

Avaliação da qualidade do leite cru e prevalência de mastite no município de Mossoró-RN**Evaluation of raw milk quality and prevalence of mastitis in Mossoró-RN**

DOI:10.34117/bjdv6n8-728

Recebimento dos originais: 01/08/2020

Aceitação para publicação: 01/09/2020

Palloma Vitória Carlos de Oliveira

Aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: pallomavictória@hotmail.com.br

Evilásio de Souza Lima Neto

Médico Veterinário
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: evilasioneto14@hotmail.com

Neymar Mendes Lucena

Médico Veterinário
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: neymar205@yahoo.com.br

Maria Rociene Abrantes

Doutora em Ciência Animal
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: rocienevet3@hotmail.com

Jean Berg Alves da Silva

Doutor em Ciências Veterinárias
Universidade Estadual do Ceará
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: jeanberg@ufersa.edu.br

Claudio Mi Ovídio de Azevedo Neto

Aluno de Graduação em Medicina Veterinária
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: claudomiro-neto@hotmail.com

Kewen Santiago da Silva Luz

Aluno de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: kewenluz@gmail.com

Dayse Ariane Soares Medeiros

Aluna de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Produção Animal
Instituição: Universidade Federal Rural do Semi-Árido-UFERSA
Endereço: Rua Francisco Mota Bairro, Pres. Costa e Silva, Mossoró - RN, Brasil
E-mail: dayseariane@hotmail.com

RESUMO

Objetivou-se avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite cru e a prevalência da mastite bovina em uma propriedade leiteira no município de Mossoró-RN. Para isso, foram realizadas quatro visitas, onde foi aplicado um *check list* para avaliação dos procedimentos na propriedade, além de coletas de amostras. Foram realizados CMT e teste da caneca telada em todos os animais ordenhados; e ainda coletadas amostras de leite de animais com mastite clínica e subclínica para identificação do agente etiológico, resistência antimicrobiana e pesquisa de resíduos de antibióticos. Foram coletados *swabs* de diferentes pontos de contaminação, amostras do leite e de água, para pesquisa de coliformes à 35 e 45°C e microrganismos mesófilos estritos e facultativos viáveis. Além disso, o leite foi avaliado quanto a qualidade físico-química. O leite apresentou contaminação elevada para bactérias mesófilas em 50% das amostras e os coliformes esteve presentes em todas as amostras de leite. Foi observado a presença destas bactérias nos *swabs* e na água. O leite apresentou dentro dos parâmetros exigidos pela legislação vigente quanto as análises físico-químicas. Quanto aos possíveis pontos de contaminação, verificou-se que com exceção das teteiras, todos os outros pontos contribuíram na contaminação do leite em pelo menos um dos microrganismos pesquisados. Observou-se que 52,3% dos pontos abordados estavam em conformidade com a literatura quanto aos procedimentos adotados na propriedade. O CMT identificou que 55,9% dos quartos analisados apresentavam mastite subclínica e o uso da caneca telada mostrou que a frequência de mastite clínica foi de 2,38%. O exame do leite identificou bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp., e ainda fungos do gênero *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. e levedura. Quanto ao perfil de sensibilidade dos isolados identificados como *Staphylococcus* spp., maiores índices de resistência foram observados para a Ceftriaxona, Ampicilina, Amicacina e Tetraciclina e maiores índices de sensibilidade para Levofloxacina, Imipenem e Gentamicina. Já em relação ao *Bacillus* spp. os antimicrobianos sensíveis foram o Imipenem, Gentamicina e Levofloxacina. Não foi detectado resíduos de antibióticos no leite analisado pelo método utilizado. Assim, torna-se evidente a necessidade de adoção de boas práticas de produção na propriedade com o intuito de melhorar a qualidade microbiológica do leite, sendo ainda necessário, o monitoramento da mastite e adoção de medidas preventivas que visem reduzir a incidência da doença na propriedade leiteira.

Palavras-chave: Bovinocultura leiteira, Boas Práticas de Produção, Bactérias

ABSTRACT

The objective was to evaluate the physical-chemical and microbiological quality of raw milk and the prevalence of bovine mastitis in a dairy farm in the municipality of Mossoró-RN. For this, four visits were made, where a check list was applied to evaluate the procedures on the property, in addition to sample collections. CMT and screened mug testing were performed on all milked animals; and still collected milk samples from animals with clinical and subclinical mastitis to identify the etiologic

agent, antimicrobial resistance and search for antibiotic residues. Swabs were collected from different points of contamination, samples of milk and water, for research of coliforms at 35 and 45°C and viable strict and optional mesophilic microorganisms. In addition, milk was evaluated for physical-chemical quality. Milk showed high contamination for mesophilic bacteria in 50% of the samples and coliforms were present in all milk samples. The presence of these bacteria was observed in swabs and water. The milk presented within the parameters required by the current legislation regarding physical-chemical analysis. As for the possible points of contamination, it was found that, with the exception of the liners, all other points contributed to the contamination of milk in at least one of the microorganisms surveyed. It was observed that 52.3% of the points covered were in accordance with the literature regarding the procedures adopted on the property. The CMT identified that 55.9% of the analyzed rooms had subclinical mastitis and the use of the screened cup showed that the frequency of clinical mastitis was 2.38%. The examination of milk identified bacteria of the genus *Staphylococcus* spp. and *Bacillus* spp., and fungi of the genus *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp. and yeast. As for the sensitivity profile of the isolates identified as *Staphylococcus* spp., Higher levels of resistance were observed for Ceftriaxone, Ampicillin, Amikacin and Tetracycline and higher levels of sensitivity for Levofloxacin, Imipenem and Gentamicin. In relation to *Bacillus* spp. the sensitive antimicrobials were Imipenem, Gentamicin and Levofloxacin. No antibiotic residues were detected in the milk analyzed by the method used. Thus, there is a clear need for the adoption of good production practices on the farm in order to improve the microbiological quality of milk, and it is also necessary to monitor mastitis and adopt preventive measures to reduce the incidence of the disease on the farm. dairy.

Keywords: Dairy cows, Good Production Practices, Bacteria

1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento rico em proteínas, carboidratos, gordura, sais minerais e vitaminas. No entanto, devido ao seu alto valor nutricional junto com o pH neutro e a alta atividade da água, o leite cru serve como excelente meio de crescimento para diferentes microrganismos, provenientes do próprio animal, do homem e dos utensílios usados na ordenha (YOON, Y.; LEE, S.; CHOI, K. CHOI et al., 2016).

A baixa qualidade do leite cru é conhecida em todo o território nacional, e como consequência resulta em produtos beneficiados de qualidade insatisfatória e o principal parâmetro utilizado para se verificar a qualidade desse produto é o seu perfil microbiológico (FAO, 2017).

Dentre os problemas causados pela falta de higiene antes, durante e pós ordenha, e que comprometem tanto a produção quando a qualidade do leite, a mastite bovina vem sendo descrita como um dos mais preocupantes (MENEZES et al., 2015). Isso porque essa enfermidade muda a composição do leite e quantidade de leite produzida, com redução das porcentagens de gordura, sólidos desengordurados, lactose e caseína, além de aumento de cloretos e de soro proteínas (SANTOS; FONSECA, 2007).

Devido à inflamação aguda do tecido do úbere, as vacas ocasionalmente precisam ser tratadas com antibióticos e quimioterápicos que causam resistência bacteriana, sendo considerada uma advertência para a saúde pública, além de prejudicar a produção de leite durante um longo período (ARTURSSON et al., 2016).

A qualidade do leite necessita de um manejo de ordenha que possa reduzir a contaminação microbiana, sendo assim, a ordenha pode ser considerada uma das tarefas mais importantes dentro de uma fazenda leiteira (SANTOS; FONSECA, 2007). É necessário adotar medidas que reduza o impacto de fatores extrínsecos e intrínsecos que venham comprometer o leite, desde a produção até o consumidor final (CLAUDINO FILHO et al., 2015).

Para isso, ferramentas como: Boas Práticas Agropecuárias (BPA), Boas Práticas de produção (BPP), Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimento Padrão de Higiene Operacional (PPHO), Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC) são utilizados por produtores que buscam diminuir a contaminação de microrganismos no leite, e assim oferecer um produto aos consumidores que atenda os parâmetros relacionados com a qualidade higiênica de acordo com a Instrução normativa n° 76 do MAPA (FONSECA; SANTOS, 2007; BRASIL, 2018a).

A aplicação das boas práticas de produção (BPP) na bovinocultura de leite é uma alternativa para minimizar os riscos de contaminação nas diferentes etapas do processo de produção; sendo capaz de melhorar a qualidade do leite por reduzir a contaminação microbiana e fundamenta-se na exclusão, remoção, eliminação, inibição da multiplicação de microrganismos indesejáveis e/ou corpos estranhos e devem ser implantadas em toda cadeia produtiva, de modo que fontes de contaminação microbiológica e contribuir para um produto final de má qualidade (VALLIN, 2009).

Neste sentido, objetivou-se avaliar a qualidade físico-química e microbiológica do leite cru e a prevalência da mastite bovina em uma propriedade leiteira no município de Mossoró-RN.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no município de Mossoró, no semiárido do Rio Grande do Norte. Foram realizadas quatro coletas em uma propriedade que realiza ordenha mecânica com balde ao pé, duas vezes ao dia, com 84 animais em lactação e produção média diária de leite de 1000 litros.

Durante as quatro coletas realizadas, foi realizado um *check list*, com a finalidade de avaliar as condições higiênico-sanitárias utilizadas na obtenção do leite e sua possível influência na ocorrência de mastites. Para tanto, os parâmetros avaliados, em conforme e não conforme, foram relacionados a instalações, procedimentos durante a ordenha, equipamento de ordenha, manejo de animais com mastite clínica e manejo adequado de vacas secas.

Durante as coletas foram obtidos *swabs* de tetas de quatro animais, quatro *swabs* das teteiras, quatro dos baldes acoplados as ordenhadeiras, um do tambor utilizado na coleta do leite dos baldes, um da peneira utilizada para coagem do leite, um do tanque de expansão e um do registro do tanque de expansão. Os pontos críticos utilizados para pesquisa foram escolhidos por meio de estudos sobre pontos de contaminação do leite (VALLIN et al., 2009). Os *swabs* eram estéreis e colocados em água peptonada a 0,1% que serve como meio de enriquecimento para bactérias. Também foram coletadas amostras de leite, em recipientes estéreis, após a ordenha completa diretamente do tanque de expansão para submeter as análises microbiológicas e físico-químicas. Amostra de água utilizada para higienização durante a ordenha também foram coletadas para avaliação microbiológica.

Após a coleta, as amostras foram direcionadas devidamente refrigeradas para o Laboratório. As análises seguiram as recomendações da Instrução Normativa 62 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento do Brasil (BRASIL, 2003) para amostras de leite e *swabs* (microrganismos mesófilos estritos e facultativos viáveis, coliformes a 35 e 45°) e de água (coliformes a 35 e 45°).

As análises físico-químicas do leite foram realizadas com o analisador de leite ultrassônico (EKOMILK TOTAL[®]), sendo avaliados os parâmetros de densidade, proteína, gordura, extrato seco desengordurado, índice crioscópico, lactose, sólidos totais e água adicionada.

Realizou-se ainda o teste do alizarol, para verificar a coagulação por efeito da elevada acidez ou do desequilíbrio salino, utilizando o alizarol como indicador de Ph; e a determinação da acidez titulável de leite fluído. Para isso, seguiu-se as recomendações do manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (BRASIL, 2017a).

Os resultados microbiológicos e físico-químicos do leite foram comparados a legislação vigente (BRASIL, 2018a) e aos resultados obtidos pelos *swabs*, verificando assim, a influência de cada ponto na qualidade final do leite cru na propriedade leiteira.

As amostras de leite do tanque de expansão foram submetidas a pesquisa de resíduos de antibiótico pelo teste Eclipse 50[®], utilizando a metodologia preconizada pelo fabricante. Este teste detecta os seguintes antimicrobianos: Penicilina G, Ampicilina, Amoxicilina, Oxacilina, Cloxacilina, Cefalexina, Cefapirina, Sulfatiazol, Sulfametacina, Sulfanilamida, Oxitetraciclina, Tetraciclina, Eritromicina, Tilosina, Neomicina e Estreptomicina.

Foram identificados animais com mastite clínica, utilizando o teste da caneca telada, descartando os primeiros jatos observando a presença grumos (BRITO, 2009). Após higienização do canal da teta com algodão embebido com álcool a 70% foi realizado o teste de CMT, avaliando em

função do grau de gelatinização da mistura de partes iguais (2 mL) de leite de cada quarto mamário e reagente homogeneizado, em movimentos circulares, em uma bandeja para este fim. Os resultados do CMT foram registrados, para cada quarto mamário, de forma subjetiva, variando de negativo (sem alteração), traços, +, ++ ou +++ (conforme a intensidade de formação de gel) (SANTOS, 2013). Foram coletadas aleatoriamente amostras de leite de 16 vacas, sendo oito que apresentaram mastite clínica e oito, para posterior realização do antibiograma.

Para a identificação dos microrganismos, as amostras de leite coletadas de vacas com mastite foram semeadas em Ágar sangue de carneiro a 5% e incubadas a 37°C por 24/48 horas em estufa bacteriológica para o crescimento dos microrganismos. Além disso, semeou-se em Ágar Batata Dextrosado para crescimento de fungos e leveduras em BOD (Demanda Biológica de Oxigênio) a 25 °C por sete dias. Procedeu-se à identificação dos microrganismos isolados conforme suas características coloniais e morfotintoriais, produção de hemólise e por meio de provas bioquímicas (coloração de gram, catalase, motilidade, oxidase) (QUINN et al., 1994). As bactérias foram incubadas em caldo BHI por 24 horas em estufa bacteriológica e em seguida realizado o teste do antibiograma.

O teste de sensibilidade aos antimicrobianos (antibiograma) *in vitro* foi realizada em triplicata, em placas de Petri contendo meio Ágar Mueller-Hington. Uma suspensão bacteriana em caldo BHI foi padronizada de acordo com o tubo 0,5 da escala McFarland, correspondendo a aproximadamente 1×10^6 UFC/g. A suspensão foi inoculada nas placas com auxílio de *swabs* esterilizados, pelo método de Kirby-Bauer (CLSI, 2015), com posterior inserção dos discos de antibióticos: Amicacina (30 µg), Ampicilina (10 µg), Ceftriaxona (30 µg), Gentamicina (120 µg), Imipenem (10 µg), Tetraciclina (30 µg) e Levofloxacina (0,5 µg). Em seguida as placas foram incubadas invertidas a 37°C em estufa por um período de 24h e após, com auxílio de paquímetro, foram medidos os diâmetros dos halos de inibição.

Para a análise da diferença significativa entre coletas e entre pontos de contaminação, os dados foram submetidos a análise de variância (ANOVA), e logo em seguida aos testes de comparação de médias, teste de Turkey, ao nível de 5% de significância, utilizando o programa SISVAR, versão 5.6.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados microbiológicos dos *swabs*, leite e água foram analisados em logaritmo, por permitir uma distribuição normal dos dados. A legislação vigente estabelece valores inferiores a 3×10^5 UFC/mL, (5,47 log.UFC.mL) para Contagem Padrão em Placas (CPP) do leite cru refrigerado de tanque individual. Foi verificado que 50% das amostras apresentaram contagens média inferiores a

5,39 log.UFC.mL, contagem máxima do presente estudo e próximo ao limite preconizado pela legislação (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados das médias de bactérias mesófilas de diferentes pontos de contaminação e do leite em uma propriedade no município de Mossoró/RN, 2020

Coletas	Pontos de contaminação							Leite
	Tetas	Teteiras	Baldes	Tambor	Peneira	TE	RT	
1	>5,39 Aa	<1,39 Bb	>5,39 Aa					
2	>5,39 Aa	3,49 Ab	>5,39 Aa	>5,39 Aa	<1,39 Cc	<1,39 Cc	>5,39 Aa	>5,39 Aa
3	4,30 Bb	<1,39 Bc	3,39 Bb	1,39 Cc	<1,39 Cc	1,39 Cc	>5,39 Aa	3,39 Bb
4	3,6 Cb	<1,39 Bd	2,69 Cc	3,5 Bb	3,6 Bb	3,6 Bb	>5,39 Aa	2,69 Cc

Diferentes letras minúsculas representam diferenças significativas entre os pontos de contaminação e letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre coletas.

TE- Tanque de Expansão; RT- Registro do tanque.

Fonte: Dados obtidos através da pesquisa (2017)

A elevada contagem foi verificada nas duas primeiras coletas e os pontos analisados podem ter contribuído para essa contaminação. Com exceção das teteiras, os pontos estudados serviram como pontos de contaminação para o leite em pelo menos uma das coletas. Verificou-se na terceira e quarta coleta, uma menor contagem de microrganismos mesófilos na maioria dos pontos, levando a uma redução também destes no leite.

Os *swabs* do registro do tanque obtiveram valores elevados de microrganismos durante todas as visitas, não apresentando diferença significativa entre as coletas. Isso é um dado preocupante já que é o local da saída do leite do tanque de expansão, local do engate da mangueira coletora do carro-tanque, no momento da coleta. A transferência do leite do tanque de refrigeração por expansão direta para o carro-tanque deve-se processar sempre em circuito fechado (BRASIL, 2018b).

Apesar do tanque de expansão presente na propriedade apresentar em bom estado de conservação e com temperatura em torno de 4,0°C, conforme a legislação vigente, sua qualidade higiênica apresentou insatisfatória na primeira coleta quanto aos microrganismos pesquisados, contribuindo para contaminação do leite. A variação da temperatura e o tempo de armazenamento do leite e a higienização inadequada são outros fatores que influenciam na qualidade do leite refrigerado (VALLIN et al., 2009).

As teteiras não foram diagnosticadas como um ponto com alta contagem de microrganismos mesófilos e coliformes, quando comparadas as demais fontes de origem microbiana, sendo esta uma etapa que contribui na melhoria da qualidade do leite quando bem utilizada. De fato, observou-se durante as coletas a higienização desse equipamento de forma adequada, utilizando detergente específico para esse fim (SILVA; KANUGALA; WEERAKKODY, 2016).

Silva et al. (2011), rastreando as fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano, observaram a qualidade microbiológica do leite ruim em função das altas contagens microbianas. Oito (72,73%) das onze amostras de leite apresentaram contagens de aeróbios mesófilos acima de 10^6 UFC/mL, (6 log.UFC.mL) imediatamente após a ordenha e média de $2,5 \times 10^5$ UFC/ mL para coliformes a 35°C UFC/mL (5,39 log.UFC.mL).

A pesquisa de coliformes na maioria dos pontos de contaminação, mostrou-se estatisticamente correlação positiva na contaminação do leite, em pelo menos uma das coletas, com exceção das teteiras (Tabela 2 e 3). Apesar de não ter critério para os coliformes na legislação vigente, estas bactérias são normalmente utilizadas como indicadores de higiene do ambiente e qualidade sanitária dos alimentos porque estão em maior número no trato intestinal, em relação a outros microrganismos e crescem bem em vários substratos, tornando-se fácil o seu desenvolvimento (FONSECA, 2006).

Tabela 2 - Resultados das médias de coliformes à 35°C de diferentes fontes de contaminação, água e do leite em uma propriedade no município de Mossoró/RN, 2020

Coletas	Pontos de contaminação							Água	Leite
	Tetas	Teteiras	Baldes	Tambor	Peneira	TE	RT		
1	>3,04Aa	<0,47Bb	>3,04Aa	>3,04Aa	>3,04 Aa	>3,04Aa	>3,04Aa	46Ab	>3,04Aa
2	1,36Bb	1,32Ab	>3,04Aa	>3,04Aa	<0,47 Cc	0,79 Cc	>3,04Aa	0,96Cc	>3,04Aa
3	0,96Ca	<0,47Bb	0,47Bb	0,47Bb	0,47 Cb	0,96 Ca	0,47Cb	0,96Cc	0,47Cb
4	<0,47Dc	<0,47Bc	<0,47Bc	<0,47Bc	2,7 Ba	2,55 Ba	1,32 Bb	0,47Cc	1,57 Bb

Diferentes letras minúsculas representam diferenças significativas entre os pontos de contaminação e letras maiúsculas diferentes representam diferenças significativas entre coletas.

TE- Tanque de Expansão; RT- Registro do tanque.

Fonte: Dados obtidos através da pesquisa (2017)

Como verificado nas tabelas acima, a presença de coliformes nas amostras do leite indica que houve contaminação pelos pontos analisados, conforme a correlação positiva significativa. Na segunda coleta a contaminação por coliformes a 35°C ocorreu provavelmente devido a contaminação por baldes acoplado a ordenhadeira, tambor e registro do tanque e para coliformes a 45°C pelos baldes.

Nas duas primeiras coletas observou-se durante ordenhas falhas no “pré-dipping” realizados pelos ordenhadores, estes lavavam os tetos apenas com água e logo em seguida eram acoplados a ordenhadeira mecânica sem a secagem devida dos mesmos. De acordo com os manipuladores a falta do material para esses fins era o motivo das falhas dessas etapas, que foi comprovado pela utilização desse material nas duas últimas coletas, onde o leite apresentou melhora em relação aos

microrganismos pesquisados. A lavagem e a secagem dos tetos, de forma correta e efetiva, poderão determinar redução significativa do conteúdo de bactérias do leite (COSER; LOPES; COSTA, 2012).

Nas quatro coletas foram observadas diferenças significativas em relação ao número mais provável de coliformes à 35 e 45°C entre a água e o leite. Apesar de valores baixos desses microrganismos na água, esta apresentou em desacordo com os padrões microbiológicos da (BRASIL, 2017c), que estabelece para a água de consumo humano a ausência de coliformes em 100mL de água. Conforme informações dos manipuladores, a água é oriunda de um poço artesiano da propriedade, e não se observa higienização no reservatório do local da ordenha.

Menezes et al. (2015), em pesquisa com qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais, observaram que as amostras de leite apresentaram contaminação elevada por microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Enterococcus* spp., coliformes a 45°C, comprometendo a qualidade higiênico-sanitária do produto. Esses autores identificaram também níveis de contaminação elevados, quanto à presença de aeróbios mesófilos de equipamentos utilizados em ordenha (baldes e latões), por meio de *Swabs* e concluíram que existiu deficiência quanto às práticas de antisepsias adotadas nos equipamentos utilizados na ordenha.

Os resultados físico-químicos do leite estão apresentados na tabela 4. O leite analisado encontrava-se dentro do limite permitido pela legislação em relação aos parâmetros exigidos.

Tabela 4 - Valores das análises físico-químicas de leite de uma pequena propriedade no município de Mossoró/RN, 2017

Coletas	Requisitos								
	Gordura	Acidez	Densidade relativa	Índice Crioscópico	Sólidos Não-Gordurosos	Proteína Total	Lactose	Água adicionada	Alizarol
1	3,74	0,18	1,031	-0,549	8,93	3,21	4,96	0,0	Estável
2	3,50	0,18	1,032	-0,539	8,70	3,32	4,80	0,0	Estável
3	3,34	0,17	1,030	-0,544	8,48	3,06	4,70	0,0	Estável
4	3,44	0,17	1,032	-0,547	8,58	3,31	4,85	0,0	Estável
Valor de Referência (IN N° 76, 2018a)*	Mín. 3,0	0,14 a 0,18	1,028 a 1,034	- 0,530°H a -0,550°H	Mín. 8,4	Mín. 2,9	Mín. 4,3	-	Estável

*BRASIL, 2018a

Não foi observado coagulação do leite submetida ao teste de alizarol, tendo assim resultado negativo para este teste, conforme com a determinação para a prova do alizarol (BRASIL, 2018a). A estabilidade ao alizarol é uma prova rápida, comumente empregada nas plataformas de recepção

como indicador de acidez e estabilidade térmica. A estabilidade térmica reduzida gera transtornos durante o processamento do leite, podendo resultar na floculação, além de prejuízos consideráveis em virtude do descarte (SILVA et al., 2006).

Em relação ao teste de acidez, verificou-se que os resultados encontravam-se dentro do limite permitido pela legislação, sendo as duas primeiras coletas no limite máximo exigido. O leite analisado foi obtido do tanque de expansão logo após a ordenha e transportado sob refrigeração até o laboratório. Isso é preocupante tendo em vista o tempo de permanência deste leite no tanque de expansão na propriedade. Além do tempo, a temperatura desse produto também é um fator a ser levado em consideração, pois temperatura elevada intensifica a multiplicação e metabolismo das bactérias atuando na composição do leite, como na degradação da lactose gerando ácido láctico (GARCIA; RIBEIRO; ORSINE, 2014).

Os parâmetros avaliados no *check list* foram baseados nas Boas Práticas de Produção, na IN 76 e no Regulamento de Inspeção Industrial Sanitário de Produtos de Origem Animal (SANTOS, 2007; BRASIL, 2018a; BRASIL, 2017b) (Tabela 1).

Verificou-se que 52,3% pontos abordados neste estudo apresentaram em conformidade com a literatura, dentre estes os parâmetros relacionados ao equipamento de ordenha apresentaram conforme. No entanto, alguns procedimentos necessitam de correção na propriedade para evitar elevada frequência de mastite clínica e subclínica.

Quanto aos pontos não conformes, dois desses estavam relacionados as instalações, sete aos procedimentos de ordenha e um relacionado com a mastite clínica. Os parâmetros não conforme apresentam relação direta com problemas de mastite, pela falta de higienização, falta da linha de ordenha e manipuladores inadequados para função. Conforme Rahman et al. (2009), a limpeza adequada do ambiente, pré-dipping durante a ordenha, o tratamento de novos casos clínicos de imediato, a identificação da mastite subclínica e terapia da vaca seca pode reduzir a prevalência de mastite.

A adequada higiene do úbere é uma das medidas mais importantes na prevenção de novas infecções intramamárias. Como existe relação direta entre o número de bactérias presentes nos tetos e a taxa de infecções intramamárias, todos os procedimentos para redução da contaminação dos tetos auxiliam no controle da mastite (SANTOS, 2007). A desinfecção dos tetos após a ordenha objetiva reduzir o máximo possível a sua contaminação, cobrindo-se toda a superfície dos tetos com a solução desinfetante, cuja função é reduzir as novas infecções causadas por microrganismos contagiosos (SANTOS, 2007).

Em relação ao CMT realizado na propriedade leiteira, observou-se que 55,9% dos quartos analisados apresentavam mastite subclínica. De acordo com Santos (2013), os escores de CMT +, ++ e +++ são indicativos de mastite subclínica, enquanto que o escore “traços” indica uma possível infecção. Resultados negativos indicam que o quarto mamário está sadio (Tabela 5).

Tabela 5 - Animais acometidos pela mastite subclínica no teste do CMT e clínica pelo teste da caneca telada, de uma propriedade leiteira no município de Mossoró, RN, 2020

Testes		Quartos mamários
CMT	+	27
	++	62
	+++	99
	Traços	29
	Negativo	100
Caneca telada	Presença de grumos	8
Perdidos	-	11
Total		336 Quartos = 84 Vacas

A mastite subclínica manteve maior frequência durante todas as coletas comparadas à mastite clínica. Os estudos científicos indicam que para cada caso clínico que ocorre em um rebanho leiteiro, pode-se ter até 20 vacas com mastite subclínica no mesmo rebanho (SANTOS, 2013). As vacas com mastite subclínica são reservatórios para bactérias que podem causar mais tarde da mastite clínica. É necessário programas de monitoramento e prevenção de mastite subclínica em rebanhos leiteiros (YANG; WEI; WEI, 2012).

Quanto à mastite clínica, foi verificado essa patogenia em oito quartos (2,38%) de animais diferentes. Martins et al. (2010), examinando 108 vacas observaram a presença de mastite clínica ou subclínica em pelo menos um quarto mamário em 92 (85,2%), com predominância de mastite subclínica, havendo uma ocorrência 11,2 vezes maior destas em relação às mastites clínicas.

Os agentes etiológicos isolados a partir de amostras de leite de animais com mastite clínica e subclínica estão apresentados na tabela 6. Verificou-se que todas as amostras foram positivas no exame microbiológico.

Tabela 6 - Animais acometidos pela mastite clínica e subclínica de uma propriedade leiteira no município de Mossoró, RN, 2020

Agente		Mastite clínica	Mastite Subclínica
Fungos/leveduras	<i>Aspergillus</i> spp.	+	-
	<i>Penicillium</i> spp.	+	-
	<i>Trichoderma</i> spp.	+	-
	Leveduras	+	+

Bactérias	<i>Staphylococcus</i> spp.	+	+
	<i>Bacillus</i> spp.	+	+

Analisando a frequência dos microrganismos isolados, foi verificada a presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* spp. e *Bacillus* spp., sendo a primeira com maior frequência (85%), quando comparado o número de colônias. Todas as amostras de leite analisadas foram observadas colônias de *Staphylococcus* spp., já para *Bacillus* spp., foi detectado seu crescimento em cinco amostras, três em mastite subclínica e duas em clínica.

A elevada ocorrência desses patógenos ocorreu devido à deficiência nas práticas de manejo, higiene e terapêutica nas propriedades estudadas, em especial durante a desinfecção pós-ordenha dos tetos. *S. aureus* é uma das bactérias mais comuns que causam a mastite bovina (ARTURSSON et al., 2016).

A presença de *Bacillus* spp. nesse trabalho deve-se a disseminação desse microrganismo no ar, no solo, na água, nas fezes e no ambiente de ordenha (PERES NETO; ZAPPA, 2011). Zimmermann; Araújo (2017), trabalhando com agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos em leite de vacas com mastite, constataram a presença de *Bacillus* spp. como o quarto microrganismo mais frequente.

Na cultura microbiana pode-se observar a presença de diferentes fungos e leveduras em amostras de leite de vacas acometidas de mastite clínica, sendo três gêneros, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp. e leveduras para a mastite clínica e subclínica. Alguns animais aparentemente sadios apresentam fungos localizados nas tetas que são responsáveis pela causa posterior de mastites subclínicas e disseminação do agente a outros animais no rebanho, atuando como reservatório em potencial, gerando a possibilidade de infecção humana (OLIVEIRA et al., 2007). A elevada prevalência da mastite por leveduras foi associada à falta de treinamento dos ordenhadores, ao tratamento intramamário repetitivo e a falhas na higienização de tetas antes da infusão intramamária.

É necessário promover o uso de antimicrobianos prudentes conforme o tipo de mastite, quando possível utilizar dados bacteriológicos e sempre fazer uso de registros para uma melhor avaliação da eficácia terapêutica (KAYITSINGA et al., 2017). Por isso, os testes de suscetibilidade antimicrobiana devem guiar o veterinário a selecionar o mais apropriado agente antimicrobiano para tratamento de infecções intramamária.

Os resultados do perfil de resistência das bactérias isoladas no leite com mastite subclínica e clínica e estão apresentados na tabela 7.

Tabela 7 - Perfil de sensibilidade à antimicrobianos de bactérias isoladas de leite com mastite clínica e subclínica em propriedade leiteira no município de Mossoró, RN, 2020

Antimicrobianos	Bactérias				
	<i>Staphylococcus</i> spp.*			<i>Bacillus</i> spp.	
	R (%)	I (%)	S (%)	R (%)	S(%)
Amicacina (30µg)	81,25	0,0	18,75	60	40
Ampicilina (10µg)	87,5	0,0	12,5	80	20
Ceftriaxona (30 µg)	93,75	0,0	6,25	100	0,0
Gentamicina (120 µg)	18,75	12,5	68,75	40	100
Imipenem (10 µg)	6,25	18,75	75	0,0	100
Tetraciclina (30 µg)	75	18,75	6,25	100	0,0
Levofloxacina (0,5 µg)	0,0	0,0	100	20	80

* NCLI (2015) – Amicacina, Gentamicina, Tetraciclina, Levofloxacina.

*LABORCLIN (2011) – Ampicilina, Ceftriaxona, Imipenem.

Quanto à sensibilidade dos isolados identificados com *Staphylococcus* spp., maiores índices de resistência foram observados para a Ceftriaxona, Ampicilina, Amicacina e Tetraciclina e maiores índices de sensibilidade foram observados para Levofloxacina, Imipenem e Gentamicina. Já em relação ao *Bacillus* spp. os antimicrobianos sensíveis foram o Imipenem, Gentamicina e Levofloxacina.

A resistência do *Staphylococcus* é preocupante, pois está envolvido numa grande variedade de doenças em humanos e animais e a sua patogenicidade está essencialmente relacionada com uma combinação de virulência mediada por toxinas, capacidade invasiva, e resistência a antibióticos (JAMALI et al., 2015).

Caso o patógeno que causa mastite clínica não for identificado, a vaca pode ser tratada com antibióticos intramamários, antibióticos sistêmicos e medicamentos antiinflamatórios. Embora esta abordagem seja rápida, a desvantagem de tratar as vacas sem saber o patógeno exato envolvido que pode resultar em leite descartado devido ao tratamento, custos por tratamento incorreto, recuperação tardia da vaca e a possibilidade de aumentar a resistência antimicrobiana devido ao uso excessivo de um antibiótico (CHA et al., 2016).

Neste estudo não foi detectado resíduos de antibióticos no leite. A presença de resíduos de antibióticos no leite interfere na fabricação de alguns produtos lácteos, podendo ocasionar no homem reações alérgicas, além de resistência à terapia antimicrobiana (MEDEIROS, 2017).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o leite esteja dentro dos parâmetros exigidos pela legislação vigente quanto às análises físico-químicas, torna-se evidente a necessidade de adoção de boas práticas de produção na propriedade com o intuito de melhorar a qualidade microbiológica do leite, sendo ainda necessário o monitoramento da mastite e adoção de medidas preventivas que visem reduzir a incidência da doença na propriedade leiteira.

REFERÊNCIAS

- ARTURSSON, K. et al. Genotyping of *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis and correlation to phenotypic characteristics. **Veterinary Microbiology**, v. 193, p. 156-161, 2016.
- BRASIL, Ministério da Agricultura. 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 União**, Brasília, p. 14, 18 set. 2003.
- BRASIL, Instrução Normativa n. 76 de 26 de novembro de 2018a. 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, na forma desta Instrução Normativa e do Anexo Único. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 26 nov. 2018.
- BRASIL, Instrução Normativa n. 77 de 26 de novembro de 2018b. Art. 1° 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, na forma desta Instrução Normativa e do seu Anexo. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 26 nov. 2018.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria de Consolidação n° 5, de 28 de setembro de 2017a. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 28 set. 2017a.
- BRASIL. Manual de métodos oficiais para análise de alimentos de origem animal/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. MAPA. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 2017b.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto n° 9.013 de 29/03/2017c. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – RIISPOA. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, p. 10785, 29 Mar. 2017c.
- BRITO, M. A. V. P. Diagnóstico microbiológico da mastite bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 8., 2009, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: Associação Brasileira de Buiatria, [s.n.], 2009. p.13.

CHA, E. et al. The value of pathogen information in treating clinical mastitis. **Journal of Dairy Research**, v. 83, n. 4, p. 456-463, 2016.

CLAUDINO FILHO, S. C. et al. Avaliação microbiológica de bactérias aeróbias mesófilas no leite in natura produzido em uma associação rural em Garanhuns-PE. **Revista Brasileira de Agrotecnologia**, v. 5, n. 1, p. 87-93, 2015.

CLSI publication M100-S25. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. **Organisms by Clinical and Laboratory Standards Institute**, v. 25, n. 3, January, 2015.

COSER, S. M.; LOPES, M. A.; COSTA, G. M. Mastite bovina: controle e prevenção. **Boletim Técnico**, n. 93, p. 1-30, 2012.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Dairy production and products**. 2017.

FONSECA, C. R. Qualidade do leite de cabra in natura e do produto pasteurizado armazenados por diferentes períodos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 944-949, 2006.

GARCIA, L. G. C.; RIBEIRO, J. G.; ORSINE, J. V. C. Condições higiênico-sanitárias da rotina de ordenha de leite bovino. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.16, n.2, p.163-172, 2014.

JAMALI, H. et al. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. **Food Control**, v. 54, p. 383-388, 2015.

KAYITSINGA, J. et al. Antimicrobial treatment of clinical mastitis in the eastern United States: The influence of dairy farmers' mastitis management and treatment behavior and attitudes. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 1388-1407, 2017.

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

MEDEIROS, N. C. Qualidade do leite utilizado em queijarias artesanais no Rio Grande do Norte. 2017. 42f. **Dissertação**. Programa de Pós-graduação em Ciência Animal. Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Mossoró, RN, 2017.

MENDES, C. A. et al. Análises físico-químicas e pesquisa de fraude no leite informal comercializado no município de Mossoró, RN. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 11, n. 2, p. 349-356, 2010.

MENEZES, I. R. et al. Qualidade microbiológica do leite cru produzido no Norte de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 58-63, 2015.

OLIVEIRA, A. A. F. et al. Mastite subclínica bubalina por *Aspergillus fumigatus*. **Medicina Veterinária**, v.1, n.2, p.73-77, 2007.

PERES NETO, F.; ZAPPA, V. Mastite em vacas leiteiras- revisão de literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 9, n.16, p. 1-28, 2011.

QUINN, P. J.; CARTER, M. E.; MARKEY, B.; CARTER, G. R. **Clinical veterinary microbiology**. Virginia: Wolfe, 1994.

RAHMAN, M. A. et al. Prevalence and risk factors of mastitis in dairy cows. **The Bangladesh Veterinarian**, v.26, n. 2, p. 54-60, 2009.

SANTOS, M. V. Qualidade do leite. California Mastitis Test (CMT). Ferramenta para diagnóstico da mastite. **Inforleite**, p. 32-34, 2013.

SANTOS, M. V. Boas práticas de produção associadas a higiene de ordenha e qualidade do leite. In: **O Brasil e a nova era do mercado do leite - Compreender para competir**. 1 ed. Piracicaba-SP: Agripoint Ltda, v. 1, p. 135-154, 2007.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para o controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. São Paulo: Manole, 2007. 314p.

SILVA, C. R. et al. Qualidade físico-química e microbiológica de leite cru refrigerado em tanques de expansão no Município de Silveirânia, MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 61, n. 351, p. 201-204, 2006.

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

SILVA, S. A. S. D.; KANUGALA, K. A. N. P.; WEERAKKODYA, N. S. Microbiological quality of raw milk and effect on quality by implementing good management practices. **Procedia Food Science**, v. 6, p. 92-96, 2016.

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

YANG, J.; WEI, N.; WEI, L. Month-Wise Prevalence of Subclinical Mastitis in Dairy Cows in Guangdong Province, Chin. **Journal of Integrative Agriculture**, V. 11, N. 1, P. 166-169, jan. 2012.

YOON, Y.; LEE, S.; CHOI, K. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. **Food Control**, v. 63, p. 201-2015, 2016.

ZIMERMANN, K. F.; ARAÚJO, M. E. M. Mastite bovina: agentes etiológicos e susceptibilidade a antimicrobianos. **Revista Ciências Exatas e da Terra e Ciências Agrárias**, v. 12, n. 1, p.1-7, jan./jul., 2017.