhoria da qualidade dos produtos oferecidos aos consumidores foi publicada a IN 51, que determinou normas na produção, identidade e qualidade de leites tipos A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, além de

regulamentar a coleta do leite cru refrigerado e seu transporte a granel (BRASIL, 2002). De acordo com a IN 51, os Estados do Sul, devem apresentar para o leite cru refrigerado, contagem bacteriana total (CBT) máxima de 100.000 unidades formadoras de colônia (UFC)/mL, a partir de janeiro de 2012. A determinação destes novos parâmetros para a produção de leite cru visa principalmente à obtenção de um produto com alta qualidade, capaz de ser processado de forma adequada pela indústria gerando produtos beneficiados com características que atendam o exigente mercado interno e externo (YAMAZI et al., 2010). De acordo com Tebaldi et al. (2008), o principal objetivo desta regulamentação é limitar o desenvolvimento da microbiota mesófila em que se encontra a grande maioria dos microrganismos patogênicos e deteriorantes.

No entanto, a garantia da qualidade do leite e seus derivados não dependem somente de regulamentos e leis, mas do compromisso assumido por produtores e indústrias que buscam responder ao aumento das exigências de mercado, principalmente quanto à segurança da saúde do consumidor. Essas exigências baseiam-se em critérios aceitos internacionalmente, como baixo número de microrganismos, o controle sobre o número de microrganismos patogênicos, a baixa contagem de células somáticas, a ausência de resíduos químicos e a manutenção das propriedades sensoriais do leite: sabor, odor, cor e viscosidade. Para atender a esses requisitos, vêm ocorrendo adaptações estruturais em todos os países onde a produção de leite é expressiva (GUIMARRÃES, 2008).

Segundo Souto et al. (2009a), o Brasil apresenta um grande potencial para participar no mercado mundial de produtos lácteos. Para tanto, os cuidados com o cumprimento das exigências de padrões microbiológicos da matéria-prima devem ser rigorosos para que os produtos tenham qualidade suficiente para competir em igualdade no mercado internacional.

3.3 FATORES CRÍTICOS PARA A CONTAMINAÇÃO DO LEITE

Os níveis e tipos de microrganismos encontrados no leite podem fornecer informações sobre as condições de higiene durante as suas etapas de produção (ELMOSLEMANY et al., 2010). A grandeza e a diversidade da população contaminante variam consideravelmente e estão intimamente associadas à origem do leite. A ordenha e o armazenamento do leite até a entrega na indústria são etapas críticas para a sua contaminação. Além disso, a qualidade do leite depende de vários fatores que vão do estado sanitário do rebanho à limpeza dos

equipamentos e dos utensílios destinados à obtenção do leite, higiene do local de ordenha e qualidade da água utilizada na propriedade (COSTA, 2006).

Segundo Guerreiro et al. (2005), a saúde da glândula mamária, a higiene na ordenha, o ambiente em que os animais ficam alojados e os procedimentos de limpeza dos equipamentos de ordenha são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana e qualidade do leite cru. Guido et al. (2010) enfatiza que contagens microbianas elevadas em leite cru são provenientes de problemas de deficiência na lavagem e sanitização dos equipamentos e utensílios, falta de higiene na ordenha e sistema de resfriamento inadequado. Além disso, o leite proveniente de animais com mastite pode resultar em contagens microbianas elevadas.

Ainda, Guerreiro et al. (2005), afirma que entre as fontes ambientais de contaminação do leite está a água usada na limpeza dos equipamentos. A água utilizada para esses fins deve ser potável, com baixa contaminação, pois além de constituir um veículo de transmissão de agentes patogênicos para seres humanos e animais, a água não tratada pode constituir uma via de transmissão de agentes causadores de mastite, como *Staphylococcus aureus* e coliformes (AMARAL et al., 2003). A água contaminada pode, ainda, ser uma fonte de *Pseudomonas* spp., coliformes e outras bactérias gram negativas (ELMOSLEMANY et al., 2010).

O ambiente em que os animais ficam alojados também pode contribuir na contaminação da pele dos tetos e do úbere dos animais. O local de permanência dos animais pode abrigar elevadas cargas microbianas, com predominância de *Streptococcus*, *Staphylococcus*, microrganismos formadores de esporos, coliformes e outras bactérias gram negativas (GUERREIRO et al., 2005).

Além da qualidade microbiológica, a contagem de células somáticas é um parâmetro de avaliação da qualidade do leite pela indústria, por estarem associadas a problemas de sabor e aroma no leite e derivados, menor rendimento na fabricação de queijos e perda de gordura e caseína no soro (ARCURI et al., 2006). Células somáticas são células de defesa do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária, com o objetivo de combater os agentes causadores de mastite (VALLIN et al., 2009; LACERDA, MOTA e SENA, 2010). A mastite, por sua vez, é definida como uma inflamação da glândula mamária que provoca alterações na composição do leite, secreção de células epiteliais e redução da capacidade funcional da glândula mamária. A perda da função do tecido mamário pode ser permanente, dependendo da gravidade das lesões decorrentes do processo inflamatório, reduzindo parcial ou totalmente a capacidade produtiva (SOUTO et al., 2009b).

Segundo Martins et al. (2010), as mastites podem ser classificadas como clínica e subclínica. As mastites clínicas são caracterizadas por mudanças no aspecto da secreção láctea, mudanças visíveis no tecido mamário e em alguns casos, efeitos sistêmicos como hipertermia, prostração e tremores musculares. Já nas mastites subclínicas são observadas reações sem alterações macroscópicas detectáveis, porém, com alterações químicas e microbiológicas no leite. A mastite subclínica é geralmente caracterizada por um aumento de células somáticas e uma diminuição de 15 a 45% na produção diária de leite (BHUTTO; MURRAY; WOLDEHIWET, 2010). As mastites constituem uma das causas mais relevantes de prejuízos devido ao decréscimo na produção, alterações na composição do leite, descarte precoce de vacas, custo dos medicamentos e despesas veterinárias (COELHO et al., 2007; FAGAN et al., 2008).

Embora o stress e lesões físicas possam causar inflamações da glândula mamária, a infecção por bactérias invasoras e outros microrganismos (vírus, fungos e leveduras) são a principal causa de mastite (SOUTO et al., 2008). *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, coliformes e todos os *Streptococcus* spp. são as principais bactérias envolvidas (COELHO et al., 2007; ANDRADE; HARTMANN; MASSON, 2009).

Os microrganismos causadores de mastite podem ser divididos em dois grupos: patógenos contagiosos e patógenos ambientais. Os patógenos contagiosos são aqueles adaptados à sobrevivência no interior da glândula mamária, como o *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*. Já os patógenos ambientais são invasores oportunistas do úbere, não adaptados para sobreviver em seu interior como a *Escherichia coli* e o *Streptococcus uberis* (MARTINS et al., 2010).

Segundo Lacerda, Mota e Sena (2010), falhas no manejo e principalmente nos cuidados higiênicos na ordenha, como o uso de desinfetantes inadequados, são responsáveis por altas contagens de células somáticas e contagem bacteriana total no leite.

De acordo com Santos et al. (2008), várias medidas devem ser tomadas durante o processo de ordenha mecânica com a finalidade de minimizar a transmissão de agentes causadores de mastite, visto que, a ordenhadeira, a mão do ordenhador, práticas de higiene e lesões nos tetos dos animais são fatores importantes que expõe a superfície dos tetos aos microrganismos patogênicos contagiosos que são transmitidos de animais infectados para não infectados durante o processo de ordenha.

3.4 MICRORGANISMOS NO LEITE

O leite quando formado é completamente estéril, porém, se contamina em seguida por bactérias que habitam os canais galactóforos, podendo ser contaminado antes mesmo de ser vertido para o meio externo. Após sua saída para o exterior, o leite fica exposto a contaminações por diferentes fontes e inúmeros tipos de microrganismos (SILVA et al., 2010; MILLOGO et al., 2010).

A identificação dos diversos microrganismos presentes no leite revela o seu índice de contaminação microbiana, que pode ser utilizado no julgamento de sua qualidade intrínseca, bem como das condições sanitárias de sua produção. Em virtude de sua capacidade de multiplicação no leite, as bactérias podem causar alterações químicas, tais como degradação de proteínas, gorduras ou carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo ou industrialização (GUERREIRO et al., 2005).

Quando o leite é proveniente de animais sadios, e, obtido em condições higiênicas adequadas, o número de microrganismos é baixo, sendo predominantes *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*, além de lactobacilos saprófitas do úbere e canais galactóforos. Os vírus, fungos e leveduras têm participação reduzida (COSTA, 2006).

A microbiota predominante no leite cru geralmente inclui espécies de bactérias do ácido láctico (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp. *Leuconostoc*, *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à família Micrococcaceae (*Micrococcus* e *Staphylococcus* spp.), e leveduras. Outros grupos microbianos presentes no leite cru incluem *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. e enterobactérias. Há ainda, muitas espécies de *Acitenobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* e *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* e *Propionibacterium* (TEBALDI et al., 2008; MELO et al., 2010).

Normalmente a microbiota presente no leite apresenta grande diversificação, dependendo principalmente das condições higiênicas da ordenha, dos utensílios e dos equipamentos, conservação do leite, tempo e temperatura do armazenamento, qualidade microbiológica da água, condições climáticas e índices de mastite (CORREA; RIBAS; MADRONA, 2009; VALLIN et al., 2009; YAMAZI, et al., 2010).

Geralmente os microrganismos presentes no leite cru são os mesmos encontrados no úbere e na pele do animal, nos utensílios de ordenha ou nas tubulações da coleta. Sob boas condições de manuseio e conservação, a biota predominante é gram positiva (JAY, 2005). No entanto, as condições de armazenamento e transporte do leite podem causar a mudança na

predominância desses microrganismos para gram negativos, que podem ser responsáveis por mais de 90% da biota no leite cru refrigerado. A biota gram negativa é composta principalmente por espécies psicrotróficas como *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Serratia*, *Flavobacterium* e *Enterobacter* (MARTINS et al., 2006).

A variação e o equilíbrio entre as populações bacterianas presentes no leite estão associadas às diferentes práticas de higiene utilizadas na ordenha. Leites com alta diversidade e contagem total bacteriana, incluindo bactérias gram positivas e gram negativas, estão associados a práticas de higiene insatisfatórias que permitem a contaminação do leite por bactérias provenientes de diversas fontes. Por outro lado, o leite obtido com práticas de higiene adequadas apresenta menor diversidade e contagem total bacteriana (VERDIER-METZ et al., 2009).

Entre os grupos de microrganismos que podem estar presentes no leite estão os não patogênicos, que alteram as propriedades do leite pela elevada acidez ou pela produção de enzimas termotolerantes como, por exemplo, algumas bactérias psicrotróficas, e aqueles potencialmente patogênicos, responsáveis pelas intoxicações alimentares, como a espécie *S. aureus* e os coliformes termotolerantes, que são indicadores de possível contaminação de origem fecal sugerindo a presença de patógenos entéricos (SILVA et al., 2010; MELO et al., 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 derivados, e até para quem o manuseia (ARCURI et al., 2006).

Segundo Yamazi et al. (2010), a baixa qualidade do leite é caracterizada principalmente por altas contagens de microrganismos indicadores de higiene, como mesófilos aeróbios e coliformes, além da presença de patógenos, como o *S. aureus*. Esses grupos de microrganismos podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de alimentos (MORAES, 2005).

3.4.1 Mesófilos Aeróbios

Os mesófilos aeróbios incluem um grupo de microrganismos capazes de se multiplicarem em uma faixa de temperatura que varia entre 20 e 45°C, tendo uma temperatura ótima de crescimento a 32°C. Esse grupo inclui a maioria dos contaminantes do leite, tanto

deteriorantes como patógenos. É considerado um bom indicador de qualidade microbiológica (COSTA, 2006).

O grupo inclui a maioria das bactérias acidificantes do leite que atuam intensamente na fermentação da lactose, produzindo ácido lático e gerando a acidez do leite. A contagem e a determinação de mesófilos aeróbios são de grande importância, sendo sua detecção e enumeração empregadas tanto para o controle de qualidade do leite como para avaliação da eficiência das práticas de sanitização dos equipamentos e utensílios durante a produção e beneficiamento do produto (VALLIN et al., 2009; FAGAN et al., 2008).

A contagem padrão em placas (CPP), que determina o número de microrganismos mesófilos aeróbios no leite, é um método de referência empregado em muitos países para avaliar a contaminação bacteriana no leite (GUIMARRÃES, 2008). O limite definitivo definido pela IN 51 é de 100.000 UFC/mL. No entanto, muitos países exigem padrões mais rigorosos do que os níveis máximos permitidos pela lei. Apesar da CPP fornecer um dado sobre a quantidade total de bactérias presentes no leite, possui pouco valor para diagnosticar e determinar a fonte de contaminação bacteriana (REINEMANN et al., 2003).

3.4.2 Coliformes totais e termotolerantes

Coliformes são bacilos gram negativos não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, oxidase negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares e fermentar a lactose à temperatura de 35-37°C, com produção de aldeído, ácido e gás, em um período de 48 horas. O grupo é formado por cerca de vinte espécies originados tanto do trato gastrointestinal de humanos e animais e também por bactérias não entéricas como *Serratia* sp. e *Aeromonas* sp. Dentro deste grupo estão inclusos os coliformes termotolerantes, que possuem a capacidade de fermentar a lactose à temperatura de 44,5°C ou 45,5°C, com produção de aldeídos, ácido e gás. Três gêneros formam o grupo dos coliformes termotolerantes como *Escherichia*, *Enterobacter*, e *Klebsiella*, sendo os dois últimos, de origem não estritamente fecal. A presença deste grupo de microrganismos no leite evidencia o risco da presença de organismos patogênicos de origem fecal (COSTA, 2006)

Na legislação brasileira não existem padrões para enumerar coliformes totais e termotolerantes para o leite cru, porém estes grupos microbianos não fazem parte da microbiota natural do leite, sendo sua presença um indício de contaminação (CORREA; RIBAS; MADRONA, 2009). Segundo Citadin et al. (2009), os coliformes são indicadores de

contaminação do ambiente e das fezes, e sua presença em leite cru é atribuída às práticas precárias de higiene durante a ordenha.

3.4.3 *Staphylococcus coagulase positiva*

O gênero *Staphylococcus* é formado por mais de 30 espécies, das quais 6 produzem nuclease termoestável e são coagulase positiva. A produção de coagulase, uma enzima extracelular, é uma das provas mais amplamente utilizadas para correlacionar a cepa isolada com a produção de enterotoxina (SANTANA, 2006).

Entre os *Staphylococcus*, a espécie *S. aureus* é a mais prevalente no leite *in natura* (STAMFORD et al., 2006). No entanto, a produção de enterotoxinas não está restrita a espécie de *S. aureus*, sendo que esta característica já foi relatada para outras espécies coagulase positivas, como *Staphylococcus hyicus* e *Staphylococcus intermedius*, além de algumas espécies coagulase negativas (SANTANA, 2006; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

Entre as características morfofisiológicas do *S. aureus*, destacam-se as seguintes: são cocos gram positivos, coagulase positivos, β -hemolíticos, maltose e manitol positivos e formadores de colônias pigmentadas. É classificado como microrganismo mesófilo, porém, pode apresentar crescimento em temperaturas compreendidas entre 7,0 e 47,5 °C (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004). O pH ideal para o desenvolvimento dos *Staphylococcus* sp. varia entre 7,0 e 7,5, mas é possível a multiplicação em alimentos com pH variando entre 4,2 e 9,3. Este grupo de microrganismos ainda tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar a uma concentração de cloreto de sódio de até 15% e a produção de enterotoxinas ocorre em concentrações de sal de até 10%. O valor mínimo para a atividade de água é de 0,96, e são considerados mal competidores na presença de outros microrganismos (SANTANA, 2006).

Assim, como no caso dos coliformes, não existem padrões para a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite cru. Porém, a presença de um número elevado dessas bactérias indica perigo potencial para a saúde pública, devido à enterotoxina estafilocócica, que é termorresistente (GUIDO et al., 2010). As enterotoxinas estafilocócicas são produzidas entre 10 e 46°C e apresentam elevada resistência térmica, podendo sobreviver aos tratamentos comumente aplicados ao leite (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

A intoxicação alimentar estafilocócica é atribuída à ingestão de toxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante sua multiplicação no alimento, representando um risco para a saúde pública (STAMFORD et al., 2006). O período de incubação da intoxicação

estafilocócica é curto, variando de 15 minutos a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado. Os sintomas variam de acordo com a suscetibilidade individual, sendo mais graves em recém-nascidos, idosos e pessoas acometidas de doenças crônicas imunossupressoras (LAMAITA et al., 2005).

Enterotoxinas estafilocócicas são os principais agentes de intoxicação de origem bacteriana no homem, e, têm sido relatadas em vários surtos de doenças transmissíveis por alimentos (LAMAITA et al., 2005). Segundo Jay (2005), para que haja produção de enterotoxinas em concentração suficiente para causar a intoxicação são necessárias contagens acima de 10^4 ou 10^5 UFC/mL. É necessário menos de 1 mg de toxina pura para desencadear os sintomas característicos da intoxicação estafilocócica, como vômitos e diarreia (LAMAITA et al., 2005).

O *S. aureus* destaca-se como um dos principais microrganismos causadores de mastite contagiosa, de difícil tratamento devido à elevada resistência aos antibióticos, nos rebanhos bovinos mundiais (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004; NADER FILHO et al., 2007). As peculiaridades do seu habitat tornam sua presença largamente distribuída pelo ambiente, sendo transmissível aos alimentos por manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos, e pelos animais, principalmente o gado leiteiro com mastite (MELO et al., 2010).

Considerando que o *S. aureus* é amplamente distribuído nos rebanhos leiteiros, a probabilidade de contaminação do leite cru e a conseqüente produção de enterotoxinas é bastante elevada, tornando sua presença no leite e derivados um sério problema de saúde pública, já que as toxinas podem ser excretadas no leite e permanecer estáveis nos produtos oferecidos ao consumo (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

3.5 BOAS PRÁTICAS

As questões que envolvem a melhoria da qualidade do leite ao nível de produção são complexas e requerem o esforço conjunto de todos os setores relacionados (BECKER et al., 2010). Segundo Fernandes et al. (2008), a orientação técnica é um importante meio de levar aos pequenos produtores as informações necessárias ao desenvolvimento e melhoramento de práticas agropecuárias, visando à geração de emprego e renda na propriedade rural.

O principal objetivo dos programas de qualidade do leite é assegurar a preservação da qualidade nutricional, do sabor e da aparência originais do produto, e, a ausência de microrganismos nocivos e de adulterantes. Os consumidores exigem cada vez mais que os

alimentos, incluindo produtos lácteos, sejam seguros e nutritivos para o consumo. Isto, porque a quantidade de microrganismos influencia na vida de prateleira e no tipo de produto para o qual o leite pode ser utilizado (GUIMARRÃES, 2008).

Segundo alguns programas de qualidade, como Boas Práticas de Fabricação e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), a verificação da contaminação microbiana e procedimentos higiênicos em etapas chave da produção são fundamentais para minimizar possíveis contaminações e garantir qualidade e segurança final (YAMAZI et al., 2010). Boas Práticas são determinantes na qualidade do produto e refletem os padrões sanitários da produção (SANTOS et al., 2008). As principais vantagens para os produtores que implantam esses programas são o aumento da competitividade, o oferecimento de produtos diferenciados e a maior garantia de permanência nos mercados. Para os consumidores, a principal vantagem é a garantia de alimentos seguros e de alta qualidade (SANTOS, 2007).

Os procedimentos de higienização são fundamentais para assegurar a qualidade dos alimentos. Com a implantação das Boas Práticas de Fabricação ao longo da cadeia produtiva, as empresas garantem a qualidade e segurança do leite (FOLMER; SOUTO, 2010).

Para Vallin et al. (2009), a aplicação de Boas Práticas na bovinocultura de leite é uma alternativa utilizada para minimizar os riscos de contaminação nas diferentes etapas do processo de produção, reduzindo a contaminação microbiana e física do leite. Essas práticas consistem na exclusão, remoção, eliminação, inibição da multiplicação de microrganismos indesejáveis e/ou corpos estranhos e devem ser implantadas em toda a cadeia produtiva. Além disso, as Boas Práticas devem assegurar que o leite seja produzido a partir de animais saudáveis, livres de resíduos e dentro de condições sócio ambientais adequadas (SANTOS, 2007).

Segundo Guido et al. (2010), a qualidade do leite está diretamente relacionada com o tipo de manejo adotado na produção, independentemente do nível tecnológico da propriedade, e, a aplicação das Boas Práticas é essencial para a obtenção de matérias-primas de qualidade. Santana et al. (2001), afirma que a contaminação do leite não depende do sistema de produção ou tipo de ordenha utilizado nas propriedades, mas sim, das Boas Práticas aplicadas na obtenção do leite.

Segundo Noal (2006), para a obtenção de leite seguro para a saúde do consumidor é necessário a implantação das Boas Práticas na cadeia do leite, que priorizam alguns aspectos: saúde do rebanho, programa de prevenção e controle da mastite, manejo nutricional, manejo na ordenha, qualidade da água, higiene pessoal e operacional, limpeza e sanitização dos

equipamentos, treinamento dos colaboradores e construção rural que considere a localização, iluminação, ventilação, pisos, paredes e escoamento sanitário.

3.5.1 Higiene e Manejo na Ordenha

A ordenha é o momento mais importante da atividade leiteira, devendo ser realizada por pessoas treinadas, de acordo com os princípios de higiene, fisiologia da lactação, funcionamento e manutenção do equipamento (SILVA; NOGUEIRA, 2010).

Atualmente, a IN 51 recomenda alguns cuidados antes e após a ordenha, como a lavagem dos tetos dos animais seguindo-se pela secagem com toalhas descartáveis e início imediato da ordenha com descarte dos jatos iniciais em caneca de fundo escuro. A norma ainda recomenda que se adote o sistema de desinfecção dos tetos antes da ordenha com produtos desinfetantes e a secagem criteriosa, em casos de mastite. Outro procedimento recomendado é a desinfecção imediata dos tetos após a ordenha, bem como manter os animais em pé pelo tempo necessário para o fechamento do esfíncter da teta, evitando que microrganismos entrem no interior do teto e causem a contaminação do mesmo e do leite no momento da ordenha. O leite obtido deve ser coado em recipiente apropriado de aço inoxidável, náilon, alumínio ou plástico atóxico.

Além disso, Guido et al. (2010), recomendam a adoção de algumas práticas para controlar a contaminação microbiológica, como: manter o local de ordenha sempre limpo, utilizar água potável, lavar as mãos e mantê-las limpas durante a ordenha.

Para Santos (2007), um bom manejo na ordenha reduz o risco de mastite e de contaminação do leite. A rotina pode ser realizada de acordo com as seguintes etapas: condução dos animais para a ordenha de forma calma e sem agressões, boa preparação do úbere antes da ordenha com aplicação de desinfetante (*pré-dipping*) e secagem dos tetos com papel toalha descartável, retirada dos três primeiros jatos de leite em caneca de fundo escuro para diagnóstico da mastite clínica, redução da entrada de ar pelas teteiras durante a colocação das unidades de ordenha, redução da sobre-ordenha, cuidado na retirada das teteiras, desinfecção dos tetos após a ordenha (*pós-dipping*), descarte do leite de animais doentes e em tratamento, manutenção dos equipamentos, boas condições de higiene no local de ordenha, boas condições de higiene do ordenhador, resfriamento imediato do leite após a ordenha e limpeza dos equipamentos e utensílios.

No *pré-dipping*, deve-se fazer a imersão dos tetos em solução desinfetante eficaz, na diluição certa e que não seja irritante para a pele, a fim de eliminar todas as bactérias presentes nos tetos dos animais (SILVA; NOGUEIRA, 2010). Os princípios ativos mais utilizados para desinfecção de tetos são o iodo, clorexidina, ácido sulfônico, cloro, peróxidos, lauricidina e ácido cloroso. Para minimizar a irritação e condicionar a pele dos tetos são utilizados algumas bases e emolientes na formulação, como a glicerina, lanolina, propilenoglicol, sorbitol, óleos vegetais, minerais e colágeno (SILVA; NOGUEIRA, 2010).

De acordo com Santos e Fonseca (2003a), os procedimentos de *pré-dipping* com preparação do úbere antes da ordenha têm efeito importante para reduzir a contaminação nas extremidades dos tetos e, conseqüentemente, a contaminação no leite obtido, além de contribuir para prevenir a ocorrência de infecções intramamárias, visto que, o risco de ocorrência destas infecções está diretamente relacionado com a intensidade de contaminação da extremidade dos tetos.

Um correto manejo na ordenha, com ênfase na preparação prévia dos tetos (limpeza, *pré-dipping* e secagem completa), associado a um programa de controle da mastite, são fundamentais para a obtenção de um leite de alta qualidade. A adoção do *pré-dipping* aliado à secagem manual dos tetos com papel toalha reduz em até 54% a carga bacteriana do leite (GUIMARRÃES, 2008).

A desinfecção dos tetos após a ordenha, processo denominado de *pós-dipping* previne eficientemente a infecção cruzada entre os animais, por eliminar da superfície do teto os patógenos contagiosos que possam ter sido transferidos de animais contaminados para animais sadios durante a ordenha (MARTINS et al., 2010). No *pós-dipping* a imersão dos tetos deve ser feita em solução anti-séptica após a ordenha. É considerada uma medida prática, econômica e eficaz no controle da mastite, reduzindo em mais de 50% as novas infecções intramamárias durante a lactação (SILVA; NOGUEIRA, 2010).

Entre os fatores que expõe a superfície dos tetos aos microrganismos patogênicos, transmissíveis de animais infectados para não infectados durante o processo de ordenha, está a mão do ordenhador, a ordenhadeira, práticas de higiene e lesões nos tetos (ISA et al., 2004). Algumas práticas adotadas na ordenha reduzem os problemas relacionados a infecções intramamárias e contagem de células somáticas no leite, como: uso de luvas, uso de extratores automáticos de ordenha, desinfecção dos tetos após a ordenha, uso de sistema de ordenha por lotes e alimentação dos animais após a ordenha (DUFOR et al., 2011).

Além desses fatores, a higienização na indústria de alimentos é fundamental para a qualidade microbiológica e obtenção de produtos que não ofereçam riscos à saúde do consumidor (CAVALCANTI, 2005).

3.5.2 Higienização dos Equipamentos

Segundo Guido et al. (2010), a contaminação do leite pode ocorrer durante a ordenha, mas as principais fontes são os equipamentos utilizados durante a manipulação, transporte, processamento e o armazenamento, o que ressalta a importância da higienização adequada desses equipamentos.

A higienização pode ser dividida em duas etapas: limpeza e sanitização. O objetivo da limpeza é a remoção de resíduos orgânicos e minerais que ficam aderidos às superfícies, enquanto que a sanitização objetiva a eliminação de microrganismos patogênicos e redução no número de saprófitos a níveis considerados seguros (CAVALCANTI, 2005).

Os principais agentes de limpeza utilizados são os detergentes ácidos e alcalinos. A função dos compostos ácidos é dissolver os resíduos minerais (sais inorgânicos) como cálcio, magnésio e ferro presentes no leite e na água de limpeza (REINEMANN et al., 2003; CAVALCANTI, 2005). Os detergentes alcalinos têm a função de dissolver compostos orgânicos (gordura e proteína) (REINEMANN et al., 2003). Apresentam em sua composição, substâncias alcalinas que atuam quimicamente na remoção de compostos orgânicos da superfície dos equipamentos. Os principais ingredientes são: álcalis, fosfatos, umectantes, agentes quelantes e sequestradores. Os álcalis (como o hidróxido de sódio e o carbonato de sódio) promovem a saponificação da gordura, enquanto os fosfatos (orto e polifosfato) auxiliam na redução da dureza da água, e atuam como emulsificantes e dispersantes. Os agentes umectantes facilitam a penetração da solução e auxiliam na remoção da proteína, visto que o cloro atua quebrando a proteína em peptídeos menores, os quais são facilmente removidos (SANTOS; FONSECA, 2003b; CAVALCANTI, 2005).

Na maioria dos países do mundo a rotina de limpeza envolve um enxágue inicial, um ciclo de detergente alcalino clorado, periodicamente um ciclo de detergente ácido e uma sanitização antes da ordenha (SANTOS; FONSECA, 2003b).

Na limpeza manual, os utensílios e equipamentos de ordenha são desmontados e higienizados manualmente. A formulação dos produtos utilizados difere das projetadas para a

limpeza automática Clean-In-Place (CIP). Os detergentes contêm mais surfactantes e são formulados para serem eficazes em temperaturas baixas (REINEMANN et al., 2003).

Para um sistema de ordenha com limpeza automática por CIP, recomenda-se a limpeza manual externa das unidades finais e mangueiras e utilização dos ciclos de limpeza: enxágue inicial com água a 35°C; limpeza com detergente alcalino clorado (a temperatura inicial deve ser de 70°C e no final do ciclo não ser inferior a 40°C) por aproximadamente 10 minutos; limpeza com detergente ácido, com água a 35°C, por aproximadamente 5 minutos e desinfecção ou sanitização (SANTOS, 2007).

A limpeza dos equipamentos de ordenha é realizada pela combinação da ação química e mecânica. A detergentência e a capacidade dos agentes químicos em converter compostos insolúveis em solúveis fornecem a ação química e o fluxo turbulento das soluções nas tubulações e equipamentos fornece a ação mecânica (REINEMANN et al., 2003; CAVALCANTI, 2005).

Os principais fatores que afetam a eficiência da limpeza dos equipamentos de ordenha e utensílios são: tempo, temperatura, volume, concentração do detergente, velocidade e turbulência das soluções de limpeza, e, drenagem adequada (SANTOS 2007; SANTOS; FONSECA, 2003b).

A limpeza deve começar imediatamente após a ordenha a fim de evitar a aderência de componentes orgânicos (gordura, proteína e lactose) nas tubulações e equipamentos de ordenha (SANTOS; FONSECA, 2003b). O enxágue inicial objetiva remover resíduos de leite aderidos à superfície dos equipamentos. A água não deve circular, sendo descartada após uma única passagem nos equipamentos. O enxágue deve ser aplicado entre os ciclos de limpeza para remover resíduos químicos e evitar a mistura de produtos químicos incompatíveis (REINEMANN et al., 2003).

O aumento da temperatura geralmente aumenta a ação química dos desinfetantes. No entanto, a temperatura em excesso pode causar a volatilização de alguns componentes químicos reduzindo sua eficácia, além de causar desnaturação de proteínas e deposição mineral (REINEMANN et al., 2003). Para o enxágue inicial a temperatura ideal para a água é de 35 a 43°C; para o detergente alcalino a temperatura inicial deve ser de aproximadamente 70°C e no final do ciclo não inferior a 40 °C. Temperaturas superiores a 77°C causam desnaturação e aderência nas superfícies, além de dissipar o cloro do detergente alcalino clorado, reduzindo sua eficácia. Por outro lado, a gordura do leite sofre saponificação em temperaturas inferiores a 34°C. Para o detergente ácido a temperatura deve estar entre 35 a

43°C, sendo que, temperaturas acima de 60°C causam evaporação do detergente ácido e deposição de minerais (SANTOS; FONSECA, 2003b).

A quantidade de água utilizada em cada ciclo afeta diretamente ação química e a capacidade de entrar em contato com todas as partes do equipamento. O volume das soluções deve ser de 30 a 50% da capacidade interna das tubulações, já que volumes insuficientes dificultam a limpeza, pois o detergente não atinge toda a superfície (SANTOS; FONSECA, 2003b).

A ação química dos desinfetantes diminui com o aumento da dureza da água. A presença de sólidos em suspensão, minerais e outros componentes dissolvidos na água neutralizam a eficácia dos agentes de limpeza. Concentrações químicas em excesso podem causar a corrosão e danos aos equipamentos (REINEMANN et al., 2003).

A água utilizada nos procedimentos de higienização deve ser potável, já que compreende entre 95 a 99% das soluções de limpeza e sanitização. A utilização de água com qualidade duvidosa pode levar a formação de depósitos e incrustações minerais nas superfícies das tubulações ou equipamentos, corrosão dos metais, além de promover alterações microbiológicas nos produtos e possibilitar a presença de patógenos (CAVALCANTI, 2005).

A frequência exigida para o enxágue ácido depende da qualidade da água utilizada. O pH da solução ácida deve estar abaixo de 3,5 (REINEMANN et al., 2003; CAVALCANTI, 2005). A frequência inadequada de lavagem com detergente ácido pode permitir a precipitação de minerais sobre a superfície dos equipamentos de ordenha, que posteriormente, permitem a aderência de resíduos orgânicos e formação de biofilmes (ELMOSLEMANY et al, 2010). Sob determinadas condições, os microrganismos se aderem, interagem com a superfície e iniciam o crescimento celular. Esta multiplicação dá origem a colônias e quando a massa celular é suficiente para agregar nutrientes, resíduos e outros microrganismos, está formado o biofilme (CAVALCANTI, 2005). Durante a ordenha, esses microrganismos são carregados pelo fluxo de leite para o tanque de armazenamento (SANTOS; FONSECA, 2003b).

Em pontos onde há curvas e conexões a quantidade de microrganismos é bem maior, já que nestes pontos, resíduos de leite favorecem a multiplicação bacteriana. Tais conexões de difícil higienização precisam ser desmontadas em intervalos regulares para uma higienização eficiente (SANTANA et al., 2001).

A duração dos ciclos de limpeza é um dos fatores que afetam a ação química dos detergentes e sanitizantes. Um período muito curto resulta em limpeza deficiente e formação de biofilmes. Para o detergente alcalino recomenda-se uma circulação de aproximadamente 10 minutos. Uma duração superior implica em diminuição da temperatura da solução, o que promove a deposição de resíduos. Períodos menores não são suficientes para a ação química do detergente. Para o detergente ácido e sanitizante a recomendação é de 5 minutos (SANTOS; FONSECA, 2003b).

Diluições inadequadas com baixa concentração de detergentes resultam em uma limpeza incompleta pela ação química, enquanto que altas concentrações podem causar deposições e reduzir a eficiência, além de aumentar o custo da limpeza (SANTOS; FONSECA, 2003b).

De acordo com estudo realizado por Santana et al. (2001), altas contagens de microrganismos mesófilos e psicrotróficos em equipamentos de ordenha podem estar associados a falhas na higienização destes equipamentos, envolvendo concentrações de sanitizantes ou temperaturas incorretas, e/ou atraso nas trocas das borrachas dos copos das teteiras.

Os sanitizantes são aplicados nas superfícies higienizadas dos equipamentos para reduzir a níveis aceitáveis o número de microrganismos existentes. Devem ser aplicados preferencialmente imediatamente antes do início da ordenha, reduzindo o número de microrganismos que se multiplicam nos resíduos de leite não removidos pela limpeza. Depósitos residuais reduzem a eficácia dos desinfetantes, por proporcionar locais de proteção dos microrganismos aos agentes de desinfecção (REINEMANN et al., 2003).

A drenagem por gravidade entre os ciclos de limpeza nos encanamentos e mangueiras é um aspecto relevante, pois a água parada no sistema conduz a mistura de soluções de limpeza reduzindo sua eficácia e aumentando o risco de crescimento bacteriano entre as ordenhas (REINEMANN et al., 2003).

Em síntese, o principal objetivo da limpeza e desinfecção é fazer com que o equipamento não aumente a carga microbiana do leite após a ordenha. Uma limpeza deficiente proporciona condições muito favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos no interior dos equipamentos, o que eleva significativamente a contaminação do leite produzido nessas condições, mesmo que a propriedade conte com um excelente sistema de resfriamento do leite e rebanho com um bom controle de mastite (CAVALCANTI, 2005).

3.5.3 Refrigeração do leite

A contagem bacteriana total do leite é influenciada diretamente pela temperatura e tempo de armazenamento do leite, uma vez que, tais fatores estão ligados a multiplicação de microrganismos (GUERREIRO et al., 2005). Recomenda-se que a temperatura do leite esteja a 4°C em até três horas após a ordenha (BRASIL, 2002).

Segundo Nornberg, Tondo e Brandelli (2009), o armazenamento do leite cru sob refrigeração possibilita a redução de custos operacionais de produção e evita perdas dessa matéria-prima pela atividade acidificante de bactérias mesófilas. No entanto, o resfriamento do leite como prática isolada não é suficiente para garantir a qualidade do produto, já que em leites com alta contagem bacteriana inicial o processo de refrigeração não impede a multiplicação de bactérias psicrotóxicas, que dobram sua população em cada vinte a trinta minutos. Portanto, o leite deve ser manuseado corretamente, evitando sua contaminação, desde o momento da ordenha até chegar à indústria de laticínios e ao consumidor final (VALLIN et al., 2009; SANTOS et al., 2008).

4 METODOLOGIA

4.1 CARACTERÍSTICAS DAS PROPRIEDADES

O estudo foi realizado em duas propriedades leiteiras localizadas no Extremo Oeste de Santa Catarina, no período compreendido entre Novembro de 2010 e Maio de 2011. As propriedades foram identificadas como propriedade A e propriedade B.

4.2 ESTUDO PROPOSTO

O estudo foi desenvolvido em duas fases. Na primeira fase do estudo foi realizada a caracterização do perfil das propriedades com a aplicação de um questionário (considerando as práticas higiênicas adotadas convencionalmente pelos produtores), bem como, a coleta e análise microbiológica de amostras de leite cru refrigerado, análise microbiológica dos desinfetantes, da água utilizada nas propriedades, da superfície dos tetos dos animais, além dos equipamentos e utensílios de ordenha. Esta fase da pesquisa teve como objetivos a identificação dos pontos de contaminação do leite na ordenha e a avaliação da qualidade microbiológica do leite produzido nas propriedades. Já, na segunda fase do estudo, foram aplicadas técnicas de Boas Práticas de Fabricação no processo produtivo, juntamente com a coleta e análise microbiológica de amostras de leite cru refrigerado, a fim de avaliar os efeitos das Boas Práticas de Fabricação adotadas.

4.2.1 Identificação dos pontos de contaminação do leite

Visando identificar os principais pontos de contaminação do leite na linha de ordenha foram coletadas e analisadas 07 amostras da superfície dos equipamentos e utensílios de ordenha, sendo: 02 das ordenhadeiras (01 em cada propriedade), 02 dos tanques de armazenamento de leite (01 em cada propriedade), 02 dos filtros de leite (01 em cada propriedade) e 01 dos latões (somente na propriedade B), bem como, 08 amostras da superfície dos tetos dos animais (04 em cada propriedade), 02 amostras dos desinfetantes utilizados no *pré-dipping* (01 em cada propriedade) e 02 amostras da água utilizada nas propriedades (01 em cada propriedade) (Figura 1).



Figura 1. Pontos de coleta das amostras nos equipamentos e utensílios de ordenha, tetos dos animais, desinfetantes e água.

4.2.2 Levantamento de dados das propriedades

O levantamento de dados nas propriedades foi realizado através de um questionário (Apêndice A), que contemplou aspectos do processo produtivo, estrutura do estabelecimento, técnicas utilizadas, procedimentos de higienização dos equipamentos de ordenha, manipulação e higiene na ordenha, armazenamento do leite, entre outros. O preenchimento do questionário foi realizado por meio de questionamentos ao proprietário, bem como, pela observação visual *in loco* da estrutura das propriedades e procedimentos utilizados durante a ordenha.

4.2.3 Capacitação dos produtores

A capacitação dos produtores foi realizada após a obtenção dos resultados iniciais, obtidos através das análises microbiológicas e dos questionários. Através da confrontação dos dados levantados nas propriedades com as recomendações da IN 51 foi elaborada uma lista contendo as não conformidades identificadas, juntamente com as sugestões para correção (Apêndice B). Concomitantemente foi realizada a capacitação dos produtores com sugestões de práticas e medidas profiláticas a serem adotadas no processo produtivo, baseadas em conceitos de Boas Práticas de fabricação, como: cuidados higiênicos do ordenhador, manejo correto na ordenha, realização dos procedimentos de *pré* e *pós-dipping*, controle da mastite, refrigeração do leite, higienização dos equipamentos e utensílios de ordenha, manutenção dos equipamentos e qualidade da água.

4.2.4 Avaliação das práticas propostas

A avaliação da eficiência das Boas Práticas de fabricação adotadas foi realizada através da análise microbiológica de 40 amostras de leite (20 em cada propriedade) obtido dos tanques de refrigeração nas propriedades, com quantificação de microrganismos mesófilos aeróbios (MA), *Staphylococcus* coagulase positiva (SA), coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (CF).

4.2.5 Coleta das amostras

Foram coletadas 79 amostras, sendo: 60 amostras de leite cru refrigerado, 08 amostras da superfície dos tetos dos animais, 02 amostras da água, 02 amostras dos desinfetantes e 07 amostras da superfície dos equipamentos e utensílios de ordenha (ordenhadeiras, tanque de armazenamento de leite, filtros de leite e latões).

4.2.5.1 Leite Cru Refrigerado

Foram coletados aproximadamente 200 mL de leite cru refrigerado diretamente da parte superior e central dos tanques de expansão, após a agitação programada por cinco minutos. Todas as amostras foram coletadas com o auxílio de uma concha de aço inoxidável esterilizada com álcool 92°GL por flambagem. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados e transportadas, em caixa isotérmica com gelo, ao laboratório de microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste, para análise. Todas as amostras, em seus frascos ainda fechados, foram agitadas por aproximadamente 20 vezes para homogeneização. Após, procederam-se as diluições decimais seriadas com transferência de alíquotas de 1 mL da amostra para tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril a 0,1%, e em seguida, foram realizadas as análises microbiológicas para quantificação de MA, SA, CT e CF.

4.2.5.2 Água

Foram coletadas aproximadamente 200 mL de água diretamente da torneira na sala de ordenha/estábulo. A água coletada era utilizada na higienização dos animais e equipamentos de ordenha. As amostras foram coletadas assepticamente com as mãos higienizadas com álcool gel 70°GL. Antes de realizar a coleta, foi deixado a água escorrer por três minutos para eliminar impurezas e água acumulada na tubulação. As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis, mantidas em caixa isotérmica com gelo durante o transporte para o laboratório de microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste, para análise.

Todas as amostras, em seus frascos ainda fechados, foram agitadas por aproximadamente 20 vezes para homogeneização. Após, procederam-se as diluições decimais

seriadas com transferência de alíquotas de 1 mL da amostra para tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril a 0,1%, e em seguida, foram realizadas as análises microbiológicas para quantificação de MA, CT e CF.

4.2.5.3 Superfícies dos equipamentos, utensílios de ordenha e tetos dos animais

As coletas foram realizadas com auxílio de swabs com pontas flexíveis estéreis, friccionando-os na superfície interna dos tanques de expansão, na superfície dos filtros de leite, no interior dos latões de armazenamento de leite e no interior dos copos das ordenhadeiras, em superfícies com área de 100 cm², compatível com o diâmetro dos equipamentos. Para a coleta de amostras da superfície dos tetos selecionam-se aleatoriamente quatro animais em cada propriedade. As amostras foram coletadas na superfície de tetos higienizados conforme as práticas adotadas convencionalmente pelo produtor. Os swabs estéreis foram mergulhados em tubos de ensaio contendo 10 mL de água peptonada estéril a 0,1%, e, em seguida, friccionados sob o teto em uma área correspondente a 1 cm², compatível com o diâmetro do teto.

Os swabs foram mergulhados e mantidos em tubos de ensaio com tampa rosqueável contendo água peptonada estéril a 0,1%, conservados sob refrigeração durante o seu transporte ao laboratório para processamento. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas em agitador por 60 segundos. Após, procederam-se as diluições decimais seriadas com transferência de alíquotas de 1 mL da amostra para tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril a 0,1%, e em seguida, foram realizadas as análises microbiológicas para quantificação de MA, SA, CT e CF.

4.2.5.4 Desinfetantes

As amostras de solução desinfetante utilizadas para a realização do *pré-dipping* foram coletadas 15 minutos após o seu preparo. As amostras foram coletadas assepticamente com as mãos higienizadas com álcool gel 70°GL. Aproximadamente 200 mL do desinfetante foram acondicionadas em frascos esterilizados e transportadas, em caixa isotérmica com gelo, ao laboratório de microbiologia da Universidade do Oeste de Santa Catarina- UNOESC, Campus de São Miguel do Oeste, para análise.

Todas as amostras, em seus frascos ainda fechados, foram agitadas por aproximadamente 20 vezes para homogeneização. Após, procederam-se as diluições decimais seriadas com transferência de alíquotas de 1 mL da amostra para tubos contendo 9 mL de água peptonada estéril a 0,1%, e em seguida, foram realizadas as análises microbiológicas para quantificação de MA, SA, CT e CF.

4.2.6 Análises Microbiológicas

As amostras do leite cru refrigerado, desinfetantes e superfície dos tetos, equipamentos e utensílios de ordenha foram submetidas a análises microbiológicas, para quantificação de MA, SA, CT e CF. As amostras de água foram submetidas a análises microbiológicas para quantificação de microrganismos MA, CT e CF, conforme os parâmetros exigidos pela Portaria n° 518/2004, do Ministério da Saúde, publicado em 25 de março de 2004. Todas as análises microbiológicas foram realizadas em triplicata em placas da mesma diluição, de acordo com as determinações da Instrução Normativa n° 62/2003 (IN 62), do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), publicado em agosto de 2003 (BRASIL, 2003).

4.2.6.1 Contagem de Microrganismos Mesófilos Aeróbios

Alíquotas de 1 mL das diluições foram depositadas em placas de petri esterilizadas, seguido pela adição de aproximadamente 20 mL de ágar padrão para contagem (PCA) previamente fundido e mantido à temperatura de 45°C, utilizando-se a técnica de *pour-plate*. Em seguida as placas foram suavemente homogeneizadas em superfície plana, com movimentos circulares suaves em forma de “8”. Após a solidificação em temperatura ambiente, as placas foram invertidas e incubadas em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. Placas com diluições que apresentaram crescimento no intervalo de 25 a 250 colônias foram contadas com auxílio de um contador de colônias. Os resultados foram expressos em UFC/mL.

4.2.6.2 Determinação de coliformes totais e termotolerantes em leite cru refrigerado

Foi utilizada a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos, que determina o Número Mais Provável (NMP), empregando-se séries de três tubos por diluição. Alíquotas de 1 mL das amostras nas diluições de 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio. Em seguida os tubos foram homogeneizados e incubados em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, observou-se a turvação e produção de gás nos tubos de Durham, a partir da fermentação da lactose. Alíquotas dos tubos positivos do teste anterior foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Bile Verde Brilhante 2%, com incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, e, para tubos contendo 10 mL de caldo EC com incubação a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, para confirmação de CF. Os tubos que apresentaram formação de gás ou efervescência quando agitados gentilmente foram considerados positivos. A partir da combinação dos números correspondentes aos tubos que apresentarem resultado positivo em cada um dos testes confirmativos, foi verificado o NMP de microrganismos de acordo com a tabela contida na IN 62. Os resultados foram expressos em NMP/mL.

4.2.6.3 Determinação de coliformes totais e termotolerantes em água

Foi utilizada a Técnica de Fermentação em Tubos Múltiplos, que determina o NMP, empregando-se séries de três tubos por diluição. Alíquotas de 10 mL, 1 mL e 0,1 mL das amostras foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Lauril Sulfato de Sódio. Em seguida os tubos foram homogeneizados e incubados em estufa a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Após o período de incubação, observou-se a turvação e produção de gás nos tubos de Durham, a partir da fermentação da lactose. Alíquotas dos tubos positivos do teste anterior foram transferidas para tubos contendo 10 mL de caldo Bile Verde Brilhante 2%, com incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, e, para tubos contendo 10 mL de caldo EC com incubação a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas, para confirmação de CF. Os tubos que apresentaram formação de gás ou efervescência quando agitados gentilmente foram considerados positivos. A partir da combinação dos números correspondentes aos tubos que apresentarem resultado positivo em cada um dos testes confirmativos, foi verificado o NMP de acordo com a tabela contida na IN 62. Os resultados foram expressos em NMP/100 mL.

4.2.6.4 Determinação de coliformes totais e termotolerantes em desinfetantes e superfície dos tetos, equipamentos e utensílios de ordenha

Para a contagem de CT foi utilizada a técnica de *pour-plate* de sobrecamada com ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA). Foram adicionadas aproximadamente 15 mL de VRBA previamente fundido e mantido à temperatura de 45°C em placas de petri esterilizadas. Em seguida, alíquotas de 1 mL de cada diluição foram depositadas nas placas, seguindo-se pela adição de uma sobrecamada de VRBA, com posterior homogeneização em superfície plana, com movimentos circulares suaves em forma de “8”. Após solidificação a temperatura ambiente, as placas foram incubadas invertidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Placas com diluições que apresentaram crescimento no intervalo de 25 a 250 colônias foram contadas. Os resultados foram expressos em UFC/mL. Para a contagem e confirmação de CF inoculou-se três colônias características de cada placa do VRBA em tubos contendo 10 mL de caldo EC. Foram considerados positivos para CF os tubos que evidenciaram a presença de gás nos tubos de Durham após incubação por 24- 48 horas a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$.

4.2.6.5 Determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva

O número de SA foi determinado pela inoculação de 0,1 mL da amostra e semeadura com auxílio de alça de Drigalski sobre a superfície de placas de Petri contendo ágar Baird-Parker, que possui em sua composição telurito de potássio, que confere a coloração enegrecida às colônias. As placas foram incubadas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 a 48 horas.

Para efetuar a leitura foram selecionadas placas com 20 a 200 colônias. Foram contadas as colônias típicas (colônias negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e colônias atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes, sem halo ou com apenas um dos halos). Para a confirmação, foram selecionadas em média três colônias de cada tipo (colônias típicas e atípicas). Em seguida, as colônias selecionadas foram transferidas para tubos contendo caldo e ágar Brain Heart Infusion (BHI) com incubação por $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas. A partir de cada subcultivo, as cepas foram submetidas ao teste de coagulase e a testes complementares de coloração de Gram, catalase, e fermentação em ágar sal-manitol, conforme Silva (1997).

Para a prova de coagulase foi transferido 0,2 mL de cada cultura obtida em tubo de cultivo em BHI, para tubos de ensaio estéreis. Foram adicionados 0,2 mL de Coagulase

Plasma de coelho, seguido por incubação por 24 horas a 37°C. A cada hora foi observada a reação, sendo considerada como prova positiva a coagulação total no tubo, resultado da transformação do fibrinogênio em fibrina com conseqüente coagulação do plasma sanguíneo.

Para o teste de coloração de Gram, foi preparado um esfregaço da cultura obtida em tubo de cultivo em ágar BHI em lâmina de vidro. Em seguida, procedeu-se a coloração de Gram: primeiramente aplicou-se o corante violeta genciana por 1 minuto e 30 segundos, em seguida aplicou-se a solução de lugol por 1 minuto, a fim de fixar o corante aplicado. Após, aplicou-se a solução de álcool-acetona e, em seguida, procedeu-se a aplicação do contra-corante safranina por 30 segundos. As lâminas foram visualizadas em microscópio óptico. Considerou-se confirmativo para SA a presença de cocos gram positivos em forma de cachos.

Para a prova de catalase adicionou-se, com o auxílio de um palito estéril, um inóculo da cultura obtida em tubo de cultivo em ágar BHI, para lâminas de vidro. Em seguida, adicionou-se a cultura, aproximadamente 1 mL de peróxido de hidrogênio a 3%. Foram considerados testes positivos a formação de borbulhas imediatas, resultado da reação entre o peróxido de hidrogênio e a cultura bacteriana.

A partir das colônias selecionadas (colônias típicas e atípicas) foram transferidos inóculos do cultivo em placas para tubos de ensaio contendo ágar sal manitol inclinado. Os tubos foram incubados por $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. Foram consideradas como provas positivas para SA, a reação da fermentação do manitol, com mudança de coloração do meio para amarelo brilhante.

4.2.7 Análise estatística dos dados

Para avaliar a existência de diferenças estatísticas entre os parâmetros avaliados antes e após a adoção dos procedimentos de Boas Práticas de manipulação foi utilizado o Teste-T Students considerando como nível de significância 5% ($p < 0.05$ como estatisticamente significativo). Todos os cálculos estatísticos foram aplicados com auxílio do software SSPS Statistiscs® (17.0).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AVALIAÇÃO DO PERFIL DAS PROPRIEDADES

A Propriedade A apresentava um rebanho composto por quarenta animais em lactação com produção média diária de 1.000 litros de leite, sala de ordenha com coleta do leite por sistema canalizado e sistema automatizado de limpeza dos equipamentos, manejo de ordenha constituído por duas ordenhas diárias e tanque de expansão para armazenamento do leite. Diariamente a produção era encaminhada para beneficiamento.

A Propriedade B apresentava um rebanho constituído por 16 animais em lactação com produção média diária de 300 litros de leite, estábulo com sistema de ordenha mecânico e captação do leite em latões posteriormente transferidos ao tanque de expansão, limpeza manual dos equipamentos, manejo de ordenha constituído por duas ordenhas diárias. A produção era encaminhada para beneficiamento a cada 48 horas.

A rotina de higiene adotada nas duas propriedades consistia em *pré-dipping* com toalhas reutilizáveis mergulhadas em solução diaminopropil laurilamina a 30%, início da ordenha, uso de *pós-dipping* com solução de ácido láctico e lavagem dos equipamentos de ordenha com detergente alcalino e ácido.

Ambas as propriedades não realizavam a sanitização dos equipamentos e utensílios antes da ordenha. Havia negligência dos produtores quanto ao uso criterioso dos sistemas de higienização dos equipamentos em relação às concentrações utilizadas, bem como, à temperatura e tempo de circulação das soluções. Em ambas as propriedades o filtro de leite era reutilizado entre as ordenhas. Esses resultados são preocupantes, pois Santos e Fonseca (2003b) destacam que somente a aplicação dos produtos de limpeza recomendados não garante uma boa higienização, uma vez que, além da ação química, são fundamentais os cuidados com a temperatura e a composição da água, o volume das soluções e o tempo de limpeza.

Quanto à temperatura de armazenamento do leite em tanques, a propriedade A apresentou temperaturas superiores a 4°C, com variação de 4,2 a 6°C. Já a propriedade B manteve o leite em temperaturas adequadas, entre 2 a 4,3°C. Ocasionalmente, nas duas propriedades, o tanque de expansão era ligado somente no final da ordenha, iniciando o processo de refrigeração com uma hora de atraso, em média. Segundo Guimarrães (2008), a velocidade de refrigeração, depois da obtenção do leite, constitui o primeiro passo para a

manutenção da contagem bacteriana em níveis baixos. Quanto mais rapidamente for reduzida a temperatura, melhor será a conservação do leite. Assim, os tanques de expansão devem oferecer condições para a refrigeração acelerada do leite a 4°C em tempo igual ou inferior a três horas, além de conservar essa temperatura.

O diagnóstico da mastite era realizado com o teste de *Califórnia Mastitis Test* (CMT), porém não havia registro dos dados e monitoramento na frequência de realização do teste. O CMT tem sido utilizado como um método rápido e simples para monitorar a quantidade de células somáticas de quartos mamários (BHUTTO; MURRAY; WOLDEHIWET, 2010), sendo o aumento destas células ocasionado principalmente por microrganismos presentes na glândula mamária (FAGAN et al., 2008).

A caneca de fundo escuro não era utilizada diariamente em nenhuma das propriedades e não havia descarte dos três primeiros jatos de leite. Ambas as propriedades utilizavam a terapia da vaca seca como tratamento e controle da mastite.

A água utilizada nas propriedades era proveniente de fontes e não havia nenhum tipo de controle quanto à sua potabilidade. A frequência de limpeza dos reservatórios de água era anual.

5.2 PRINCIPAIS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO LEITE

Os desinfetantes utilizados no *pré-dipping* (diaminopropil laurilamina a 30%), apresentaram altas contagens de MA (média de 5,9 Log UFC/ml) e de CT (média de 3,3 Log UFC/ml) (Tabela 1).

Tabela 1. Contagem total média de mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em amostras de desinfetantes

Propriedade	MA (log UFC/mL)	CT (log UFC/mL)	CF (log UFC/mL)	SA (log UFC/mL)
A	6,1	3,6	Ausência	Ausência
B	5,4	0,4	Ausência	Ausência
Contagem total média	5,9	3,3	Ausência	Ausência

Fonte: o autor, 2011.

Na maioria dos casos os desinfetantes são escolhidos pelo hábito de uso, facilidade de aplicação ou preço, que, aliado à falta de realização de análises laboratoriais para avaliar a eficiência das soluções desinfetantes utilizadas na rotina do processo de ordenha

comprometem a qualidade do leite (MEDEIROS et al., 2009). Além disso, outro fator destacado é a presença de matéria orgânica que reduz acentuadamente a eficiência dos desinfetantes (MEDEIROS et al., 2009), fator que pode ter contribuído para as altas taxas de contaminação verificadas neste estudo, já que, a higienização ineficaz nos panos reutilizados pode ter carregado material orgânico à solução desinfetante.

Os principais pontos de contaminação por MA, CT e CF foram a ordenhadeira, os tetos dos animais, o filtro de leite e o tanque de expansão (Tabela 2). Dos itens citados, SA foi encontrado somente nos tetos.

Tabela 2. Contagem total média de mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em amostras da superfície dos tetos, equipamentos e utensílios de ordenha

Local da coleta	MA (log UFC/cm ²)	CT (log UFC/cm ²)	CF (log UFC/cm ²)	SA (log UFC/cm ²)
Ordenhadeira	4,1	3,4	3,4	Ausência
Tetos	3,8	3,4	3,1	2,37
Filtro de leite	5,3	0,7	0,7	Ausência
Tanque de expansão	4,2	2,1	1,7	Ausência
Latões de leite	0,1	Ausência	Ausência	Ausência

Fonte: o autor, 2011.

Normalmente, os principais pontos de contaminação microbiana na obtenção do leite cru são o interior da glândula mamária, o exterior do úbere e das tetas e os equipamentos de ordenha e de armazenamento (YAMAZI et al., 2010; ELMOSLEMANY et al., 2010). Neste estudo, apenas os latões de leite não foram considerados fontes de contaminação, diferindo dos dados encontrados por Guido et al. (2010), que analisando a contaminação de latões de armazenamento de leite encontraram contagens de até 5×10^4 UFC/cm² de MA, NMP de 120/cm² de CT, NMP de 93/cm² de CF e 4×10^3 UFC/cm² de SA. Também para Santana et al. (2001), os pontos de contaminação do leite foram os tanques de expansão, tetos mal higienizados, água residual dos equipamentos de ordenha, mangueiras e os latões de armazenamento de leite, que diferindo dos dados encontrados neste estudo, foram considerados pelos autores os principais pontos de contaminação nas propriedades que utilizam ordenha balde ao pé, com contagens de MA de $10,8 \times 10^8$ UFC/cm².

Quanto à contaminação em ordenhadeiras, Rivas et al. (2010), encontraram contagens médias menores do que as encontradas neste estudo para CT, CF e MA, variando entre NMP de 0,3 e 15/unidade, NMP de 0,3 e 4,3/unidade, e, entre 10 e 1×10^5 UFC/unidade,

respectivamente. Da mesma forma, Cavalcanti (2005), encontrou baixas contagens para MA em equipamentos de ordenha, com variação nas contagens médias de 2,2 a 100 UFC/cm².

Em relação à contaminação em tetos dos animais, resultados semelhantes aos encontrados foram verificados por Yamazi et al. (2010), que identificaram os tetos e os primeiros jatos do leite dos animais como os principais pontos de contaminação por MA na linha de ordenha. Já para CT e *Escherichia coli*, os mesmos autores encontraram baixos níveis de contaminação, diferindo dos dados encontrados neste estudo. Também Santana et al. (2001), avaliando a contaminação por MA em tetos higienizados, encontraram contagens médias de $1,3 \times 10^4$ UFC/cm². Já Rivas et al. (2010), constataram contagens de MA variando entre 1×10^2 e 1×10^5 UFC/teto e baixas contagens para CT e CF variando entre NMP de 0,3 e 12/teto e, NMP de 0,3 e 2,3/teto, respectivamente. Elmoslemany et al. (2010), associaram as maiores contagens de MA à higienização inadequada de úbere e tetas dos animais antes da ordenha e ao uso de toalha comercial com solução desinfetante com única prática de *pré-dipping*. Assim, pode-se afirmar que a prática do *pré-dipping* utilizada convencionalmente nas propriedades não foi eficiente na redução da contaminação microbiológica dos tetos a níveis aceitáveis.

Constatou-se que as contagens de MA nos equipamentos e utensílios de ordenha encontravam-se acima do preconizado pela APHA (Associação Americana de Saúde Pública) (1998), citado por Cavalcanti (2005), a qual determina que em superfícies que entram em contato com alimentos adequadamente limpas e sanitizadas, o número de microrganismos encontrados não deve exceder 2 UFC/cm², para ser considerado em condições higiênicas satisfatórias. Já para Harrigan (1998), também citado por Cavalcanti (2005), o número máximo de microrganismos aeróbios e facultativos mesófilos não dever ser superior a 5 UFC/cm², além da ausência de patógenos e microrganismos indicadores do grupo coliforme. Assim, os resultados deste experimento indicam que os tetos dos animais, ordenhadeiras, filtros de leite e tanques de expansão apresentaram má higienização, não atendendo aos padrões de higiene recomendados pela literatura.

A água utilizada nas duas propriedades apresentou-se de acordo com os padrões de contaminação por MA exigidos pela Portaria n^o 518/2004, do Ministério da Saúde. No entanto, as amostras analisadas evidenciaram a presença de CT, além da contaminação por CF na água utilizada na propriedade B (Tabela 3).

Tabela 3. Contagem total de mesófilos aeróbios (MA), coliformes totais (CT) e coliformes termotolerantes (CF) em amostras de água utilizada nas propriedades

Propriedade	MA (UFC/mL)	CT (NMP/100 mL)	CF (NMP/100 mL)
A	140	460	< 3
B	138	93	3,6

Fonte: o autor, 2011.

Desta forma, a água utilizada nas propriedades pode ser uma provável fonte de contaminação por CT e por CF dos tetos e utensílios de ordenha, e conseqüentemente, do leite produzido. Nossos resultados corroboram com a afirmação de Amaral et al. (2003), que enfatiza a importância da água na obtenção de produtos de boa qualidade microbiológica, pois de acordo com o autor, a água utilizada na produção tem grande influência na contaminação do leite, e, por constituir um veículo de transmissão de agentes patogênicos, deve ter características de potabilidade.

5.3 BOAS PRÁTICAS DE MANIPULAÇÃO ADOTADAS

Para adequação das não conformidades encontradas (APÊNDICE B), foram adotados novos procedimentos e práticas de manipulação na ordenha, como: sanitização dos equipamentos e utensílios antes da ordenha; monitoramento e registro dos processos de higienização dos equipamentos e utensílios com controle constante das concentrações das soluções de limpeza através do uso de copos medidores para detergentes e sanitizantes, bem como, controle da temperatura das soluções de limpeza com o uso de termômetro, controle do tempo de circulação e pH das soluções de limpeza; controle da drenagem da água residual dos equipamentos; substituição do filtro de leite entre as ordenhas; realização do *pré-dipping* com imersão dos tetos em solução desinfetante à base de iodo em caneca sem refluxo, seguido pela secagem dos tetos com papel toalha; descarte dos três primeiros jatos de leite e uso da caneca de fundo escuro para diagnóstico da mastite clínica; diagnóstico e monitoramento da mastite com realização do teste de CMT com frequência quinzenal; sistema de ordenha dos animais por lotes; limpeza semestral dos reservatórios de água, bem como, controle e monitoramento da refrigeração do leite para 4°C em até três horas após o término da ordenha.

5.4 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE ANTES E APÓS A CAPACITAÇÃO

Os valores médios de MA, CT, CF e SA obtidos durante o estudo não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$) entre as propriedades. Os resultados médios encontrados sugerem que o nível tecnológico e condições de infra-estrutura das propriedades podem não interferir diretamente na qualidade microbiológica do leite.

As contagens médias de MA no leite cru obtidos antes e após a capacitação dos produtores e implantação das técnicas de Boas Práticas de fabricação no sistema produtivo foram respectivamente: 4,88 Log UFC/ml e 3,69 Log UFC/mL (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem total média de Mesófilos Aeróbios (MA), coliformes totais (CT), coliformes termotolerantes (CF) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SA) em leite cru refrigerado antes e após a capacitação dos produtores

Fase do Estudo	MA (log UFC/mL)	CT (NMP/mL)	CF (NMP/mL)	SA (log UFC/mL)
Antes da Capacitação	4,88	61,19	40,26	3,04
Após a Capacitação	3,69	17,89	8,71	2,37
Redução média	1,19	43,3	31,55	0,67

Fonte: o autor, 2011.

Guimarrães (2008) encontrou leite com menores contagens de MA em propriedades que possuíam rotina de ordenha, incluindo o teste da caneca telada, *pré-dipping*, secagem dos tetos, ordenha propriamente dita e *pós-dipping*, em comparação com as propriedades que não realizavam a rotina. Para Rivas et al. (2010), falhas nos procedimentos higiênico-sanitários na obtenção do leite como a limpeza e desinfecção insuficientes dos tetos acarretam em altas contagens de mesófilos aeróbios no leite cru. Pinto, Martins e Vanetti (2006), associaram a contaminação elevada por mesófilos em amostras de leite cru refrigerado com procedimentos de higienização inadequados no sistema de produção, considerando que resíduos de leite presentes nas superfícies dos equipamentos constituem nutrientes para o crescimento de bactérias que contaminam o produto. Assim, a redução de MA observada após a capacitação dos produtores está relacionada às Boas Práticas adotadas na ordenha, principalmente a prática de sanitização aliada ao monitoramento da higienização dos equipamentos, além da substituição do desinfetante utilizado no *pré-dipping*. Estes dados demonstram que a CBT é o

parâmetro que mais facilmente pode ser modificado em um curto espaço de tempo, quando há assistência técnica específica e de qualidade.

Antes da capacitação dos produtores, a maior frequência das amostras analisadas apresentaram contagens para MA na faixa de 3 Log UFC/mL. Após a capacitação, a maioria das amostras apresentou contagens menores, na faixa de 2 Log UFC/mL (Figura 2), demonstrando que é necessária a implantação de programas de capacitação dos produtores para promover a melhoria na qualidade microbiológica do leite e dos produtos oferecidos ao consumidor.

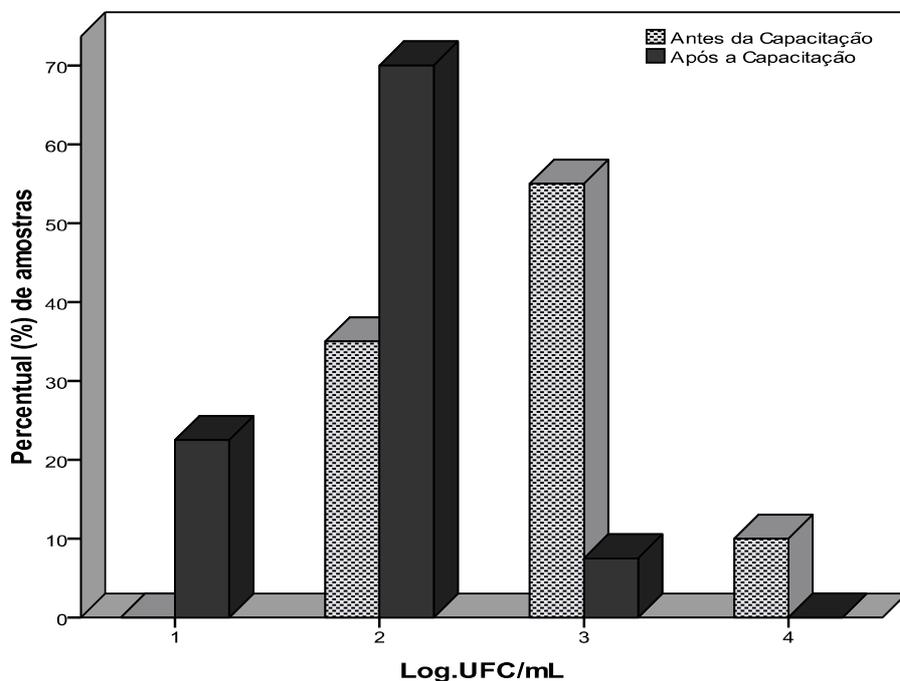


Figura 2. Frequência de Mesófilos Aeróbios em leite cru refrigerado antes e após a Capacitação dos Produtores

Embora os resultados das análises microbiológicas para MA obtidos antes e após a capacitação dos produtores não terem demonstrado diferença significativa a 5%, pode-se observar que após a capacitação houve redução decimal de 1,19 Log/mL nos valores médios, representando um decréscimo de 93,85% nas contagens. Resultados semelhantes foram encontrados por Vallin et al. (2009), que obtiveram 93,95% de redução na CBT, após a adoção de práticas de higiene na ordenha, em propriedades com ordenha mecânica e refrigeração do leite em tanques de expansão. Também Guido et al. (2010) e Costa (2006), analisando a contaminação microbiológica em leite cru refrigerado, constataram redução significativa na contaminação por MA após a implantação das práticas de higiene, reforçando a hipótese de

que a qualidade do leite está diretamente relacionada com o tipo de manejo adotado na produção.

Nossos resultados corroboram com a afirmação de Reinemann et al. (2003), que recomendam como meta razoável a CBT menor de 5.000 UFC/mL e apontam a contagem superior a 10.000 UFC/mL como indicativa de problemas na obtenção do leite, que pode estar nos processos de higienização de equipamentos e utensílios, refrigeração do leite, falhas na higienização dos tetos e mastite. Os resultados obtidos neste estudo indicam uma redução acentuada no número de amostras com mais de 10.000 UFC/mL após a capacitação, demonstrando que os problemas de contaminação microbiológica na obtenção do leite foram solucionados com a capacitação dos produtores.

Nesse estudo, observou-se que apesar de duas amostras de leite coletadas na propriedade A e na propriedade B no início do experimento estarem em desacordo com os padrões definitivos da IN 51 para CBT, as médias das contagens de MA não excederem a esses limites. Andrade, Hartmann e Masson (2009) e Fagan et al. (2008) encontraram resultados semelhantes (3,86 log UFC/mL e 4,21 log UFC/mL, respectivamente) pesquisando níveis de contaminação por MA em leite cru refrigerado. Porém, vários autores relataram a má qualidade do leite com níveis de contaminação por MA acima do preconizado pela IN 51, variando de 1×10^6 UFC/mL a $1,68 \times 10^7$ UFC/mL (COSTA, 2006; GUIDO et al., 2010; MORAES et al., 2005; GUIMARRÃES, 2008; PINTO; MARTINS; VANETTI, 2006; MATTOS et al., 2010).

Em relação à contaminação por CT e CF no leite cru obtido antes e após a capacitação dos produtores foram verificadas contagens médias respectivas de: NMP de 61,19 e 17,89/mL, com redução de 70,76%, e, NMP de 40,26 e 8,71/mL, com redução de 78,36% (Tabela 4). A redução observada para CT e CF após a capacitação dos produtores foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Coliformes podem alcançar os tanques de refrigeração de leite tanto via secreção intramamária, como via contaminação fecal do úbere ou equipamentos utilizados na ordenha. Segundo Tebaldi et al. (2008), a análise de coliformes em leite cru refrigerado é utilizada como indicador de contaminação fecal e de potencial risco devido à correlação entre a presença deste grupo de microrganismos com enteropatógenos.

A contagem de coliformes também fornece uma indicação sobre a eficácia dos procedimentos de higienização pré-ordenha dos tetos e sobre as condições de higiene do ambiente e equipamentos de ordenha (REINEMANN et al., 2003). Philpot e Nickerson

(2002) citado por Spexoto, Oliveira e Olival (2005), classificam como “excelente” e “bom”, o leite contendo o NMP de CT e CF em níveis abaixo de 10/mL e entre 10 e 100/mL, respectivamente. Já para Reinemann et al. (2003), contagens de coliformes entre 100 e 1.000/mL indicam condições precárias de higiene na ordenha e contagens acima de 1.000/mL sugerem a ocorrência de crescimento bacteriano e formação de biofilmes em equipamentos de ordenha. Aplicando-se esta classificação aos resultados obtidos nas coletas realizadas após a aplicação das técnicas de Boas Práticas de fabricação, o leite apresentou contagens médias de CT e CF consideradas boas e excelentes, respectivamente.

Alguns autores encontraram resultados semelhantes aos achados neste estudo, com baixas contagens de CT e CF (com NMP variando entre 1,85 e 22,81/mL, e, NMP de 0,30 e 0,54/mL, respectivamente) em amostras de leite cru refrigerado (COSTA, 2006; ELMOSLEMANY et al., 2010). No entanto, vários pesquisadores relataram contagens de CT e CF acima de 1.000 UFC/mL, indicativas de deficiências de higiene na produção de leite (MORAES et al., 2005; GUIDO et al., 2010; CITADIN et al., 2009; ARCURI et al., 2006; TEBALDI et al., 2008; MATTOS et al., 2010).

Quanto aos percentuais de redução nos níveis de contaminação após a adoção das Boas Práticas de fabricação, Yamazi et al. (2010), encontraram resultados semelhantes aos encontradas neste estudo após a adoção de práticas higiênicas na linha de ordenha, com redução dos níveis de contaminação de 63,5% para CT e 88,1% para *Escherichia coli*.

Para Santos e Fonseca (2003a), ordenhar tetos secos e limpos e uso de *pré-dipping* é a principal medida de controle de coliformes no leite cru refrigerado. Assim, a ineficiência do desinfetante utilizado no *pré-dipping* pode ter sido responsável pelos índices de contaminação de algumas amostras de leite cru refrigerado antes da capacitação dos produtores com contagens de CT e CF superiores a NMP de 100/mL, as quais, segundo Reinemann et al. (2003), são indicativas de condições precárias de higiene na ordenha. Os dados obtidos neste estudo corroboram com os verificados por Fagan et al. (2008), que associaram as maiores contagens de CT e CF em leite cru refrigerado ao método de *pré-dipping* com uso de pano mergulhado em solução diaminopropil laurilamina a 30%, considerado pelos autores, menos eficiente em comparação a outros métodos.

A presença de SA no leite cru observada em nosso estudo foi de 5 amostras (25%) antes e 20 (50%) após a capacitação dos produtores. Embora o aumento no quantitativo de amostras positivas para SA verificado após a capacitação dos produtores não ser estatisticamente significativo ($p > 0,05$), pode estar ligado à sanidade da glândula mamária,

uma vez que SA é um dos principais agentes causadores da mastite bovina. De acordo com Correa, Ribas e Madrona (2009), este grupo microbiano é provavelmente carregado para o leite a partir das infecções da glândula mamária, conhecida como mastite. Para Riekerink et al. (2010), o isolamento de *S. aureus* de leite de tanques é um provável indicativo de prevalência de infecções intramamárias no rebanho leiteiro.

A elevada ocorrência de patógenos contagiosos, como o *S. aureus* se deve a deficiências nas práticas de manejo, higiene e terapêutica, e em especial, a desinfecção pós ordenha dos tetos (MARTINS et al., 2010). Os *Staphylococcus* spp. são os agentes mais frequentemente isolados em rebanhos leiteiros, representando grande importância epidemiológica e clínica nas mastites bovinas associadas a falhas no manejo na ordenha, bem como, na prevenção e diagnóstico da mastite contagiosa dos rebanhos, uma vez que a transmissão dos agentes causadores ocorre predominantemente durante a ordenha, já que o reservatório de microrganismos desse gênero é a glândula mamária (ANDRADE; HARTMANN; MASSON, 2009). Segundo Santana (2006), os *Staphylococcus* sp., na maioria das vezes, atingem a glândula mamária através da superfície de tetos higienizados inadequadamente, equipamentos e utensílios de ordenha contaminados e mãos dos ordenhadores (SANTANA, 2006).

Vários autores verificaram a alta frequência de *S. aureus* (variando entre 19,5% à 71%) em amostras de leite proveniente de rebanhos leiteiros em diversas regiões brasileiras (ANDRADE; HARTMANN; MASSON, 2009; ARCURI et al., 2006; RIEKERINK et al., 2010; STAMFORD et al., 2006; MARTINS et al., 2010), demonstrando que este agente é um dos principais causadores de mastite em rebanhos leiteiros.

Algumas práticas são recomendadas por Fagundes e Oliveira (2004), a fim de controlar a contaminação do leite por *S. aureus*, como: realização de testes periódicos para diagnóstico individual de casos de mastite clínica nas vacas leiteiras, colheita de amostras e identificação laboratorial dos agentes infecciosos envolvidos nos casos de mastite, descarte do leite de vacas acometidas com infecções causadas por bactérias do gênero *Staphylococcus*, bem como por outros agentes infecciosos, tratamento adequado dos quartos afetados com antimicrobianos, limpeza e desinfecção criteriosa do úbere dos animais antes e depois da ordenha, provisão suficiente de água potável para os diversos processos de obtenção de leite e manutenção da higiene geral do estábulo leiteiro, incluindo limpeza e desinfecção das instalações de ordenha, ordenhadeiras e utensílios.

O controle de *S. aureus* pode ser realizado através do uso de desinfetantes, pois em estudo um realizado por Medeiros et al. (2009), o iodo foi o desinfetante mais eficiente *in vitro* frente à SA e *S. aureus* isolados na Região Metropolitana do Recife. Também para Elmoslemany et al. (2010), o *pré-dipping* com imersão dos tetos em solução desinfetante com secagem utilizando toalhas descartáveis foi a prática associada à menor contagem bacteriana em comparação a outros métodos.

Santos e Fonseca (2003a), indicam o uso de *pós-dipping* e tratamento da vaca seca como medida de controle de SA em leite cru refrigerado. A terapia de tratamento da vaca com antimicrobianos adequados no período seco está associada à menor incidência de infecções intramamárias causadas por *S. aureus* (RIEKERINK et al., 2010).

Embora os procedimentos de Boas Práticas de manipulação adotados pelos produtores tenham sido eficientes para obtenção imediata de leite com baixa contaminação mesófila e fecal, SA não seguiram a mesma tendência, não sendo esses esforços tão efetivos para a eliminação desse microrganismo. Tais dados podem estar associados ao fato de que as taxas de mastite vão diminuindo ao longo do tempo, após a cura dos casos existentes e prevenção de novos casos. Segundo Guimarrães (2008), o controle da mastite gera resultados em longo prazo, com o uso de tratamento adequado com antibiótico na terapia da vaca seca e implantação do programa de seleção de animais para descarte. A maior dificuldade observada nos procedimentos de controle da mastite nas propriedades foi à adoção do sistema de ordenha por lotes e o descarte de animais portadores de mastite recorrente, que não respondem ao tratamento por antibióticos. De acordo com Ceotto et al. (2009), muitas drogas têm sido utilizadas para o tratamento de mastites causadas por *S. aureus* (penicilinas, macrolídeos, lincosaminas e cefalosporinas), porém alguns fatores, incluindo a habilidade dessa bactéria sobreviver no interior de neutrófilos, induzir a formação de microabscessos e a resistência aos antimicrobianos utilizados no tratamento resulta em infecções de difícil tratamento terapêutico. Os animais portadores da infecção permanecem no rebanho, podendo contribuir para a contaminação de novos animais, no caso na mastite contagiosa, além de aumentar a contaminação do leite (GUIMARRÃES, 2008), corroborando com nossos resultados. Assim, esses dados apontam a necessidade da revisão do processo adotado nas propriedades, com a implantação imediata de programas de controle de mastite que incluam sistema de ordenha por lotes, descarte de animais portadores de mastite recorrente e avaliação da suscetibilidade antimicrobiana *in vitro* dos principais agentes causadores de

mastite no rebanho a fim de auxiliar na escolha de antimicrobianos eficientes na terapia da vaca seca.

Apesar do aumento no quantitativo de amostras positivas, as contagens médias obtidas antes e após a capacitação dos produtores diminuíram (3,04 Log UFC/ml e 2,37 Log UFC/mL, respectivamente) (Tabela 4). Todas as amostras que apresentaram crescimento de SA (42%) indicaram contagens abaixo de 3,52 Log UFC/mL (Figura 3).

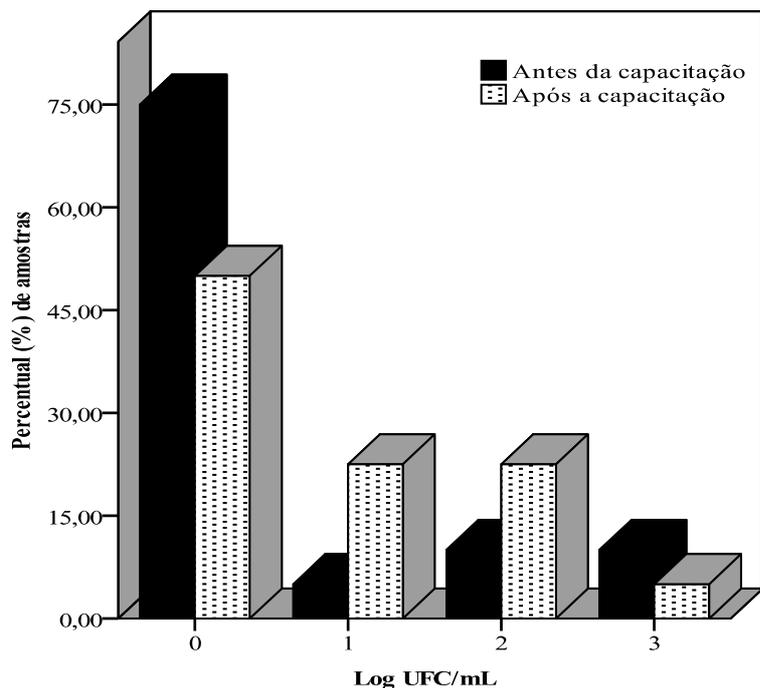


Figura 3. Frequência de *Staphylococcus coagulase positiva* (SA) em leite cru refrigerado antes e após a Capacitação dos Produtores.

Diferindo dos resultados encontrados neste estudo, alguns autores verificaram a contaminação por SA em leite cru refrigerado com contagens superiores a 10^5 UFC/mL (SANTANA, 2006; CORREA et al., 2009; MATTOS et al., 2010; TEBALDI et al., 2008). Já Guido et al. (2010), encontraram contagens menores para contaminação por SA em amostras de leite, de até $6,5 \times 10^3$ UFC/mL.

É necessário ressaltar que para a ocorrência de intoxicação estafilocócica são necessárias contagens de SA no leite superiores a 10^5 UFC/mL. Assim, pode-se concluir que as amostras de leite analisadas não apresentaram riscos para uma possível intoxicação estafilocócica até o momento da coleta. No entanto, segundo Nader Filho et al. (2007), apesar da simples presença das cepas de *S. aureus* enterotoxigênicas não implicar necessariamente na

ocorrência de casos de intoxicações, sabe-se que o leite constitui um excelente substrato para a proliferação desses microrganismos e que a temperatura da glândula mamária é ideal para a produção de enterotoxinas em concentrações suficientes para causar a intoxicação. Além disso, o uso do leite cru como matéria-prima para produção de derivados pode apresentar risco potencial de intoxicação em etapas posteriores a coleta, caso o leite seja submetido a condições de armazenamento em temperaturas inadequadas e propícias à multiplicação dos SA com conseqüente produção de enterotoxinas.

6 CONCLUSÃO

A partir dos resultados encontrados nesse estudo foi possível concluir que treinamentos incluindo Boas Práticas de fabricação (propostas neste estudo) foram eficazes e contribuíram para melhorar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado com resultados imediatos na redução nos níveis de contaminação por MA, CT e CF. Os resultados obtidos confirmam que para o atendimento dos parâmetros definitivos da IN51 para contaminação microbiológica por MA, não são necessários grandes investimentos econômicos, já que as Boas Práticas de fabricação são de fácil aplicação exigindo apenas o empenho e conscientização dos produtores para sua implantação. No entanto, além dos procedimentos adotados, o controle e prevenção da mastite poderiam contribuir para evitar a contaminação por SA, pois esse é um dos principais agentes causadores dessa infecção e consequentemente pode alterar a qualidade microbiológica do leite. Os resultados encontrados indicam que a legislação brasileira deveria ser reformulada considerando outras características microbiológicas no leite cru, como a presença de patógenos como SA, a fim de garantir padrões de qualidade mais seguros.

Salientamos que o acompanhamento de um profissional durante a implementação de programas de Boas Práticas nas propriedades leiteiras torna-se imprescindível para garantir a eficácia destes treinamentos. Somente com o acompanhamento profissional (diretamente nas propriedades) os produtores terão condições para atender aos parâmetros definitivos da IN 51, e assim, manterem-se na atividade leiteira, garantir a geração de renda e satisfazer os requisitos de um mercado consumidor exigente em relação à qualidade dos produtos oferecidos.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. O. de. **Controle rápido da eficiência e segurança do processo de pasteurização do leite (HTST- High Temperature Short Time)**. Jaboticabal, 2006. 113 f. Dissertação (Mestrado em Veterinária)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- AMARAL, L. A. et al. Ocorrência de *Staphylococcus* sp. em água utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.55; n.5; p. 620-623, 2003.
- ANDRADE, U. V. C.; HARTMANN, W.; MASSON, M. L. Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite. **ARS Veterinária**. v. 25; n. 3; p. 129- 135, 2009.
- ARCURI, E.F. et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.58; n.3; p. 440-446, 2006.
- ASSIS, V. S.; FARIA, G. G.; RODRIGUES, F. C. Qualidade do leite bovino e efeitos de seu consumo sobre a saúde. **Higiene Alimentar**. n. 21; pag. 47-48, 2007.
- BECKER, T. A. et al. Avaliação da qualidade sanitária do leite integral informal, pasteurizado, UHT e em pó comercializados na cidade de Medianeira e Serranópolis do Iguçu- Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 31; n.3; p.707- 716, 2010.
- BHUTTO, A.L.; MURRAY, R.D.; WOLDEHIWET, Z. California Mastitis Test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. **Research in Veterinary Science**. p.1-5, 2010.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n. 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e Oficializa o Regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 13-22, 20 set. 2002b. Seção I
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa n. 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, p. 14, 18 set. 2003. Seção I
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n. 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 59; p. 266-270, 26 mar. 2004. Seção I
- CAVALCANTI, E. R. C. **Construção do conhecimento sobre o potencial de contaminação em ordenhadeira mecânica após higienização**. Seropédica/ RJ, 2005. 67f. Dissertação

(Mestrado em Educação Profissional Agrícola) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

CEOTTO, H. et al. Bacteriocin production by *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis in Brazil. **Research in Microbiology**. v.160; p.595-599, 2009.

CITADIN, A. S. et al. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Revista Brasileira de Saúde Pública**. v. 10; n.1; p. 52-59, 2009.

COELHO, M.L.V, et al. Activity of staphylococcal bacteriocins against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* involved in bovine mastitis. **Research in Microbiology**. v.158; p.625-630, 2007.

CORREA, C. P.A; RIBAS M. M. F.; MADRONA G. S. Avaliação das condições higiênico sanitárias do leite cru em pequenas propriedades do município de Bom Sucesso- PR. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**. v. 03, n 02, p. 21-28, 2009.

COSTA, F. F. da. **Interferência das práticas de manejo na qualidade microbiológica do leite produzido em propriedades rurais familiares**. Jaboticabal, 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

DUFOUR, S. et al. Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. **Journal Dairy Science**. v. 94; n.2; p. 563-579, 2011.

ELMOSLEMANY, A.M. et al. The association between bulk tank milk analysis for raw milk quality and on- farm management practices. **Preventive Veterinary Medicine**. v.95; p. 32-40, 2010.

FAGAN, E. P. **Fatores Ambientais e de manejo sobre a composição química, microbiológica e toxicológica do leite produzido em duas granjas produtoras de leite tipo “A” no Estado do Paraná**. Maringá, 2006. 117 f. Tese (Doutorado em Zootecnia)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá.

FAGAN, E. P. et al. Avaliação de padrões físico- químicos e microbiológicos do leite em diferentes fases de lactação nas estações do no em granjas leiteiras no Estado do Paraná. **Ciências Agrárias**. v. 29; n.3; p. 651-660, 2008.

FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções Intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Ciência Rural**. v. 34; n.4; p.1315-1320, 2004.

FERNANDES, D. et al. Perfil dos pequenos produtores de leite quanto ao uso adequado de práticas de higiene da ordenha e manipulação do produto no Município de Belém do Brejo do Cruz- PB. **Agropecuária Científica no Semi- Árido**. v. 4; p. 55-61, 2008.

FOLMER, D. M.; SOUTO, L. I. Avaliação das condições de Boas Práticas na coleta e transporte de leite cru a granel. **Veterinária e Zootecnia**. v. 17; n.; p. 386-393, 2010.

GUERREIRO, P. K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciências agrotécnicas**. v.29, n.1, p. 216-222, 2005.

GUIDO, E. S. et al. Uma abordagem da extensão universitária na melhoria da qualidade do leite na cadeia produtiva do município de Barbosa Ferraz (Paraná). **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. v. 28; n.2; p. 303-312, 2010.

GUIMARRÃES, C. P. do A. **Impacto da Assistência técnica sobre a qualidade do leite**. Goiânia, 2008. 82 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás.

GONZALEZ, H. de. L. et al. Avaliação da qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos meses do ano. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 33; n. 6; p. 1531- 1543, 2004.

ISA, L. T. et al. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 24; n. 4; p. 173- 177, 2004.

JAY, J. N. **Microbiologia de alimentos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 6ª edição. 711 p.

LACERDA, L. M.; MOTA, R. A.; SENA, M. J. de. Contagem de células somáticas, composição e contagem bacteriana total do leite de propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú- Mirim e Santa Rita, Maranhão. **Arquivos do Instituto de Biologia**. v. 77; n.2; p. 209- 215, 2010.

LAMAITA, H. C. et al. Contagens de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 57; n.5; p.702-709, 2005.

LOPES JÚNIOR, J. F. F. **Características de propriedades leiteiras no Noroeste do Estado do Paraná influenciando nos indicadores de qualidade do leite**. Maringá, 2010. 79 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia)- Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Maringá.

MARTINS, M. L. et al. Genetic diversity of gram- negative, proteolytic, psychrotrophic bacteria isolated from refrigerated raw milk. **International Journal of Food Microbiology**. v.111; p.144-148, 2006.

MARTINS, R. P. et al. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciência Animal**. v.11; n.1; p. 181- 187, 2010.

MATTOS, M. R. de. et al. Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**. v.31; n.1; p. 173-182, 2010.

MEDEIROS, E. S. de. et al. Avaliação *in vitro* da eficácia de desinfetantes comerciais utilizados no pré e *pos-dipping* frente amostras de *Staphylococcus* spp. isoladas de mastite bovina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.29; n. 1; p.71- 75, 2009.

MELO, B. A. de. Aspectos microbiológicos de amostras de leite cru coletadas no município de Major Isidoro- Alagoas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**. v.5; n.5; p.01-05, 2010.

MILLOGO, V. et al. Raw Milk hygiene at farms, processing units and local markets in Burkina Faso. **Food Control**. v.21; p. 1070-1074, 2010.

MORAES, C. da R. **Qualidade bacteriológica de leite bovino de mistura, in natura e beneficiado, e detecção sorológica de brucelose em rebanhos da região metropolitana de Porto Alegre- RS**. Porto Alegre, 2005. 86f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente)- Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

MORAES, C. da R. et al. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.33, n.3, p. 259- 264, 2005.

NADER FILHO, A. et al. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas na mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.59; n.5; p. 1316-1318, 2007.

NOAL, R. M. C. **Ações de melhoria contínua para incrementar a qualidade e produtividade na cadeia do leite**. Santa Maria, 2006. 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia da Produção)- Programa de Pós-graduação em Engenharia da Produção, Universidade Federal de Santa Maria.

NOMBERG M.F.B.L.; TONDO E.C.; BRANDELLI A. Bactérias psicotróficas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.37 p. 157-163, 2009.

PEREIRA, E. M. et al. Caracterização do sistema de produção de leite do município de Paulista- PB. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**. v.6; n.2; p.31-46, 2010.

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

REINEMANN, D. J. et al. Review of practices for cleaning and sanitation of milking machines. **Bulletin of the International Dairy Federation**. n. 381; p.4-18, 2003.

RIEKERINK, R. G. M. O. et al. Management practices associated with the bulk-milk prevalence of *Staphylococcus aureus* in Canadian dairy farms. **Preventive Veterinary Medicine**. v. 97; p.20-28, 2010.

RIVAS, P. 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**. v.38; n.1; p. 51- 57, 2010.

SANTANA, E. H. W. de. **Determinação do perigo de consumo do leite cru relacionado à intoxicação estafilocócica**. Londrina, 2006. 74 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal)- Universidade Estadual de Londrina.

- SANTANA, E. H. W. de. et al. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: I. Microrganismos aeróbios mesófilos e psicotróficos. **Semina: Ciências Agrárias**. v.22; n.2; p. 145-154, 2001.
- SANTOS, C. A. dos. et al. Boas Práticas Pecuárias adotadas em sistema de produção de leite por agricultores familiares de Icarai de Minas- Norte de Minas Gerais. **Associação Brasileira de Zootecnistas- UFPB**. p. 1-4, 2008.
- SANTOS, M. V. Boas Práticas de Produção associadas à higiene de ordenha e qualidade do leite. In: **O Brasil e a nova era do mercado do leite- Compreender para competir**. Piracicaba- SP: Agripoint Ltda, 2007, 1ª edição; v.1; p.135-154.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. da. **Qualidade microbiológica do leite: métodos de análise e estratégias de controle**. Curso Online sobre Monitoramento da Qualidade do Leite, Módulo 2, 2003a.
- SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. da. **Limpeza e Desinfecção de Equipamentos de Ordenha e Tanques Resfriadores**. Curso Online sobre Monitoramento da Qualidade do Leite, Módulo 6, 2003b.
- SILVA, M. R. da. et al. Avaliação higiênico-sanitária do leite produzido em Umuarama (Paraná). **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. v. 28; n.2; p. 271-280, 2010.
- SILVA, M. V. M; NOGUEIRA, J. L. Mastite: Controle e Profilaxia no Rebanho Bovino. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. v. 08, n. 15; p.1-13, 2010.
- SILVA, N. da. **Manual de métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**. São Paulo: Ed. Varela. 1997, 295 p.
- SOUTO, L.I.M et al. Relationship between occurrence of mastitis pathogens in dairy cattle herds and raw- milk indicators of hygienic-sanitary quality. **Journal of Dairy Research**. v. 75; p. 121-127, 2008.
- SOUTO, L.I.M et al. Qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em propriedades do Estado de São Paulo, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**. v.16; n.3; p.491-499, 2009a.
- SOUTO, L.I.M et al. Correlation between mastitis occurrence and the count of microorganisms in bulk raw milk of bovine dairy herds in four selective culture media. **Journal of Dairy Research**. v.77; p. 63-70, 2009b.
- SOUZA, D. P. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite utilizado no restaurante escola da Universidade Federal de Pelotas. **Publicação científica do Hospital das Clínicas de Porto Alegre e Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. v.30; n.01; p.27-30, 2010.

SPEXOTO, A.A.; OLIVEIRA, C.A.F.; OLIVAL, A. de. A. Aplicação do sistema de análises de perigos e pontos críticos de controle em propriedade leiteira tipo A. **Ciência Rural**. v.35; n.6; p. 1424-1430, 2005.

STAMFORD, T. L. M. et al. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus spp.* isolados de leite *in natura*. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**. v. 26; n.1; p. 41-45, 2006.

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 dos Alimentos**. v. 28; n.3; p. 735-760, 2008.

VALLIN, M. V. et al. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios de região central do Paraná. **Ciências Agrárias**. v. 30; n. 1; p. 181-188, 2009.

VERDIER-METZ, I. et al. Do milking practices influence the bacterial diversity of raw milk? **Food Microbiology**. v.26; p.305-310, 2009.

WINCK, C. A. et al. Padrões de qualidade do leite cru no Brasil: Inserção mercadológica internacional ou exclusão social. In: VIII CONGRESSO LATINOAMERICANO DE SOCIOLOGIA RURAL, 2010, Porto de Galinhas, **Anais**. Porto de Galinhas: p. 1-18.

YAMAZI, A. K. et al. Práticas de produção aplicadas no controle de contaminação microbiana na produção de leite cru. **Biosciência**. v. 26; n. 4; p. 610- 618, 2010.

ZANELA, M. B. et al. Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.41; n.1; p. 153- 159, 2006.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Questionário para avaliação do perfil da propriedade

1- PERFIL DA PROPRIEDADE

PROPRIEDADE:	
N. ANIMAIS EM LACTAÇÃO:	
FUNCIONÁRIOS NA ORDENHA:	PRODUÇÃO DE LEITE/DIA:
TIPO DE ESTÁBULO:.....	
FREQUENCIA DE COLETA DO LEITE: () DIÁRIA- A CADA 24 HS () A CADA 48 HS	
HORÁRIO DA COLETA:	

2- EQUIPAMENTOS

TIPO DE ORDENHA: () CANALIZADA (DIRETO AO TANQUE) () MÓVEL- LATÕES (TRANF. MANUAL AO TANQUE)	
N. DE CONJUNTO DE ORDENHA:	N. DE ORDENHAS/ DIA:
CONJUNTO DE ORDENHA	
COLETOR – ESTADO:.....	MANGUEIRAS: ESTADO:.....
TETEIRAS - ESTADO:.....	FREQUENCIA DE TROCA:.....
FREQUENCIA DE TROCA:.....	
TANQUE DE RESFRIAMENTO- CAPACIDADE:	ESTADO:
OBSERVAÇÕES:.....	
.....	
.....	

3- MANEJO DA ORDENHA

1. COMO É FEITA A HIGIENIZAÇÃO DOS TETOS?.....
.....
.....
.....
.....
2. PRÉ-DIPPING: () NÃO () SIM
PRODUTO:.....
COMPOSIÇÃO:.....
CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PELO FABRICANTE:.....
CONCENTRAÇÃO EFETIVAMENTE UTILIZADA:.....
DESCREVER O MÉTODO UTILIZADO:.....
.....
.....
2.1 USO DE TOALHAS (PAPEL/PANO) PARA SECAGEM DOS TETOS:.....
.....
3. PÓS-DIPPING: () NÃO () SIM
PRODUTO:.....
COMPOSIÇÃO:.....
CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PELO FABRICANTE:.....
CONCENTRAÇÃO EFETIVAMENTE UTILIZADA:.....
DESCREVER O MÉTODO UTILIZADO:.....
.....
.....
4. TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO DO LEITE:.....
TEMPO NECESSARIO PARA ATINGIR A TEMPERATURA:.....
OBSERVAÇÕES:.....
.....
.....
.....
.....

4 - LIMPEZA DO EQUIPAMENTO DE ORDENHA

1.QUAL A FREQUENCIA DE HIGIENIZAÇÃO DOS UTENSÍLIOS:.....
2. QUAL A FORMA DE HIGIENIZAÇÃO:.....
2.1 PRODUTOS/DESINFETANTES UTILIZADOS:.....
2.2 COMPOSIÇÃO DOS PRODUTOS:.....
2.3 CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PELO FABRICANTE:.....
2.4 CONCENTRAÇÃO UTILIZADA:.....
2.5 VOLUME DE ÁGUA (LITROS):.....
2.6 TEMPERATURA DA ÁGUA:.....
2.7 TEMPO DE CIRCULAÇÃO:.....
3. HÁ RODÍZIO DOS DESINFETANTES UTILIZADOS NA HIGIENIZAÇÃO: () NÃO () SIM- FREQUENCIA:.....
1. HÁ CONTROLE DA HIGIENIZAÇÃO: () NÃO () SIM - MÉTODO:.....
5. OCORRE TROCA DO FILTRO DE LEITE: () NÃO () SIM FREQUENCIA:.....
5.1 COMO É FEITA A HIGIENIZAÇÃO E SANITIZAÇÃO DO FILTRO:.....
OBSERVAÇÕES:.....

5- AVALIAÇÃO DA LIMPEZA DO TANQUE DE RESFRIAMENTO

1.QUAL A FORMA DE HIGIENIZAÇÃO:.....
1.1 PRODUTOS/DESINFETANTES UTILIZADOS:.....
1.2 COMPOSIÇÃO DOS PRODUTOS:.....
1.3 CONCENTRAÇÃO RECOMENDADA PELO FABRICANTE:.....
1.4 CONCENTRAÇÃO UTILIZADA:.....
1.5 TEMPERATURA DA ÁGUA:.....

5- CONTROLE DA MASTITE

1. COMO FAZ O CONTROLE DA MASTITE BOVINA:.....
2. QUAL TRATAMENTO REALIZA:..... COMO APLICA:..... FREQUENCIA DA APLICAÇÃO DO TRATAMENTO:..... FORMA DE ESCOLHA DO PRODUTO:.....
3. TEM REGISTRO DOS CASOS NOVOS E REINCIDENTES? () SIM () NÃO
OBSERVAÇÕES:.....

6- CONTROLE DA QUALIDADE DA ÁGUA

ORIGEM DA ÁGUA: () POÇO () FONTE DE ÁGUA () OUTROS:	
FAZ ANÁLISE PERIÓDICA PARA VERIFICAÇÃO DA QUALIDADE DA ÁGUA?	() NÃO
	() SIM FREQUENCIA:.....
FAZ TRATAMENTO DA AGUA:	
FAZ LIMPEZA PERIODICA DO RESERVATORIO DE ÁGUA? ()SIM	FREQUENCIA:.....
	() NÃO
OBSERVAÇÕES:.....	

Fonte: O autor, 2011.

APÊNDICE B: Lista de não conformidades identificadas e medidas corretivas sugeridas

NÃO CONFORMIDADES VERIFICADAS NA PROPRIEDADE/ SUGESTÃO PARA CORREÇÃO

Propriedade: A

NÃO CONFORMIDADE		SUGESTÃO PARA CORREÇÃO	IMPLANTAÇÃO A PARTIR DE:	FREQUENCIA DE EXECUÇÃO
Nº	PARÂMETRO/DESCRIÇÃO			
01	Sanitização dos equipamentos	Aplicação de solução sanitizante nos equipamentos e tanque de resfriamento de leite antes do início da ordenha	Fevereiro/2011	Diária
02	Volume de água nas soluções	Usar medidas exatas, seguindo a recomendação de dez litros de água por conjunto de ordenha nos processos de enxágüe e no preparo das soluções detergentes e sanitizantes.	Fevereiro/2011	Diária
03	Temperatura das soluções de higienização e sanitização	Utilizar água a temperatura de 38 a 53°C para os procedimentos de enxágüe dos equipamentos, 70 a 75°C para a solução de detergente alcalino, 40 a 45 para a solução de detergente ácido e 5 a 25°C para a solução sanitizante.	Fevereiro/2011	Diária
04	Tempo de circulação das soluções	Aplicar as soluções detergentes/sanitizantes respeitando o tempo de circulação recomendado pelo fabricante, sendo de 10 a 15 minutos para os detergentes alcalino clorado e ácido.	Fevereiro/2011	Diária
05	Dosagens utilizadas nas soluções detergentes e sanitizantes	Utilizar medidas exatas para os detergentes e sanitizantes, conforme recomendação do fabricante e auxílio de medidor adequado.	Fevereiro/2011	Diária
06.	Enxágüe dos equipamentos de Ordenha	Após a utilização das soluções detergentes enxaguar os equipamentos, a fim de retirar possíveis resíduos que possam afetar outras etapas da higienização.	Fevereiro/2011	Diária
07	Monitoramento da adição de Detergente e Sanitizantes nas Soluções de Higienização.	Monitorar semanalmente as variáveis de tempo de circulação, temperatura e volume das soluções detergentes/sanitizantes, bem como o pH das soluções detergentes (detergente alcalino pH >11 e detergente ácido pH 5), através da verificação e preenchimento semanal da planilha de controle.	Fevereiro/2011	Semanal
08	Higienização e Sanitização do tanque de resfriamento de leite	Realizar a higienização do tanque de resfriamento manualmente com auxílio de esponjas apropriadas, imediatamente após a coleta do leite. Deve-se utilizar detergente alcalino clorado diariamente e detergente ácido três vezes por semana, respeitando as dosagens recomendadas pelo fabricante. Efetuar a sanitização do tanque 30 minutos antes do início da ordenha com sanitizante adequado. Desmontar a válvula de descarga do tanque para a higienização no mínimo uma vez por semana.	Fevereiro/2011	Diária

09	Drenagem da água residual	Remover totalmente a água residual dos equipamentos de ordenha e tanque de resfriamento	Fevereiro/2011	Diária
10	Filtros de Leite	Substituir o filtro de leite diariamente.	Fevereiro/2011	Diária
11	Pré dipping	Fazer a aplicação do pré- dipping e aguardar 30 segundos para a ação do desinfetante, e em seguida realizar a secagem dos tetos com papel toalha descartável.	Fevereiro/2011	Diária
12	Primeiros 3-4 jatos de leite	Realizar o teste da caneca de fundo preto, desprezando os 3 -4 primeiros jatos de leite	Fevereiro/2011	Diária
13	Teste CMT	Realizar o Teste CMT a cada 15 dias, e preencher a panilha para monitoramento de casos de mastite.	Fevereiro/2011	A cada 15 dias
14	Sistema de ordenha por lotes	Adotar um sistema de ordenha por lotes, ordenhando primeiramente os animais saudáveis, seguindo pelos que já apresentaram casos de mastite e, por último, os animais com mastite clínica ou subclínica.	Fevereiro/2011	Diária
15	Qualidade da água	Realizar a limpeza semestral do reservatório de armazenamento de água.	Janeiro/2011	Semestral
16	Resfriamento do leite	Fazer a regulagem do tanque de resfriamento de leite e monitorar a temperatura após três horas do término da ordenha (deve ser igual ou abaixo de 4°C), preenchendo a planilha de controle.	Fevereiro/2011	Semanal

Fonte: O autor, 2011.

NÃO CONFORMIDADES VERIFICADAS NA PROPRIEDADE/ SUGESTÃO PARA CORREÇÃO

Propriedade: B

NÃO CONFORMIDADE		SUGESTÃO PARA CORREÇÃO	IMPLANTAÇÃO A PARTIR DE:	FREQUENCIA DE EXECUÇÃO
Nº	PARÂMETRO/DESCRIÇÃO			
01	Sanitização dos equipamentos	Aplicação de solução sanitizante nos equipamentos e tanque de resfriamento de leite antes do início da ordenha	Fevereiro/2011	Diária
02	Volume de água nas soluções	Usar medidas exatas, seguindo a recomendação de dez litros de água por conjunto de ordenha nos processos de enxágüe e no preparo das soluções detergentes e sanitizantes.	Fevereiro/2011	Diária
03	Temperatura das soluções de higienização e sanitização	Utilizar água a temperatura de 38 a 53°C para os procedimentos de enxágüe dos equipamentos, 70 a 75°C para a solução de detergente alcalino, 40 a 45 para a solução de detergente ácido e 5 a 25°C para a solução sanitizante.	Fevereiro/2011	Diária
04	Tempo de circulação das soluções	Aplicar as soluções detergentes/sanitizantes respeitando o tempo de circulação recomendado pelo fabricante, sendo de 10 a 15 minutos para os detergentes alcalino clorado e ácido.	Fevereiro/2011	Diária
05	Dosagens utilizadas nas soluções detergentes e sanitizantes	Utilizar medidas exatas para os detergentes e sanitizantes, conforme recomendação do fabricante e auxílio de medidor adequado.	Fevereiro/2011	Diária
06	Monitoramento da adição de Detergente e Sanitizantes nas Soluções de Higienização.	Monitorar semanalmente as variáveis de tempo de circulação, temperatura e volume das soluções detergentes/sanitizantes, bem como o pH das soluções detergentes (detergente alcalino pH >11 e detergente ácido pH 5), através da verificação e preenchimento semanal da planilha de controle.	Fevereiro/2011	Semanal
07	Higienização e Sanitização do tanque de resfriamento de leite	Utilizar detergente alcalino clorado diariamente para a higienização do tanque de resfriamento de leite e detergente ácido três vezes por semana, respeitando as dosagens recomendadas pelo fabricante. Efetuar a sanitização do tanque 30 minutos antes do início da ordenha com sanitizante adequado. Desmontar a válvula de descarga do tanque para a higienização no mínimo uma vez por semana.	Fevereiro/2011	Diária
08	Drenagem da água residual	Remover totalmente a água residual dos equipamentos de ordenha e tanque de resfriamento	Fevereiro/2011	Diária
09	Filtros de Leite	Substituir o filtro de leite diariamente.	Fevereiro/2011	Diária
10	Pré dipping	Fazer a aplicação do pré- dipping e aguardar 30 segundos para a ação do desinfetante, e em seguida realizar a secagem dos tetos com papel toalha descartável.	Fevereiro/2011	Diária

11	Primeiros 3-4 jatos de leite	Realizar o teste da caneca de fundo preto, desprezando os 3 -4 primeiros jatos de leite	Fevereiro/2011	Diária
12	Teste CMT	Realizar o Teste CMT a cada 15 dias, e preencher a planilha para monitoramento de casos de mastite.	Fevereiro/2011	A cada 15 dias
13	Sistema de ordenha por lotes	Adotar um sistema de ordenha por lotes, ordenhando primeiramente os animais saudáveis, seguindo pelos que já apresentaram casos de mastite e, por último, os animais com mastite clínica ou subclínica.	Fevereiro/2011	Diária
14	Qualidade da água	Realizar a limpeza semestral do reservatório de armazenamento de água	Janeiro/2011	Semestral
15	Resfriamento do leite	Monitorar a temperatura de resfriamento do leite após três horas do término da ordenha (deve ser de 4°C), preenchendo a planilha de controle.	Fevereiro/2011	Semanal

Fonte: O autor, 2011.

APÊNDICE C: Instalações nas propriedades



Propriedade A: Sala de ordenha com sistema automatizado de ordenha e de limpeza dos equipamentos.



Tanques de limpeza dos equipamentos e utensílios de ordenha.



Sistema de aquecimento de água utilizado na higienização dos equipamentos.



Copo medidor de desinfetantes/sanitizantes.



Termômetro medidor de temperatura das soluções de limpeza dos equipamentos



Propriedade B: Estábulo com ordenha mecânica em latões e sistema manual de limpeza dos equipamentos.



Aquecimento da água utilizada na limpeza dos equipamentos.



Depósito de latões de armazenamento de leite.



Tanque de limpeza dos utensílios

ANEXOS

ANEXO A: Planilha de monitoramento e verificação para controle da higienização dos equipamentos de ordenha

Propriedade A

Monitoramento da Adição de Detergentes e Sanitizantes nas Soluções de Limpeza

Data	Enxágue			Sanitizante			Detergente Alcalino clorado					Detergente Acido					Responsável		
	T° HFO		Volume HFO	Quant. ml	Volume HFO	Tempo-CIP	T° HFO		Quant. ml	pH solução	Volume HFO	Tempo-CIP	T° HFO		Quant. ml	pH solução		Volume HFO	Tempo-CIP
	Entrada	Saída					Entrada	Saída					Entrada	Saída					
23/02	23	36	40	120	40	—	68	40	200	—	40	10 min	33	33	200	—	40	10 min	
27/02	35	33	40	120	40	—	65	45	100	—	40	8 min	23	23	100	—	40	5 min	
01/03	31	36	40	120	40	—	68	46	100	11,5	40	8 min	20	20	100	2,8	40	5 min	
12/03	33	35	40	120	40	—	68	48	100	—	40	8 min	26	26	100	—	40	5 min	
24/03	32	34	40	120	40	—	67	45	100	—	40	8 min	23	23	100	—	40	5 min	
27/03	36	39	40	120	40	—	68	45	150	—	40	8 min	23	23	100	—	40	5 min	
02/04	32	35	40	120	40	—	68	36	100	—	40	8 min	24	26	100	—	40	5 min	

Propriedade B

Monitoramento da Adição de Detergentes e Sanitizantes nas Soluções de Limpeza

Data	Enxágue			Sanitizante			Detergente Alcalino clorado					Detergente Acido					Responsável		
	T° HFO		Volume HFO	Quant. ml	Volume HFO	Tempo-CIP	T° HFO		Quant. ml	pH solução	Volume HFO	Tempo-CIP	T° HFO		Quant. ml	pH solução		Volume HFO	Tempo-CIP
	Entrada	Saída					Entrada	Saída					Entrada	Saída					
19/02	22	—	20	10	20	—	74	—	50	12,26	20	—	22	—	50	4,8	20	—	
23/02	23	—	20	10	20	—	70	—	50	—	20	—	23	—	50	—	20	—	
04/03	21	—	20	10	20	—	75	—	50	—	20	—	21	—	50	—	20	—	
11/03	24	—	20	10	20	—	72	—	50	—	20	—	24	—	50	—	20	—	
18/03	24	—	20	10	20	—	71	—	50	—	20	—	24	—	50	—	20	—	
25/03	22	—	20	10	20	—	70	—	50	—	20	—	22	—	50	—	20	—	
29/03	21	—	20	10	20	—	69	—	50	—	20	—	21	—	50	—	20	—	
02/04	22	—	20	10	20	—	70	—	50	—	20	—	22	—	50	—	20	—	
09/04	19	—	20	10	20	—	67	—	50	—	20	—	18	—	50	—	20	—	
15/04	21	—	20	10	20	—	72	—	50	—	20	—	21	—	50	—	20	—	
25/04	23	—	20	10	20	—	75	—	50	—	20	—	23	—	50	—	20	—	
25/04	20	—	20	10	20	—	70	—	50	—	20	—	20	—	50	—	20	—	
04/05	18	—	20	10	20	—	68	—	50	—	20	—	18	—	50	—	20	—	
12/05	20	—	20	10	20	—	66	—	50	—	20	—	20	—	50	—	20	—	
19/05	18	—	20	10	20	—	72	—	50	—	20	—	18	—	50	—	20	—	

ANEXO B: Planilha de monitoramento e verificação para controle da temperatura de armazenamento do leite

Propriedade A

MONITORAMENTO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO DE LEITE NO TANQUE DE RESFRIAMENTO

DATA	TEMPERATURA APÓS TRES HORAS DO TÉRMINO DA ORDENHA (°C)	RESPONSÁVEL
20/02/11	5,00	[Assinatura]
27/02/11	4,8	[Assinatura]
07/03/11	-	[Assinatura]
12/03/11	5,2	[Assinatura]
20/03/11	5,2	[Assinatura]
27/03/11	5,2	[Assinatura]
03/04/11	3,1	[Assinatura]

Propriedade B

MONITORAMENTO DA TEMPERATURA DE ARMAZENAMENTO DE LEITE NO TANQUE DE RESFRIAMENTO

DATA	TEMPERATURA APÓS TRES HORAS DO TÉRMINO DA ORDENHA (°C)	RESPONSÁVEL
19/02	3,5	[Assinatura]
23/02	3,7	[Assinatura]
04/03	3,7	[Assinatura]
11/03	3,8	[Assinatura]
18/03	3,3	[Assinatura]
25/03	3,6	[Assinatura]
29/03	3,5	[Assinatura]
02/04	3,6	[Assinatura]
09/04	3,5	[Assinatura]
15/04	3,2	[Assinatura]
23/04	3,5	[Assinatura]
29/04	3,5	[Assinatura]
05/05	3,7	[Assinatura]
12/05	3,5	[Assinatura]
19/05	3,4	[Assinatura]

ANEXO C: Planilha de controle de Teste CMT para monitoramento da mastite bovina

Propriedade A

Data: 20/03/2011

	ANIMAL	DF	DT	EF	ET
→	395766	01	1+	3+	1+
	029136	02	—	—	—
	853851	03	—	—	2+
→	029121	04	—	—	—
	029256	05	1+	1+	1+
	803899	06	—	—	—
	029251	07	—	—	—
	080515	08	—	—	—
	029241	09	—	—	1+
	561212	10	1+	1+	1+
	395772	11	1+	1+	1+
	029255	12	1+	1+	1+
	080617	13	—	—	—
	080516	14	—	—	—
→	395770	15	1+	1+	3+
→	089164	16	3+	2+	2+
	389904	17	—	—	—
→	561213	18	1+	2+	1+
	561195	19	—	—	—
→	029180	20	3+	—	3+
→	080518	21	2+	2+	2+
	886990	22	1+	—	1+
	947755	23	—	—	—
	029183	24	1+	1+	1+
	395765	25	1+	1+	1+
→	899930	26	3+	3+	2+
	029186	27	1+	1+	1+
	395764	28	—	—	—
	395768	29	—	—	—
	767219	30	—	1+	1+
	029122	31	—	—	—
	029129	32	1+	1+	1+
→	701282	33	2+	1+	1+
	395772	34	1+	1+	1+
	029258	35	—	—	—
	587119	36	—	—	—
	662298	37	1+	—	1+
	587123	38	—	—	—
	029249	39	—	—	—
		40			

DF: Teto direito da frente;
DT: Teto direito de traz;
EF: Teto esquerdo da frente;
ET: Teto esquerdo de traz

Propriedade B

Data: 18/03/2011

	ANIMAL	DF	DT	EF	ET
938	01	-	-	++	+
933	02	-	-	++	-
941	03	-	-	-	-
942	04	-	-	-	-
931	05	-	++	-	++
932	06	-	-	-	-
947	07	-	-	+	-
883	08	-	-	+	-
888	09	+	+	-	-
943	10	-	-	-	-
883	11	+	++	+	+++
949	12	-	-	-	-
	13				
	14				
	15				
	16				
	17				
	18				
	19				
	20				
	21				
	22				
	23				
	24				
	25				
	26				
	27				
	28				
	29				
	30				
	31				
	32				
	33				
	34				
	35				
	36				
	37				
	38				
	39				
	40				

DF: Teto direito da frente;
DT: Teto direito de traz;
EF: Teto esquerdo da frente;
ET: Teto esquerdo de traz