

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE *IN NATURA* DE FAZENDAS LEITEIRAS DA REGIÃO DO CAPARAÓ, ES

Enrico Mariano Fiorese Lacerda¹, Lívia Silveira Massini¹, Elias Correia Rossetto¹, Dirlei Donatele Molinari¹, Lorena Vidaurre Ribeiro², Mariana Drummond Costa Ignacchiti¹, Juliana Alves Resende¹

¹Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Alto Universitário, S/N - Guararema, Alegre-ES, 29500-000–, Brasil, marianoenrico91@gmail.com, liviamassini@hotmail.com, eliasrossetto@gmail.com, dirleidonatele@hotmail.com, mariana.ignacchiti@ufes.br, juliana.resende@ufes.br.

²Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – INCAPER, R. Deude Cade, 54 - Centro, Guaçuí - ES, 29560-000, lorenazoo@uol.com.br.

Resumo

O leite é um produto rico em compostos orgânicos e está sujeito a diversas fontes de contaminação durante as etapas de sua obtenção. A fim de garantir a obtenção do leite dentro dos parâmetros previstos por lei, este trabalho objetivou abordar as questões relacionadas às Boas Práticas de Produção em dez propriedades produtoras de leite na região do Caparaó-ES. A partir das amostras de leite obtidas do tanque de expansão, foram realizadas a Contagem Padrão em Placas (CPP) e Contagem Bacteriana Psicrotrófica (CBP), contagem de células somáticas (CCS) e detecção de resíduos de antimicrobianos. Das 10 propriedades, apenas 4 apresentaram valores de CCS iguais ou inferiores a 500.000 cs/mL e 5 apresentaram valores superiores à média de 300.000 UFC/mL estabelecida para CPP. Apenas uma propriedade apresentou CBP elevada. Foram encontrados resíduos de antimicrobianos no leite de 9 das 10 propriedades, a maior frequência observada foi para Quinolonas. Os resultados confirmaram a importância da aplicação das Boas Práticas de Produção para a redução dos quadros infecciosos e consequente redução na utilização de antimicrobianos.

Palavras-chave: Mastite. Boas Práticas de Produção. Antimicrobianos.

Área do Conhecimento: Ciências da saúde

Introdução

O leite é um alimento completo, fonte de nutrientes essenciais ao desenvolvimento e manutenção da saúde humana. Devido às suas propriedades nutricionais, fornece uma rica combinação de proteínas, ácidos graxos, carboidratos, vitaminas e minerais à dieta (Megid; Ribeiro; Paes, 2016). No entanto, durante o seu processo de obtenção e transporte, o leite está sujeito a contaminações de diversas naturezas, principalmente de origem microbiológica, e estas podem vir a comprometer a qualidade e a inocuidade do produto (Ströher; Santos; Salazar, 2023).

A contaminação microbiológica pode acarretar grandes perdas e prejuízos econômicos, além do risco à saúde do consumidor final devido à possibilidade da veiculação de bactérias patogênicas (Santos *et al.*, 2021). Para assegurar a qualidade do leite distribuído e comercializado, o Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) estabelece em sua Instrução Normativas IN nº 76 de 2018 os parâmetros para a Contagem Padrão em Placas (CPP) e Contagem de Células Somáticas (CCS), e define, na Instrução Normativas IN nº 77 as “Boas Práticas Agropecuárias” como um conjunto de atividades, procedimentos e ações adotadas na propriedade rural com a finalidade de obter leite de qualidade e seguro ao consumidor (Brasil, 2018a; Brasil, 2018b). As Boas Práticas Agropecuárias, que abrangem desde a organização da propriedade e gestão de insumos até a capacitação dos trabalhadores, são conhecidas como boas práticas aplicadas à pecuária de leite quando direcionadas à pecuária leiteira (FAO e IDF, 2013).

A CCS do leite é um parâmetro crucial para monitorar a existência de casos de mastite no rebanho e avaliar a qualidade do leite. Elevadas contagens de células somáticas podem indicar a presença de patógenos causadores de mastite na glândula mamária, indicando a ocorrência de falhas de manejo no processo de obtenção do leite (Oliveira; Gomes; Mendonça, 2023). A CPP é o método oficial estabelecido pelo MAPA, sendo considerada um método direto para avaliar a qualidade microbiológica do leite e um indicador de práticas higiênicas na produção. A higiene durante a ordenha, o manejo

sanitário dos animais e a qualidade da alimentação e da água são parâmetros importantes, visto que a elevação destes valores pode afetar diretamente a qualidade sensorial e tempo de prateleira do leite (Neder *et al*, 2023).

A contaminação microbiana resulta em problemas sanitários, com perdas econômicas para os produtores e custos para saúde pública. Pouco se sabe sobre o potencial do leite como reservatório de bactérias patogênicas para o consumidor no estado do Espírito Santo. Compreende-se assim, a necessidade de avaliar a qualidade microbiológica e higiênico-sanitária do leite *in natura* produzido e comercializado na região do Caparaó- ES. Para avaliar a qualidade do leite nessa região, foram empregadas as técnicas de Contagem Padrão em Placas (CPP), Contagem Bacteriana Psicrotrofica (CBP) e Contagem de Células Somáticas (CCS), além da detecção de resíduos de antimicrobianos.

Metodologia

Foram realizadas visitas em dez propriedades leiteiras localizadas na Região do Caparaó, Espírito Santo. Em cada uma das fazendas, coletaram-se duas amostras de leite diretamente dos tanques de expansão, que foram acondicionadas em recipientes térmicos e transportadas para o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade Federal do Espírito Santo. No laboratório, as amostras foram submetidas a análises.

Para a Contagem Padrão em Placa (CPP) e Contagem de Bactérias Psicrotóficas (CBP), as amostras foram avaliadas de acordo com a American Public Health Association (APHA, 2001). Assim, foram diluídas em série utilizando água peptonada estéril a 0,1%, com diluições variando de 10^{-1} a 10^{-4} , e plaqueadas em triplicata em meio de cultura Plate Count Agar (PCA). As placas para CPP foram incubadas a 36°C por 48 horas, enquanto as placas para CBP foram incubadas a 7°C por um período de 7 a 10 dias. Após a incubação, as colônias foram contadas e os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônia por mililitro (UFC/mL).

A contagem de células somáticas foi realizada utilizando o kit Somaticell CCS®, conforme as instruções do fabricante. Para esse ensaio, 2 mL do reagente Somaticell foram adicionados a um tubo graduado, seguido pela adição de 2 mL de leite homogeneizado, e a reação foi interpretada de acordo com o protocolo estabelecido.

A detecção de resíduos de antimicrobianos no leite foi investigada utilizando o BTQS Sensor Teste Kit, que identifica resíduos de beta-lactâmicos, tetraciclina, sulfonamidas e quinolonas simultaneamente. Para este teste, 200 µL da amostra de leite foram diluídos em um mini tubo contendo o reagente fixado, e os resultados foram interpretados conforme as orientações do fabricante.

A composição do leite foi analisada por espectroscopia de infravermelho utilizando o analisador de leite Master Mini, que mede a quantidade de luz infravermelha absorvida e refletida pelos componentes químicos do leite em diferentes comprimentos de onda, permitindo a determinação de múltiplos componentes em uma única amostra (Lobato, 2018).

Resultados

Os resultados obtidos a partir das análises realizadas foram apresentados na Tabela 1 e Figura a seguir.

A Tabela 1 apresenta os componentes do leite obtidos em dez fazendas produtoras de leite na região do Caparaó-ES. Os componentes analisados incluem a porcentagem de gordura (G), sólidos desengordurados (S), sólidos totais (ST), proteína (P), lactose anidra (L), sais minerais (S1), densidade (D), ponto de congelamento (PC) e a presença de água adicionada (Ag.). Esses parâmetros são essenciais para avaliar a qualidade do leite produzido nas diferentes fazendas.

A Figura 1 apresenta a contagem de células somáticas (CCS) mensurada com a utilização do kit Somaticell CCS®, obtida a partir das amostras do leite coletadas do tanque de expansão em cada propriedade. A CCS é um importante indicador da saúde da glândula mamária e sua elevação pode indicar a presença de inflamação ou infecção da glândula mamária.

A Figura 2 apresenta os valores obtidos na contagem padrão em placas (CPP) e contagem de bactérias psicrotóficas (CBP) em UFC/mL. A CPP e a CBP auxiliam na identificação de práticas inadequadas de obtenção e armazenamento que podem levar à contaminação do leite por microrganismos.

A Figura 3 indica os resíduos de antimicrobianos encontrados nas amostras de leite.

Tabela 1 – Análise dos componentes do leite obtido do tanque de refrigeração, utilizando o analisador de leite Master Mini.

Fazenda	G (%)	S (%)	ST (%)	P (%)	L (%)	S1 (%)	D	PC (°C)	Ag. (%)
1	4,98	7,86	12,84	2,87	4,42	0,64	1,026	-0,505	0
2	5,57	8,17	13,74	2,98	4,49	0,67	1,026	-0,53	0,003
3	4,73	8,08	12,81	2,95	4,44	0,66	1,027	-0,518	0,001
4	4,17	7,85	12,02	2,87	4,31	0,64	1,026	-0,501	0
5	5,17	7,96	13,13	2,9	4,37	0,65	1,026	-0,513	0,001
6	4,93	7,88	12,81	2,88	4,33	0,65	1,026	-0,506	0
7	5,28	8,02	13,3	2,93	4,41	0,66	1,026	-0,518	0,001
8	6,15	8,33	14,48	3,04	4,57	0,69	1,026	-0,545	0,004
9	4,56	7,88	13,82	2,88	4,33	0,64	1,026	-0,504	0
10	5,6	7,74	13,37	2,82	4,25	0,64	1,025	-0,5	0

Legenda: G- Gordura; S- Sólidos desengordurados; ST- Sólidos Totais; P- Proteína; L- Lactose anidra; S1- Sais minerais; D- Densidade; PC- Ponto de congelamento; Ag.- Água adicionada

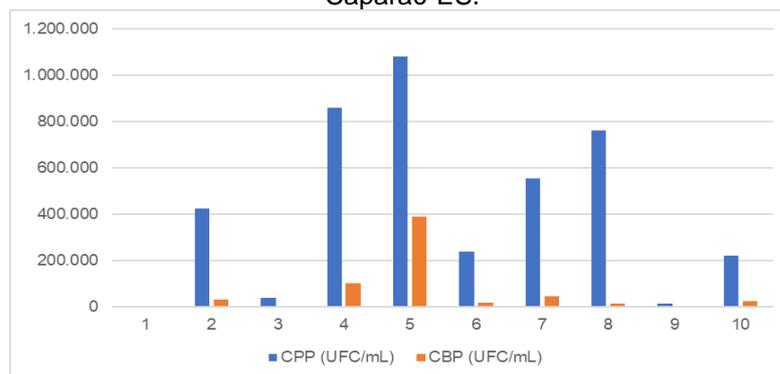
Fonte: o autor.

Figura 1 – Contagem de células somáticas (CCS) nas amostras do leite do tanque em cada propriedade, mensurada utilizando o kit Somaticell CCS®.



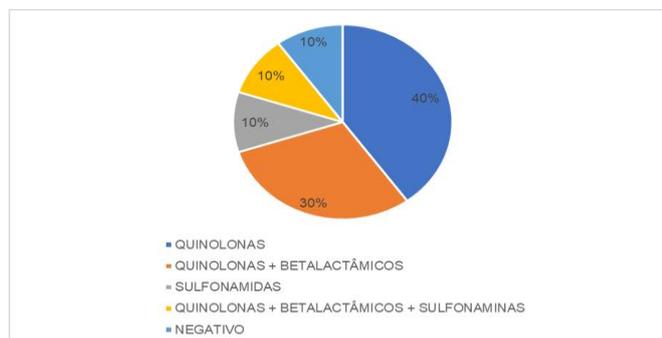
Fonte: o autor.

Figura 2 – Comparação dos valores da contagem padrão em placas (CPP) e contagem de bactérias psicrotróficas (CBP) de amostras de leite *in natura* coletadas em dez fazendas da região do Caparaó-ES.



Fonte: o autor.

Figura 3 – Detecção de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite *in natura* coletadas em dez fazendas produtoras da região do Caparaó-ES.



Fonte: o autor.

Discussão

A qualidade e a composição do leite são diretamente influenciadas pela qualidade da matéria-prima desde a sua fonte de obtenção, bem como pela temperatura de armazenamento desde o tanque de expansão até a recepção para o beneficiamento (Pinto *et al.*, 2013).

De acordo com a IN 76/2018, 50% das propriedades apresentaram valores adequados para proteína, enquanto 90% alcançaram os níveis desejados para a lactose anidra. Os valores de pH, sólidos desengordurados e densidade não atingiram os limites estabelecidos pela legislação em nenhuma das propriedades. Sais minerais, ponto de congelamento e água adicionada não apresentaram discrepâncias significativas em relação à legislação (Brasil, 2018).

As células somáticas do leite compreendem as células de defesa (macrófagos, linfócitos e neutrófilos) e, em menor proporção, células epiteliais oriundas do tecido mamário. Nos quadros de mastite, ocorre a migração das células de defesa do sangue para o sítio de infecção na glândula mamária, resultando em aumento desta contagem (Riet-Correa *et al.*, 2001). Portanto, a análise de CCS é considerada uma forma de diagnóstico universal para a mastite subclínica, por apresentar boa acurácia diagnóstica e baixo custo quando realizado a nível de rebanho (Megid; Ribeiro; Paes, 2016).

É preconizado que o leite obtido a partir da glândula mamária saudável deve apresentar CCS inferior a 200.000 células/mL (cs/mL). Quantidades superiores ao valor descrito representam um quadro de mastite subclínica. Infecções por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e coliformes, induzem maior migração de células somáticas para o leite e consequentemente, um aumento marcante da CCS acima de 500.000 cs/mL (Edmondson; Bramley, 2008).

Das 10 propriedades leiteiras visitadas, apenas 4 apresentaram valores de CCS igual ou inferior a 500.000 cs/mL, conforme estabelecido na legislação, número condizente com as práticas de manejo adotadas no rebanho e a aplicação de boas práticas. As propriedades com baixa adesão ao Pré e Pós-dipping apresentaram elevação da CCS. Duas propriedades apresentaram valores superiores à 12.000.000 cs/mL, indicando que condições precárias de higiene e manejo durante e após a ordenha, como a falta de limpeza adequada dos tetos e dos equipamentos, podem aumentar o risco de infecção e, consequentemente, elevar a CCS.

A CPP está estreitamente relacionada as condições higiênico-sanitárias da fazenda, do rebanho, dos equipamentos de ordenha e da temperatura de armazenamento do leite, portanto, representa um bom indicador de erros de manejo (Lopes *et al.*, 2022). Segundo Edmondson e Bramley (2008), esse método quantitativo e semiquantitativo, utilizado como parâmetro na contagem de unidades formadoras de colônias de microrganismos aeróbios mesófilos presentes no leite, auxilia na monitoração da mastite e nas condições de higiene do leite. De acordo com a legislação, o leite *in natura* refrigerado deve apresentar médias trimestrais de CPP de no máximo 300.000 UFC/mL para tanque individual. As fazendas 2, 4, 5, 7 e 8 apresentaram valores superiores a essas médias, demonstrando que a deficiência na adoção de práticas higiênico-sanitárias durante a ordenha contribuem para o aumento CPP.

Bactérias psicrótróficas são capazes de se multiplicar em temperaturas iguais ou inferiores a 7°C e o aumento da CBP na propriedade 5 pode estar correlacionado a falhas no controle de temperatura ou

práticas inadequadas de manejo. A presença desses microrganismos na forma de biofilmes em contato com o leite durante a sua obtenção pode levar a contaminações do produto final, uma vez que a refrigeração durante o armazenamento não inibe o crescimento de microrganismos psicrotróficos (Pinto *et al.*, 2013).

A utilização empírica de antimicrobianos para o tratamento de quadros de mastite pode levar a falhas de tratamento e acentuar o problema da resistência antimicrobiana, além de elevar os custos para os pequenos produtores de leite. Nove das dez fazendas produtoras acompanhadas neste estudo fazem uso de antimicrobianos. As classes mais comumente utilizadas foram quinolonas e suas associações a beta-lactâmicos. O uso indiscriminado desses fármacos pode levar à emergência de bactérias multirresistentes, dificultando o controle das infecções e limitando as opções terapêuticas disponíveis. Além disso, o aumento da resistência antimicrobiana eleva os custos de tratamento, exigindo a utilização de antimicrobianos de última geração, que são mais caros e podem não estar prontamente disponíveis para pequenos produtores (Milimani, 2023).

Portanto, é essencial promover o uso racional de antimicrobianos, baseando o tratamento de mastite em testes de sensibilidade e implementando programas de manejo integrado que reduzam a necessidade de intervenção antimicrobiana. Medidas como a educação continuada dos produtores, o uso de vacinas e a melhoria das práticas de higiene na ordenha são estratégias que podem contribuir para a redução do uso empírico de antimicrobianos e, conseqüentemente, da resistência antimicrobiana, garantindo a sustentabilidade da produção leiteira (Pinto *et al.*, 2013; Palma; Tilocca; Roncada, 2020).

Conclusão

Este estudo demonstra que a qualidade do leite e sua composição estão diretamente ligadas às práticas de manejo e condições higiênico-sanitárias adotadas nas fazendas leiteiras. A elevada CCS em muitas propriedades é indicativa de mastite subclínica, exacerbada por práticas inadequadas de ordenha e higiene, como a falta de pré e pós-*dipping*. Além disso, a CPP elevada em algumas propriedades sugerem deficiências no controle de temperatura e higiene durante o armazenamento do leite. Ainda, observou-se a utilização de antimicrobianos em 90% das fazendas, o que representa um risco significativo, contribuindo para o aumento da resistência antimicrobiana e elevando os custos de produção.

Referências

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - APHA. (2001). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. (4ª ed.), APHA: Washington, 2001. 676 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. Aprova os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A. (Alterada pela IN nº 58/2019, Alterada pela IN nº 55/2020). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 nov. 2018a.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. Ficam estabelecidos os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. (Alterada pela IN nº 59/2019). **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 nov. 2018b.

EDMONDSON, P. W.; BRAMLEY, S. J. Mastite. In: ANDREWS, A. H. *et al.* **Medicina Bovina: doenças e criação de bovinos**. 2. Ed. São Paulo: Roca, 2008. p. 290-346.

FAO (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS); IDF (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION). **Guia de boas práticas na pecuária de leite**. Produção e Saúde Animal Diretrizes. 8. Roma. 2013. Disponível em: <<https://www.fao.org/4/ba0027pt/ba0027pt.pdf>>. Acesso em: 14 ago 2024.

LOBATO, K. B. de S. **Espectroscopia no infravermelho em leite UHT e polpa de açaí liofilizada: parâmetros de qualidade, detecção e identificação de adulterantes**. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Campinas, 2018. 156 f.

LOPES, C. M. A. *et al.* Influência das boas práticas agropecuárias na contagem padrão em placas (CPP) e na contagem de células somáticas (CCS) no leite cru. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.8, n.3, p. 21519-21536, mar. 2022.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. 1294p.

MILIMANI, A. Uma abordagem em one health para compreender fatores associados a distribuição de resistência a antibióticos na cadeia produtiva do leite. Tese (Pós-Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2023. 93 f.

PALMA, E.; TILOCCA, B.; RONCADA, P. Antimicrobial resistance in veterinary medicine: an overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 6, p. 1-21, 2020.

PINTO, C. L. O. *et al.* **Qualidade microbiológica do leite cru**. Viçosa: EPA-MIG, Zona da Mata, 2013.

RIET-CORREA, F. *et al.* **Doenças de Ruminantes e Equinos**. São Paulo: Livraria Varela, 2001, p. 294-307.

STRÖHER, J. A.; SANTOS JR., L. C. O.; SALAZAR, M. M. Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no trajeto do campo à indústria: estudo de caso no Rio Grande do Sul. **Nutrivisa**, v.10:e11064. 2023.

OLIVEIRA, L. K. V.; GOMES, K. N. O.; MENDONÇA, J. F. M. A influência do manejo adequado de ordenha na contagem de células somáticas do leite: relato de caso. **Revista de Trabalhos Acadêmicos**, Juiz de Fora, n.17, 2023.

NEDER, M. A. C. *et al.* Inspeção de leite com ênfase na contagem padrão de placas. **Revista de Trabalhos Acadêmicos**, Juiz de Fora, n.18, 2023.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (EDITAL FAPES/SEDU Nº 12/2023 - Programa de Iniciação Científica Júnior do Espírito Santo – Pesquisador do Futuro (PICJr 2024) e EDITAL FAPES Nº 11/2023 - EXTENSÃO TECNOLÓGICA - FAIXA I - IES/P/T), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001. Ainda, o trabalho contou com apoio do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural das cidades de Guaçuí, Dorés do Rio Preto e Divino de São Lourenço.