

**Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos - UNICEPLAC**

**Curso de Medicina Veterinária**

**Trabalho de Conclusão de Curso**

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU  
PROVENIENTE DE ORDENHA MECÂNICA E MANUAL EM  
BOVINOS DA RAÇA JERSEY**

**LETÍCIA FERNANDA RICHTER**

Brasília - DF

2022

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU  
PROVENIENTE DE ORDENHA MECÂNICA E MANUAL EM  
BOVINOS DA RAÇA JERSEY**

LETÍCIA FERNANDA RICHTER

Artigo apresentado como requisito para  
conclusão do curso de Bacharelado em  
Medicina Veterinária pelo Centro Universitário  
do Planalto Central Aparecido dos Santos –  
Uniceplac.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Stefania Márcia  
de Oliveira Souza.

Brasília - DF

2022

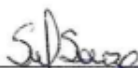
**LETÍCIA FERNANDA RICHTER**

**Avaliação microbiológica de leite cru proveniente de ordenha  
mecânica e manual em bovinos da raça Jersey**

Artigo apresentado como requisito para  
conclusão do curso de Bacharelado em  
Medicina Veterinária pelo Centro Universitário  
do Planalto Central Aparecido dos Santos –  
Uniceplac.

Brasília - DF, 10 de novembro de 2022.

**Banca Examinadora**



---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Stefania Márcia de Oliveira Souza


Orientadora



---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Margaret Medeiros

Examinadora



---

Prof.<sup>a</sup> Me. Manuella Rodrigues de Souza Mello

Examinadora

# Avaliação microbiológica de leite cru proveniente de ordenha mecânica e manual em bovinos da raça Jersey

Letícia Fernanda Richter<sup>1</sup>

## Resumo

O leite bovino está presente no dia-a-dia da alimentação brasileira e mundial, sendo considerado uma das fontes alimentares mais completas nutricionalmente. Com isso, é de suma importância que este tenha uma boa qualidade microbiológica, a fim de garantir biossegurança ao consumidor. As boas práticas na ordenha podem prevenir diversos patógenos com valor sanitário aos humanos, o que torna todo o processo de extração do leite uma questão de saúde pública. Este trabalho determinou a composição microbiológica do leite cru proveniente de modelos distintos de ordenha (manual e mecânica), foram analisados os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, coliformes totais e termotolerantes, aeróbios mesófilos e psicrotróficos. Ao total foram analisadas 24 amostras de leite cru proveniente de fêmeas bovinas da raça Jersey, de uma propriedade rural situada em Cidade Ocidental, Goiás. Após todas as análises microbiológicas, foi possível determinar que o tipo de ordenha influencia na composição microbiológica do leite, sendo o leite proveniente de ordenha mecânica mais contaminado com *S. aureus*, *E. coli*, aeróbios mesófilos e psicrotróficos e o leite de ordenha manual mais contaminado por coliformes totais e termotolerantes.

**Palavras-chave:** Leite; bovino; microrganismos; saúde pública; qualidade.

## Abstract

Bovine milk is present in the Brazilian and world's daily diet, being considered one of the most nutritionally complete food sources. Therefore, it is of utmost importance that it has a good microbiological quality, in order to ensure consumer biosecurity. Good milking practices can prevent several pathogens of sanitary value to humans, which makes the whole process of milk extraction a public health issue. Through the research, the microbiological composition of raw milk from different milking models (manual and mechanical) was investigated, focusing on the detection of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, total and thermotolerant coliforms, mesophilic aerobes and psychrotrophs. In total, 24 samples of raw milk from Jersey bovine females from a rural property located in Cidade Ocidental, Goiás were analyzed. After all the microbiological analyses, it was possible to determine that the type of milking influences the microbiological composition of the milk, being the milking milk more contaminated with *S. aureus*, *E. coli*, mesophilic and psychrotrophic aerobes and the milking milk more contaminated with total and thermotolerant coliforms.

**Keywords:** Milk; bovine; microorganisms; public health; quality.

---

<sup>1</sup> Graduanda no curso de Medicina Veterinária, pelo Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos (UNICEPLAC) - leticialrichter@gimal.com

## 1. INTRODUÇÃO

Conforme definido pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), leite, sem outra especificação, é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2017).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) em parceria com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e secretarias estaduais, distrital e municipais buscam inspecionar e garantir que os alimentos destinados ao consumo humano estejam livres de patógenos. Para isso há diversas normas e leis a respeito, para o leite e derivados as principais são: o RIISPOA (Decreto nº 10.468, de 18 de agosto de 2020) e o Regulamento Técnico de Qualidade e Identidade (RTIQ) do leite cru (Instrução normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018) (BRASIL, 2018; BRASIL, 2020).

De acordo com Prestes (2017), a secreção do leite pela glândula mamária é dada pela sucção do bezerro ou por um processo denominado ordenha, a qual pode ser manual ou mecânica. A remoção do leite é realizada por um reflexo neuro-hormonal, que se inicia por um estímulo mecânico, visual ou auditivo. O principal é o estímulo mecânico na região dos tetos, em que os receptores neurais ali presentes transportam a informação até a medula espinhal, chegando ao cérebro, mais especificamente à hipófise posterior, a qual libera o hormônio ocitocina na corrente sanguínea, ativando os receptores mioepiteliais, assim gerando uma contração celular e a descida do leite. Já a evacuação do leite se dá pela abertura do esfíncter mamário devido ao diferencial de pressão entre os ductos mamários e o ambiente externo. A resistência do esfíncter varia de animal para animal e pode dificultar o início da liberação do líquido.

Conforme Beloti (2019), quaisquer que seja o tipo de ordenha a ser realizada, deve-se preservar a integridade e qualidade do líquido mamário, também deve-se observar a praticidade e a higiene do método eleito, para facilitar o manejo diário que será realizado. A ordenha pode ser realizada uma, duas ou três vezes ao dia, dependendo dos resultados desejados pelo produtor e da quantidade de leite que as vacas produzem. Segundo De Moraes (2022), as boas práticas de ordenha para redução da contaminação do leite estão relacionadas com a obtenção da matéria-prima adequada e com redução da possibilidade de transmissão de patógenos oportunistas pela higiene do ordenhador, como também, pelo ambiente e equipamentos utilizados com ótimas condições de higienização.

Conforme Zanela (2011), a ordenha manual consiste no massageamento da glândula mamária com as mãos e armazenamento do leite em um balde de alumínio ou plástico; este método é usado em pequenas propriedades, onde há poucas vacas em lactação e poucos recursos para investir em um sistema mais moderno. Já a ordenha mecânica é realizada de forma automatizada, necessitando, principalmente, que uma pessoa encaixe e retire as teteiras, com duas variações de ordenha mecânica, sendo elas, balde ao pé e circuito fechado.

Independentemente do sistema, os procedimentos empregados na ordenha determinam a qualidade microbiológica do leite, cada etapa nesse processo pode ser responsável pela inclusão de milhões de microrganismos no leite, na ausência de boas práticas de higiene (DE MORAIS, 2022). Ainda em conformidade com o autor, a limpeza deve ir desde a instalação em que é realizada a ordenha até o tanque de refrigeração no qual o leite ficará armazenado na propriedade, bem como a higienização dos tetos das vacas antes e depois da ordenha (DE MORAIS, 2022).

Ressalta-se, também, que o produtor deve atentar-se com a proliferação de doenças infectocontagiosas no rebanho, das quais a mastite é a que mais acomete os bovinos de raças leiteiras (PEREIRA, 2019). Segundo Quinn (2007), a mastite ou mamite é a inflamação da glândula mamária causada por microrganismos patogênicos, como o *Staphylococcus aureus*. Estes microrganismos podem comprometer o sistema mamário da fêmea com perda de funcionalidade de um ou mais tetos, podendo chegar ao ponto do animal ser descartado, além de muitos dos patógenos serem altamente contagiosos para os demais animais que estão compartilhando o mesmo sistema de ordenha.

Conforme Silva (2019), para prevenir a mastite e outras enfermidades que podem comprometer o rebanho e, conseqüentemente, a qualidade do leite, são realizados testes de qualidade microbiológica do leite periodicamente, para identificar patógenos por via ascendente (ordenhadeira mecânica, bezerros, lesões, mãos sujas) ou via sanguínea (sistêmico). Nestes testes são considerados indicadores higiênico - sanitários tais como *S. aureus*, *Escherichia coli*, coliformes, aeróbios mesófilos, psicrotróficos e outras bactérias, além de fungos patogênicos.

A má qualidade do leite está relacionada a fatores como deficiências no manejo e higiene da ordenha, índices elevados de mastite, manutenção e desinfecção inadequadas dos equipamentos, refrigeração ineficiente ou inexistente e mão de obra desqualificada, entre outros (SANTANA *et al.*, 2001). Conforme autores, um fator que é comumente negligenciado é a higiene pessoal dos ordenhadores, visto que, muitas vezes, os funcionários sabem sobre a importância da lavagem de mãos e do uso de vestimentas limpas antes de iniciar o processo de

ordenha, mas por desleixo ou pressa de realizar o processo são imprudentes com esta prática. A presença de coliformes no leite é um dos principais indicativos da falta de higienização correta do ordenhador ou dos equipamentos que terão contato com a glândula mamária ou com o leite extraído. Esta questão gera um problema de saúde pública difícil de solucionar, por ocorrer na propriedade e cotidianamente (JAMAS, 2018; MONTEIRO, 2018; BELOTI, 2019; DIAS, 2020; SANTOS, 2020; DE MORAIS, 2022).

Diante disso, este trabalho tem por objetivo avaliar comparativamente a qualidade microbiológica do leite cru obtido por ordenha mecânica e manual, assim como determinar as diferenças higiênico-sanitárias entre os métodos de ordenha.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Procedimento de ordenha e coleta das amostras**

Para a realização deste trabalho foi utilizado leite cru proveniente de fêmeas bovinas da raça Jersey, sempre no horário da segunda ordenha diária, de uma propriedade situada em Jardim ABC, Cidade Ocidental, Goiás. A coleta foi realizada em seis dias aleatórios entre os meses de novembro de 2021 a abril de 2022, sendo duas coletas de ordenha manual e duas coletas de ordenha mecânica por semana, totalizando 24 amostras coletadas ao fim do trabalho.

Nesta propriedade é realizada, rotineiramente, ordenha mecânica balde ao pé, sendo realizada ordenha manual apenas para coleta das amostras. Os funcionários iniciam o processo da segunda ordenha às 15 horas, com o manejo das vacas a serem ordenhadas. É realizada a limpeza das teteiras, dos baldes e demais equipamentos utilizados com água corrente e detergente comum. Antes da ordenha é realizada a limpeza prévia dos tetos por *pré-dipping*, onde é utilizado um produto à base de ácido láctico, glicerol, goma guar quaternizada, hietelose, cloreto de cetil trimetil amônio, álcool polietoxilado, trolamina, corantes CI 15.985 e CI 16.185 e água purificada. É realizada a imersão dos tetos na solução antes do encaixe das teteiras, também foi realizado o teste da caneca de fundo preto, em que os três primeiros jatos de leite foram descartados e os seguintes foram despejados na caneca, averiguando a existência de grumos no leite, indicativo de mastite clínica.

A coleta da primeira e da segunda amostra do dia foram realizadas após o *pré-dipping* e teste da caneca de fundo preto, por meio de massagem manual nos tetos pelo ordenhador da propriedade, e armazenamento do leite em recipientes de vidro previamente esterilizados. Já a terceira e a quarta amostras foram obtidas do balde que o leite estava armazenado após ser realizada a ordenha mecânica. Estas últimas amostras foram coletadas ao término da ordenha

dos animais sadios, com a abertura do balde e transferência do leite para os recipientes de vidro estéreis. Todos os recipientes foram devidamente identificados para possibilitar a classificação posterior.

A escolha dos animais para coleta das amostras foi aleatória, levando em consideração, apenas, a sanidade dos mesmos e teste da caneca de fundo preto negativo. Além disso, não houve interferência ao manejo de ordenha realizado na propriedade, respeitando a rotina local e evitando resultados distintos da realidade.

## **2.2. Transporte e armazenamento das amostras**

As amostras de leite cru foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo e imediatamente transportadas para o laboratório de microbiologia da UNICEPLAC. No laboratório, o leite foi mantido em geladeira, a 7°C, até o procedimento de análise. Todas as amostras foram testadas no mesmo dia de coleta.

## **2.3. Análises microbiológicas**

Para realização das análises, as amostras foram submetidas a diluições decimais seriadas ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ ) em solução salina 0,85%. Para avaliação de *Staphylococcus aureus* foi inoculado 0,1 mL da diluição  $10^{-4}$  em Placa de Petri contendo ágar sangue equino 5% e incubado a 35°C por 24 horas. As colônias amarelo-douradas e com hemólise foram consideradas sugestivas para *S. aureus*. Então realizou-se coloração de Gram da colônia, onde buscou-se cocos agrupados em cachos, semelhante a um “cacho de uva”.

As colônias com estas características foram submetidas ao teste de catalase onde, após o espalhamento da colônia sobre a lâmina de microscopia foi adicionado uma gota de peróxido de hidrogênio e então observado a se há borbulhamento, sendo esta considerada catalase positiva.

Posteriormente foi realizado o teste de coagulase em lâmina, adicionando 02 gotas de plasma de coelho com EDTA (Laborclin®) em uma amostra do cultivo bacteriano, homogeneizando e então observou-se a formação de grumos, sendo este considerado positivo. Amostras positivas foram, então, submetidas ao esgotamento por estrias em uma Placa de Petri com ágar sal manitol, (Kasvi®), sendo mantidas em estufa de 35°C por 24 horas. O desenvolvimento de colônias grandes com uma zona amarelada ao redor é confirmatório para a presença de *Staphylococcus* na amostra.



As colônias confirmadas como *Staphylococcus* no ágar sal manitol foram então inoculadas por ponto (5 mm) em placas contendo ágar DNase (Audaz®) e então incubadas a 35°C por 18 a 48 horas. Após a incubação as colônias que se desenvolveram foram cobertas com HCL 3% e observou-se a presença de halo transparente ao redor das colônias sendo estas consideradas positivas para *S. aureus*.

Para realizar o teste para *E. coli*, realizou-se esgotamento por estrias de 1 mL da diluição  $10^{-3}$  em uma placa de Petri com ágar Mac Conkey (Kasvi®). As placas foram incubadas a 35°C por um período de 18 a 48 horas. A formação de colônias com halo esbranquiçado é confirmatória de *E. coli*.

A avaliação de coliformes totais foi realizada a técnica dos tubos múltiplos utilizando caldo Bile Verde Brillhante 2% (VBBL) (Kasvi®), onde 1 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  foram transferidas para os tubos contendo 10 mL do meio e então incubadas a 35° por 24 a 48 horas, sendo considerados positivos aqueles tubos que apresentaram gás e turvação do meio. Já para avaliar a presença de coliformes termotolerantes foi utilizado o Caldo EC (Kasvi®), em que 0,1 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  foram adicionados em tubos de ensaio contendo 10 mL do meio e incubadas por um período de 24 a 48 horas a uma temperatura de 45°C. Os resultados foram expressos em Número Mais Provável por mililitro (NMP/mL) da amostra.

Para avaliação dos aeróbios mesófilos, 0,1 mL da diluição  $10^{-3}$  foi inoculado, em superfície, em placa de Petri contendo Ágar Padrão para Contagem (PCA) (Kasvi®), em duplicata, incubados por um período de 24 a 48 horas a 35°C. Após este período as colônias formadas foram quantificadas e realizou-se a média entre as duas placas, e o resultado é expresso em UFC/mL.

Para psicrotópicos foi realizado cultivo microbiológico em profundidade, onde 1 mL de leite diluído a  $10^{-3}$  e coberto com ágar PCA (Kasvi®). Após completa solidificação, foi incubado a 7°C por 7 dias, sendo seu resultado também expresso em UFC/mL.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Após a obtenção dos resultados, eles foram comparados a fim de averiguar a diferença da qualidade higiênico-sanitária entre as ordenhas manual e mecânica, conforme demonstra a Tabela 1.

**Tabela 1** – Resultados das análises microbiológicas comparativa do leite proveniente de ordenha manual e mecânica.

Ordenha manual							Ordenha mecânica						
Amostra	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	A.M.	Psic.	C.T.	C.F.	Amostra	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	A.M.	Psic.	C.T.	C.F.
	+/-	+/-	UFC/mL	UFC/mL	NMP/mL	NMP/mL		+/-	+/-	UFC/mL	UFC/mL	NMP/mL	NMP/mL
1	-	+	>2,5x10 <sup>2</sup>	1,2x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>2</sup>	13	-	-	2,4x10 <sup>2</sup>	3,3x10 <sup>1</sup>	2,4x10 <sup>2</sup>	2,3x10 <sup>1</sup>
2	-	+	>2,5x10 <sup>2</sup>	7,8x10 <sup>1</sup>	2,4x10 <sup>3</sup>	2,7x10 <sup>3</sup>	14	-	+	>2,5x10 <sup>2</sup>	4,6x10 <sup>1</sup>	4,6x10 <sup>3</sup>	2,3x10 <sup>1</sup>
3	-	-	>2,5x10 <sup>2</sup>	8,4x10 <sup>1</sup>	2,9x10 <sup>3</sup>	2,8x10 <sup>3</sup>	15	-	+	>2,5x10 <sup>2</sup>	5,7x10 <sup>1</sup>	2,1x10 <sup>3</sup>	2,9x10 <sup>2</sup>
4	+	+	>2,5x10 <sup>2</sup>	5,1x10 <sup>1</sup>	4,6x10 <sup>3</sup>	2,8x10 <sup>3</sup>	16	+	+	>2,5x10 <sup>2</sup>	2,4x10 <sup>2</sup>	1,6x10 <sup>3</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>
5	+	-	>2,5x10 <sup>2</sup>	6,3x10 <sup>1</sup>	2,9x10 <sup>3</sup>	3,5x10 <sup>3</sup>	17	-	-	>2,5x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>3</sup>	6,4x10 <sup>3</sup>
6	+	-	2,46x10 <sup>2</sup>	9,1x10 <sup>1</sup>	2,1x10 <sup>3</sup>	3,8x10 <sup>3</sup>	18	-	-	>2,5x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>2</sup>	1,5x10 <sup>3</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>
7	-	+	2,8x10 <sup>1</sup>	0	6,1x10 <sup>3</sup>	9,4x10 <sup>2</sup>	19	+	+	2,4x10 <sup>1</sup>	0	3,6x10 <sup>1</sup>	0
8	+	+	0	0	3,6x10 <sup>1</sup>	0	20	+	+	0	0	0	0
9	-	+	1,2x10 <sup>1</sup>	0	7,2x10 <sup>3</sup>	0	21	+	+	6,0x10 <sup>1</sup>	0	3,0x10 <sup>3</sup>	0
10	-	+	0	1,4x10 <sup>1</sup>	1,6x10 <sup>2</sup>	0	22	-	+	3,5x10 <sup>1</sup>	0	3,6x10 <sup>1</sup>	0
11	-	-	4,9x10 <sup>1</sup>	0	7,4x10 <sup>2</sup>	0	23	+	+	3,2x10 <sup>1</sup>	0	0	0
12	-	-	0	2,0x10 <sup>1</sup>	0	0	24	+	+	2,6x10 <sup>1</sup>	0	0	0

**Legenda:** *S. aureus* = *Staphylococcus aureus*; *E. coli* = *Escherichia coli*; A.M. = Aeróbios mesófilos; Psic. = Psicrotróficos; C.T. = Coliformes totais; C.F. = Coliformes fecais.

Com o estudo comparativo foi constatado que há diferença microbiológica entre a ordenha manual e a mecânica na propriedade estudada, mas o leite proveniente dos dois tipos apresentou significativa contaminação. Dias, (2020), relata que é possível obter leite de boa qualidade com os diferentes tipos de ordenha, desde que sejam adotadas as práticas de higiene e a manutenção recomendada para cada tipo. Com boas práticas de higiene durante a ordenha é possível reduzir a contaminação do leite por microrganismos patogênicos, melhorando a qualidade do produto final. A amostra 20 demonstrou muitos resultados nulos, podendo indicar falhas durante a análise microbiológica, bem como durante a diluição do leite, ou devido a resíduos de sanitizantes no equipamento de ordenha, por falhas no enxágue do mesmo, reduzindo, assim, a contagem de microrganismos.

A contaminação por *Staphylococcus aureus* é indicativa de mastite no rebanho, visto que esta bactéria é a principal causadora da enfermidade em rebanhos leiteiros. Na Tabela 1 é possível visualizar que nos dois tipos de ordenha houve amostras positivas para *S. Aureus*, no entanto, na ordenha manual houve contaminação em 4/12 (33%) amostras e na mecânica houve contaminação de 6/12 (50%), deixando claro que a bactéria está presente, mas em diferentes quantidades. Esta contaminação pode ser causada por microrganismos oportunistas que estão presentes no ambiente de ordenha e/ou curral, na água contaminada, no chão, fezes e em materiais orgânicos usados como a cama dos animais. A contaminação pode ocorrer durante a ordenha através de equipamentos como a teteiras, pelas mãos do próprio ordenhador, ou ainda, no período entre as ordenhas, principalmente quando as vacas se deitam nos ambientes contaminados (BRESSAN, 2000; SANTOS, 2001; PEREZ; ZANELA, 2011). Assim os resultados demonstram que é necessário realizar melhorias no processo de higienização dos

utensílios e equipamentos utilizados em ambas ordenhas, além disso é recomendável realizar treinamento com os funcionários que executam os processos de obtenção do leite.

De acordo com Dias (2020), o *Staphylococcus* causa prejuízos econômicos devido à queda na produção e qualidade do leite, além de elevar a taxa de descarte de animais, bem como perdas de ordem sanitária, por se tratar de um patógeno contagioso. É muito importante o controle e prevenção bacteriano do rebanho, visto que a contaminação prejudica o bem-estar animal, quantidade e qualidade do leite produzido, depreciando o produto final e se tornando um risco sanitário ao consumidor. Ou seja, a presença deste patógeno no leite, como foi demonstrado, poderá gerar prejuízos ao produtor em relação a custos com tratamentos de mastite como também diminuição do volume de leite produzido.

Na Tabela 1 é nítida a alta contaminação por *E. coli* nas amostras avaliadas, sendo esta constante levando em consideração os intervalos realizados entre as coletas. Também é notório que o leite de ordenha mecânica apresentou maior contaminação pelo patógeno, sendo 9/12 (75%) das amostras contaminadas, enquanto o leite de ordenha manual apresentou 7/12 (58%).

*Escherichia coli* é um dos principais patógenos ambientais encontrados no leite e sua elevada taxa revela a necessidade de um maior rigor na higienização do animal com a utilização de pré e pós-dipping, bem como higienização do ambiente, principalmente da cama dos animais. Possui a capacidade de produzir biofilmes e representa um problema constante de contaminação nas indústrias de alimentos (SALINA *et al.*, 2016). Com isso, é provável que a contaminação da propriedade seja devido ao solo, já que realizam o pré e o pós-dipping adequadamente. A maior contaminação do leite coletado após ordenha mecânica pode indicar contaminação das estruturas da ordenhadeira, desde as teteiras até o balde de armazenagem, o que demonstra uma maior necessidade de rigor na lavagem de úbere e tetos, retirada de dejetos do ambiente dos animais visando reduzir a contaminação do leite.

O leite analisado apresentou expressivas distinções sobre a quantidade de microrganismos aeróbios mesófilos (MAM) presentes, podendo indicar precárias práticas higiênico-sanitárias. Com os resultados é possível observar que há diferença entre as amostras colhidas nos distintos tipos de ordenha, deixando claro que a contaminação por MAM é maior na ordenha mecânica, com uma média de  $1,36 \times 10^2$  UFC/mL contra  $1,32 \times 10^2$  UFC/mL da manual.

Os microrganismos aeróbios mesófilos são responsáveis pela diminuição da vida útil do leite cru, devido à deterioração enzimática que ocorre quando estes microrganismos têm contato com alimentos. Os MAM são todos aqueles ativos próximos à temperatura ambiente, com

temperatura ótima de crescimento entre 20°C e 40°C, sendo que a maioria dos patógenos humanos apresenta crescimento ótimo em temperaturas próximas a 37°C (SAEKI e MALSUMOTO, 2010). A contagem total de MAM é o principal indicador usado para avaliar a higiene das práticas de manipulação, matérias-primas, condições de processamento e deterioração, pois retrata a carga microbiana total (SILVA et al., 2017). Devido à resistência deste grupo bacteriano à temperatura ambiente é difícil eliminá-lo completamente, mas se a higiene for realizada de forma efetiva, a quantidade de MAM no produto final será baixa, reduzindo o risco à saúde humana e aumentando a vida útil do leite.

A contaminação por microrganismos psicrotóxicos não foi tão significativa como a de MAM, sendo, em média,  $4,2 \times 10^1$  do leite de ordenha manual e  $6,45 \times 10^1$  de ordenha mecânica. Este grupo se prolifera em baixas temperaturas, sendo ideal 4°C. Os psicrotóxicos encontrados no leite são ambientais, provenientes do solo, água, vegetação, teto/úbere e de equipamentos de ordenha higienizados inadequadamente. São termolábeis, porém suas enzimas são resistentes ao tratamento térmico (SAEKI e MALSUMOTO, 2010). Por serem microrganismos que produzem enzimas termoestáveis, este grupo pode ser encontrado no leite pasteurizado e até no leite UHT (Ultra High Temperature) e não somente no leite cru, como é comum com outras classes microbiológicas. O controle de psicrotóxicos é muito importante para a cadeia produtiva de leite e derivados, pois, apesar da maioria dos microrganismos psicrotóxicos não serem patogênicos a presença destes pode acarretar em deterioração dos produtos pois suas enzimas termorresistentes geralmente proteolíticas, iram diminuir os teores de gordura, além de provocar alterações sensoriais importante no leite ou seus derivados.

Distintamente da contaminação pelos gêneros citados acima, a contaminação por coliformes mostrou-se maior no leite proveniente de ordenha manual. Para coliformes totais os resultados obtidos para ordenha mecânica e manual foram  $1,2 \times 10^3$  NMP/mL e  $2,6 \times 10^3$  NMP/mL respectivamente. Segundo De Oliveira (2018), estes microrganismos se apresentam em grande quantidade no meio ambiente e caracterizam-se como contaminantes de alimentos crus, indicando deficiências de higiene da ordenha, especialmente associadas a sujidades de teto, do ambiente dos animais e à má qualidade da água. Com isso é possível determinar que a higiene da ordenha e do ordenhador interferem diretamente na qualidade do leite.

Já para o grupo fecal/termotolerante foi de  $1,4 \times 10^3$  NMP/mL no leite de ordenha manual e  $8,95 \times 10^2$  NMP/mL no leite de ordenha mecânica. Os coliformes termotolerantes são encontrados na microbiota intestinal de humanos e espécies domésticas, sendo um grupo específico de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, do qual *E. coli* é o gênero mais

importante do grupo (SILVA, 2015). Este resultado indica presença de microrganismos entéricos, que podem ser oriundos das mãos do ordenhador, pela diferença de concentração da ordenha manual para a mecânica, sendo necessário ter cuidados básicos com a higiene pessoal antes de manipular os animais ou equipamentos da ordenha.

Sugere-se que a higienização pessoal do ordenhador e dos equipamentos influenciou significativamente nos resultados obtidos, sendo preponderante para obtenção de leite de qualidade e falhas nesses processos podem favorecer a contaminação do leite. De acordo com Dias, 2020, a baixa profissionalização na atividade dificulta a implantação de boas práticas de higiene, resultando na matéria-prima com qualidade microbiológica indesejável. Ou seja, uma capacitação e treinamento adequados melhora a qualidade microbiológica final do produto, além de facilitar o manejo e garantir a biossegurança de todo o processo, tanto para o ordenhador, como para o animal. Fato que é notável devido a contaminação por coliformes ser maior no leite de ordenha manual, em que o contato com as mãos do ordenhador é maior.

Segundo De Moraes (2022), antes mesmo de iniciar o processo de ordenha devem ser lavados todos os equipamentos que serão utilizados, pois a contaminação por microrganismos ocorre principalmente por causa da sujeira e da falta de cuidado no manejo pré-ordenha. Esta contaminação pode ocorrer por microrganismos presentes no interior da glândula mamária, na superfície exterior do úbere e tetos, na superfície do equipamento de ordenha e do tanque, assim como por utensílios utilizados na ordenha (baldes, latões) e pelas mãos do ordenhador (Santos; Fonseca, 2001). Por isso boas práticas de higiene na ordenha são essenciais para a prevenção de patologias de origem bacteriana e fúngica oriundas do leite contaminado.

#### **4. CONCLUSÃO**

Conclui-se que há diferenças significativas no método de ordenha utilizado e a qualidade microbiológica do produto final. Sendo que bactérias de origem ambiental foram encontradas em maiores quantidades na ordenha mecânica, indicando falhas na higienização dos equipamentos e estruturas da ordenhadeira, bem como falhas no manejo de pastagens ou contaminação da água. Já a contaminação por coliformes foi maior na ordenha manual, podendo ser indicativo de falta de higiene pessoal do ordenhador. Questões como o treinamento do responsável pelo processo de ordenha, controle sanitário do rebanho e correto manejo de pastagens e instalações são cruciais para um leite de qualidade, visto que reduzem os contaminantes, previnem doenças e valorizam o produto final.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARER, M. R. **Medical Microbiology: A guide to microbial infections - pathogenesis, immunity, laboratory investigation and control.** 19 ed. 178-184. Elsevier, 2018.

BELOTI, V. et al. **Impacto da implantação de boas práticas de higiene na ordenha sobre a qualidade microbiológica e físico-química do leite cru refrigerado.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 67, n. 388, p. 5-10, 2012.

BELOTI, V. **Leite: obtenção, inspeção e qualidade.** Planta, 2015.

BRASIL, R.B. et al. **Aspectos de qualidade do leite relacionados à ordenha manual e mecânica – revisão de literatura.** PUBVET, V. 6, N. 2, Ed. 189, Art. 1274, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017 – atualizado pelo Decreto nº 10.468 de 18 de agosto de 2020. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 mar. 2017.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. **Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Padrões microbiológicos para produtos de origem animal.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 dez. 2019.

BRITO, M. A. V. P. et. al. **Avanços tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira.** Anais. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p.83-94, 2000.

CARVALHO, G. **A saúde pública no Brasil.** Estudos avançados 27 (78), 2013.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. **Listeria spp., coliformes totais e fecais e E. coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil).** Food Science and Technology [online]., v. 21, n. 3. 2001.

DA SILVA PENS, C. J. et al. **Avaliação da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos em sushis de buffets de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, conforme legislação municipal vigente.** Brazilian Journal of Food Research, v. 11, n. 1, p. 45-57, 2020.

DA SILVA, E. I. C. **Reprodução Animal: Fisiologia do Parto e da Lactação Animal.** Departamento de Zootecnia da UFRPE.

DE MORAIS, A. C. L.; PIERRE, F. C. **Boas Práticas de Ordenha para Redução de Contaminação do Leite.** Tekhne e Logos, v. 13, n. 2, p. 25-33, 2022.

DE OLIVEIRA, A. M. **Qualidade microbiológica do leite cru em tanques de resfriamento coletivos e em sistemas de produção de leite prevalentes em Rondônia.** Embrapa Rondônia-Tese/dissertação (ALICE), 2018.

- DE VARGAS, D.P. et. al. **Qualidade físico-química e microbiológica do leite bovino em diferentes sistemas de produção e estações do ano.** Ciência Animal Brasileira. Goiânia, v.20, 1-11, 2019.
- DIAS, J. A.; BELOTI, V.; DE OLIVEIRA, A. M. **Ordenha e boas práticas de produção.** Embrapa Rondônia-Capítulo em livro técnico (INFOTECA-E), 2020.
- GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos.** 2 ed. São Paulo: Varela, 2001.
- JAMAS, L.T. et. al. **Parâmetros de qualidade do leite bovino em propriedades de agricultura familiar.** Pesq. Vet. Bras. 38(4):573-578, abril de 2018.
- LANGONI, H. et. al. **Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino.** Pesq. Vet. Bras. Dezembro de 2011.
- LEITE, Z. T. C.; VAITSMAN, D. S.; DUTRA, P.B. **Leite e alguns de seus derivados – da antiguidade à atualidade.** Quim. Nova, Vol. 29, No. 4, 876-880, 2006.
- MACHADO, S.C. **Fatores que afetam a estabilidade do leite bovino.** Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção de grau de Doutor em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre/RS, fevereiro de 2010.
- MARIOTO, L. R. M. et al. **Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicotrófica, termodúrica e esporulada do leite cru.** Ciência Animal Brasileira, v. 21, 2020.
- MASSOTE, V. P. et. al. **Diagnóstico e controle de mastite bovina: uma revisão de literatura.** Revista Agroveterinária do Sul de Minas - ISSN: 2674-9661, v. 1, n. 1, p. 41 - 54, 8 out. 2019.
- MONTEIRO, T. F. et al. **Análise de Coliformes no Leite.** Revista de Iniciação Científica da Universidade Vale do Rio Verde, v. 7, n. 2, 2018.
- NETO, F. P.; ZAPPA, V. **Mastite em vacas leiteiras - revisão de literatura.** Rev. Cient. Elet. de Med. Vet. Ano IX, n.16, 2011.
- NETTO, A. S. et. al. **Estudo comparativo da qualidade do leite em ordenha manual e mecânica.** Rev Inst Ciênc. Saúde. 2009; 27(4); 345-9.
- OLIVEIRA, D. T. et. al. **Psicotróficos na indústria de laticínios.** Unicruz. Nov. de 2012.
- PRESTES, N. C.; DA CRUZ, L. A. F. **Obstetrícia veterinária.** Grupo Gen-Guanabara Koogan, 2017.
- QUINN, P. J. et. al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas [recurso eletrônico].** Porto Alegre. 2007.
- SÁ, O. R. et. al. **Avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado produzido em propriedades leiteiras do município de Passos e região.** Ciência Et Praxis. Minas Gerais, v. 4, n. 8, 2011.

- SAEKI, E. K.; MATSUMOTO, L. S. **Contagem de MAM e psicrotróficos em amostras de leite pasteurizado e UHT.** Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v. 65, n. 377, p. 29-35, 2010.
- SALINA, A. et al. **Participação de Enterobactérias na etiologia de mastites bovinas em rebanhos de estados do Sul, Sudeste e Centro-Oeste do Brasil.** Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP. [S.l.], v. 14, n. 3, p. 88-88, 2016.
- SANTOS, M.V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite.** Barueri: Manole, 2007.
- SANTOS, Thaís Costa. **Diagnóstico do ambiente de ordenha em propriedades rurais do Alto Sertão Sergipano.** 2020.
- SILVA, J. C. A.; SILVA, R. C. **Efeito do tipo de ordenha e do ambiente sobre a qualidade do leite cru com base na contagem de células somáticas.** Ciência Animal Brasileira [online]. v. 19. 2018.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. S. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água.** São Paulo, Brasil. Blucher, 5 ed. 2017.
- SILVA, T. C. M.; ANDRADE, F. M. **Qualidade microbiológica do leite bovino no Brasil associada à Staphylococcus aureus.** Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública. v.6, n. 1, p. 196-216, 2019.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia [recurso eletrônico], revisão técnica:** Flávio Guimarães da Fonseca. 10. ed. Dados eletrônicos. Porto Alegre. 2012.
- VILELA, D. et. al. **A evolução do leite no Brasil em cinco décadas.** Revista política agrícola. Ano XXVI. Nº 01. Jan./Fev./Mar. 2017.
- ZANELA, M. B.; RIBEIRO, M. E. R.; KOLLING, G. J. **Manejo de ordenha.** Embrapa Clima Temperado-Documents (INFOTECA-E), 2011.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me guiar e abençoar em todas as escolhas de minha vida. Dedico este trabalho aos meus pais e irmão, por estarem presentes, me apoiando e me encorajando durante toda minha graduação. Agradeço ao meu pai por todos os conselhos, dicas e por estar sempre ao meu lado, também sou grata à minha mãe por todo apoio recebido, conhecimento compartilhado e paciência. Sem vocês nada disso seria possível.

Sou grata pela minha orientadora, por todo conhecimento compartilhado, pelo apoio a minha pesquisa e pelos conselhos e puxões de orelha que me fizeram evoluir profissionalmente. Agradeço a todos os professores e equipe técnica do UNICEPLAC por todo conhecimento compartilhado, me tornando uma profissional capaz para atuar na medicina veterinária.

Também agradeço ao proprietário e a médica veterinária responsável pela propriedade em que foram coletadas as amostras, pela colaboração em me permitir acompanhar a ordenha e coletar o leite, além da amizade e troca de conhecimentos.

Não poderia deixar de agradecer às técnicas do laboratório de microbiologia da instituição, por toda paciência, parceria e ajuda durante as análises realizadas, sem vocês não seria possível a realização deste trabalho.

Também dedico este trabalho as amigas formadas durante a graduação, que foram um apoio durante as semanas de provas, trabalhos e foram minha diversão e amizade, dentro e fora da UNICEPLAC durante estes 5 anos, nos momentos bons e ruins. Espero contar com a amizade de vocês por toda a vida.