



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

CONTAGEM BACTERIANA TOTAL E CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS NO LEITE ENTREGUE A LATICÍNIOS DO ACRE

José Marques Carneiro Junior¹, Francisco Aloísio Cavalcante², Antônia Kaylyanne Pinheiro³, Andressa Pereira Braga⁴, Cléia Florentino dos Santos⁵, Priscila Ferreira Wolter⁶.

¹Pesquisador da EMBRAPA/AC – Genética e Melhoramento Animal. e-mail: marques.junior@embrapa.br;

²Pesquisador – EMBRAPA/AC. e-mail: aloisio.cavalcante@embrapa.br; ³Discente do curso de Ciências Biológicas – UNINORTE. e-mail: kaylyanne@hotmail.com; ⁴Mestranda em Produção Animal – UFAC. e-mail: andressabragabio@outlook.com; ⁵Doutoranda em Agronomia Produção Vegetal – UFAC. e-mail: email:cleia_santos23hotmail.com, ⁶Mestranda em Ciências e Inovação (CITA) – UFAC. e-mail: priscilawolter17@hotmail.com.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite coletado nas plataformas de três laticínios do estado do Acre, no período de 2008 a 2009, e o efeito das épocas dos anos. Foram coletadas 900 amostras de leite nas plataformas dos laticínios e colocadas em recipientes com conservantes específicos e posterior análise. As amostras foram acondicionadas, sob refrigeração, e enviadas ao Laboratório da Embrapa Gado de Leite. Foi avaliada a Contagem Total de Bactérias e a Contagem de Células Somáticas em diferentes épocas do ano. Verificou-se que 70,5% das amostras apresentaram valores de Unidades Formadoras de Colônias, indicativo da Contagem Total de Bactérias, ($32 \times 1.000.000$ ufc/mL) acima do limite estipulado pelo MAPA para a região Norte, ou seja, $1.000.000$ ufc/mL. Em relação à Contagem de Células Somáticas, observou-se baixa quantidade de células, indicando baixa incidência de mastite nos rebanhos. Apenas 1,5%, nas amostras analisadas apresentaram valores acima do limite ($1.000.000$ cel/mL de leite). Conclui-se que a qualidade microbiológica do leite *in natura* está abaixo dos padrões exigidos pela legislação vigente no país – Normativa 62, com maior carga microbiana na época de transição da seca para águas. Já a contagem de células somáticas é baixa no rebanho acriano.

Palavras-chave: Células somáticas, contaminação bacteriana, qualidade do leite.

TOTAL SCORE BACTERIAL AND SOMATIC CELL COUNT IN MILK DELIVERED TO ACRE DAIRY

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the microbiological milk quality collected in three dairy platforms of Acre state, in the 2008-2009 period, and the effect of times the years. We collected 900 samples of milk in the dairy platforms and placed in containers with specific preservatives and further analysis. The samples were stored under refrigeration, and sent to the Laboratory of Embrapa Dairy Cattle. It was evaluated Total Bacteria Count and Somatic Cell Count in different seasons. It was found that 70.5% of the samples Units Forming Colony values indicative of total bacterial count ($32 \times 1.000.000$ cfu / ml) over the limit set by the MAP for the North region, ie $1.000.000$ cfu / mL. Regarding



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

29 the counting of somatic cells, it was observed low amount of cells, indicating a low incidence
30 of mastitis in cattle. Only 1.5% in the analyzed samples showed above the limit values (1
31 million cells / ml of milk). It is concluded that the microbiological quality of fresh milk is
32 below the standards required by law in the country - Rules 62, with higher microbial load in
33 the dry time of transition for water. Already the somatic cell count is low in acriano herd.

34 **KEYWORDS:** Somatic cells, bacterial contamination, milk quality.

35

36 INTRODUÇÃO

37 O leite está entre os seis produtos mais importantes da agropecuária brasileira. O
38 agronegócio do leite e seus derivados desempenha um papel relevante no suprimento de
39 alimentos e na geração de emprego e renda para a população. Contudo, a produção ainda
40 apresenta obstáculos na cadeia produtiva, especialmente quanto às condições higiênicoo-
41 sanitárias, que comprometem a qualidade final do produto, sobretudo em regiões como a
42 Amazônia (MACEDO; FREITAS, 2009).

43 A pecuária leiteira no estado do Acre é uma atividade exercida principalmente por
44 pequenos e médios produtores, sendo caracterizada pelo predomínio do sistema de produção
45 tradicional, de baixo nível tecnológico e com pouca rentabilidade, (CARNEIRO JUNIOR et
46 al, 2009). A baixa produtividade 3,5 L/vaca/dia, com índices de natalidade de 70% resultam
47 em custo de produção por litro próximo ao preço pago pelos laticínios. (SÁ et al, 2008)

48 A tipificação dos produtores de leite do Baixo e Alto Acre (CARNEIRO JUNIOR et al.,
49 2009) confirmou o baixo nível tecnológico dos produtores quanto aos padrões de higiene na
50 ordenha, em que apenas 69% dos produtores lavavam as mãos e 57% realizavam a lavagem
51 dos tetos dos animais antes da retirada do leite e apenas 25% após a retirada do leite. A
52 ausência de higiene na ordenha, associada às altas temperaturas e ao elevado tempo de
53 transporte do leite aos laticínios são fatores que favorecem a proliferação microbiana,
54 podendo colocar em risco a saúde do consumidor.

55 A Contagem Bacteriana Total (CTB) refere-se a contagem do número de totais de
56 bactérias presentes numa dada amostra de leite, bem como a taxa de multiplicação microbiana
57 (HARMON, 1994). A carga microbiana é expressa em unidade formadora de colônia (UFC x
58 10^6 unidades/mL). Assim, uma quantidade de microrganismos elevada é indicativa de falta de
59 higiene no processo da ordenha e/ou no manejo animal. Outro parâmetro da qualidade
60 microbiológica do leite é a contagem células somáticas (CCS), que pode ser um forte indício
61 de casos de mastite subclínica no rebanho (BRASIL, 2002). Fatores ambientais como
62 temperatura e pluviosidade podem influenciar significativamente na proliferação de
63 microrganismos, bem como nos níveis de células somáticas do leite *in natura* (SILVA et al,
64 2010).

65 O estado do Acre é caracterizado por possuir duas estações bem definidas, sendo uma
66 mais quente e seca (verão) e a outra com temperaturas mais amenas e alto índice de
67 pluviosidade (inverno). Essa sazonalidade climática pode interferir na qualidade e composição
68 do leite, pois durante o período em que as precipitações pluviais são maiores, ocorre a
69 formação de poças de lama no curral, dificultando assim a ordenha higiênica (ALMEIDA,



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

70 2012). Já no período seco, o problema é a escassez de pastagens, interferindo na qualidade do
71 alimento disponibilizado ao animal e, consequentemente, na composição do leite.

72 Em 2002 o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a
73 Instrução Normativa número 51 (IN 51) que fixava os requisitos mínimos a serem observados
74 para a produção, a identidade e a qualidade do Leite Cru Refrigerado tipo B e Leite
75 Pasteurizado tipo B. A IN 51 estabelecia que os valores de CCS e CTB deveriam ser menores
76 do que 1×10^6 células/mL e 1×10^6 ufc/mL, respectivamente (BRASIL, 2002). Entretanto,
77 devido às dificuldades de implantação da IN 51 o MAPA publicou a Instrução Normativa
78 número 62 (IN 62) que alteram os prazos e limites da CBT e da CCS, as quais passam a ter
79 como limite máximo 600 mil/ml, ao invés de 750 mil/ml, para os produtores das regiões Sul,
80 Sudeste e Centro-Oeste desde janeiro de 2012 e para os produtores da região Norte e Nordeste
81 desde janeiro de 2013. A IN 62 altera o cronograma que rege os parâmetros de qualidade do
82 leite, sendo os prazos estendidos até 2017 para a região norte, e os limites de CBT e CCS
83 reduzidos a 100 mil/ml (CBT) e 400 mil/ml (CCS) até julho de 2016 para as Regiões Centro-
84 Oeste, Sul e Sudeste e julho de 2017 para as Regiões Norte e Nordeste.

85 Assim, é importante que pesquisas relacionadas à qualidade do leite em regiões da
86 Amazônia sejam realizadas, possibilitando o aumento da produção associado ao fornecimento
87 de um produto de boa qualidade à população. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi
88 avaliar a qualidade microbiológica do leite coletado nas plataformas dos três principais
89 laticínios do estado do Acre, bem como os efeitos das épocas do ano na variação desses
90 parâmetros.

91 92 MATERIAL E MÉTODOS

93 Os dados utilizados neste estudo foram obtidos da coleta de amostras de leite, no
94 período de 2008 a 2009, nas plataformas de recepção dos três principais laticínios do estado
95 do Acre, nos municípios de Acrelândia, Porto Acre e Rio Branco. O trabalho foi realizado em
96 cinco etapas: coleta, conservação, envio do material ao laboratório, análise laboratorial e
97 análise estatística dos resultados. Foram coletadas 900 amostras de leite *in natura* de latões
98 oriundos de diversas propriedades rurais, sendo 300 amostras por laticínio coletadas
99 aleatoriamente, das quais 50% eram destinadas ao teste de CTB e, o restante era utilizado para
100 as análises de CCS.

101 Os latões de leite sorteados eram homogeneizados e com o auxílio de uma caneca em
102 aço inoxidável retirava-se 250 ml de leite, transferindo-se para frascos padronizados
103 (esterilizados) e individuais destinados ao teste de contagem bacteriana total (CTB), contagem
104 de células somáticas (CCS) e composição do leite. Após cada coleta a caneca foi higienizada
105 com detergente em água corrente.

106 De acordo com a amostra, foi utilizado um conservante para preservar as
107 características físico-químicas do produto. Para as amostras destinadas ao teste de CTB eram
108 adicionadas duas gotas do conservante azídiol (3,6% de azida sódica e 0,15% de
109 cloranfenicol) e para as amostras destinadas aos testes de CCS, foi utilizado o conservante
110 Bronopol® (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol). As amostras foram transportadas refrigeradas



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

111 em caixas isotérmicas e enviadas ao Laboratório de Qualidade de Leite da Embrapa Gado de
112 Leite, onde foram fracionadas e realizadas as análises.

113 As análises para a contagem bacteriana total foram realizadas eletronicamente pelo
114 método de citometria do fluxo e os resultados expressos em UFC/mL (Unidade Formadora de
115 Colônia/mL). A Contagem de Células Somáticas foi emitida em número de células
116 multiplicado por 1000/mL. As amostragens para os estudos CTB, níveis de CCS e
117 composição do leite foram realizadas em três diferentes épocas entre os anos de 2008 e 2009
118 ficando definidas como: época 1 – novembro de 2008 (transição seca/água), época 2 – março
119 de 2009 (período chuvoso) e época 3 – outubro de 2009 (transição /seca/água).

120 As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do SAS® (2002), utilizando o
121 procedimento de modelos lineares generalizados (PROC GLM), aplicando-se estatística
122 descritiva, análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de
123 probabilidade de erro ($P<0,05$).

125 RESULTADOS E DISCUSSÃO

126 Os resultados das análises laboratoriais mostraram que a maioria dos produtores
127 acrianos fornece leite com alta contaminação microbiana, média de $2.623,24 \pm 2.052,52$ UFC.
128 Estes valores estão acima do preconizado pela Instrução Normativa Nº 62. Isso pode ser
129 atribuído à falta de higiene no momento da ordenha e dos equipamentos, além de outros
130 fatores como a ausência de resfriamento do leite após a ordenha, e o tempo de transporte até o
131 laticínio. Outros pesquisadores também encontraram baixa qualidade do leite, em pequenas
132 propriedades leiteiras que adotavam ordenha manual, como Siqueira et al. (2012) no interior
133 de São Paulo e Ribeiro Neto et al (2012) em vários estados do Nordeste, demonstrando
134 dificuldades destas propriedades em se adequarem à IN 62.

135 Os níveis de CCS da maioria dos produtores apresentam-se em acordo os limites
136 estipulados pela IN 62 que é de no máximo 600.000 células/ml de leite. Ainda que a CCS
137 esteja dentro dos limites, isto não reflete necessariamente, cuidados dos produtores em relação
138 à sanidade da glândula mamária, estudo de caracterização do produtor rural (CARNEIRO
139 JUNIOR et al., 2009) demonstrou que a maioria dos produtores não realiza procedimentos de
140 prevenção da mastite. Uma possível explicação para a baixa CCS é o padrão genético das
141 propriedades caracterizado por animais com alto nível de sangue zebuíno, portanto, mais
142 resistentes à mastite.

143
144 **Tabela 1** – Identificação de parâmetro (P), Limite IN 62 (IN 62), Máximo (Máx.), Mínimo
145 (Mín.), Média (Me), Desvio Padrão (DP) e Amostras fora dos padrões (AP).
146 EMBRAPA, 2008/2009.

P	IN 62	Máx.	Mín.	Me	DP	AP (%)
UFC	Até 10^6	8.251	32	2.623,24	$\pm 2.052,52$	70,5
CCS	Até 10^6	2.931	<1	194,47	$\pm 282,93$	1,5

147 UFC = Unidade Formadora de Colônia; CCS = Contagem de Células Somáticas; = (x
148 1.000/mL).



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

149

150 Quanto aos níveis de CCS foram verificadas diferenças significativas ($P<0,05$) entre
151 todas as épocas (Tabela 2), sendo os maiores valores encontrados na época 2 com 299,43 (\bar{x}
152 1.000 células/mL) e os menores na época 1 que apresentou média de 77,98 (\bar{x} 1.000
153 células/mL). Essa variação pode ter ocorrido em função do ambiente, pois na época 2
154 verificou-se o maior índice de precipitação pluvial (Tabela 3), que associado a alta
155 temperatura, aumenta o estresse térmico dos animais com redução na resposta imune, tonando
156 as vacas mais suscetíveis às infecções na glândula mamária (FONSECA, 1998).
157 Pesquisadores (ARAÚJO; SILVA; CORREIA, 2006) trabalhando com rebanho girolano em
158 Natal-RN, avaliaram amostras de leite coletadas de tanques de resfriamento em duas épocas
159 do ano (chuvisco e estio) e, observaram que a média de CCS foi estatisticamente superior
160 ($p<0,05$) ao observado no período de estio.

161 Em rebanhos leiteiro estudados no Maranhão foram encontraram níveis elevados de
162 CCS no período seco, com média de 2.236.700 células/mL e no período chuvoso houve um
163 aumento desses níveis para 2.629.950 células/mL (CÓRDOVA; FILHO; HILGEMBERG,
164 2008); Já no município de Frutal-M pesquisadores (SOUZA; VAZ, 2008) trabalhando com
165 rebanhos de leite em pequenas propriedades, avaliaram influência significativa da época do
166 ano sobre a variação da CCS, obtendo uma variação de 279.000 a 430.000 células/ml, entre os
167 meses de junho e novembro, respectivamente.

168 Para os níveis de UFC, na Tabela 2, foi verificada diferença significativa ($P<0,05$) com
169 maior incidência de carga microbiana na época 3, outubro, entrada das éguas (seca/água)
170 com média de 3.718,03 (\bar{x} 1.000 UFC/mL). Este resultado do incremento do número de
171 bactérias, nesta época, está de acordo com Barbieri (2005), que justifica o incremento na UFC
172 que é ocasionado pela maior precipitação pluviométrica, pois nesta época, existe dificuldade
173 em manter as condições higiênicas adequadas nas instalações, animais e equipamentos de
174 ordenha.

175

176 **Tabela 2** - Médias e desvio-padrão (DP) das amostras obtidas em diferentes épocas do ano
177 para os de Contagem de Células Somáticas (CCS) e Unidade Formadora de Colônia
178 (UFC), e teores de Sólidos Totais (ES). EMBRAPA, 2008/2009.

Épocas	CCS ($\times 10^3$ células/mL)	DP	UFC ($\times 10^3$ unidades/mL)	DP	ES (%)	DP
1	77,98 C	$\pm 161,95$	2.122,09 B	$\pm 1850,33$	12,08 A	$\pm 0,691$
2	299,43 A	$\pm 384,53$	2.217,04 B	$\pm 1736,04$	12,12 A	$\pm 0,960$
3	202,31 B	$\pm 174,28$	3.718,03 A	$\pm 2234,69$	11,49 B	$\pm 0,747$
Média	193,25	$\pm 240,25$	2.685,72	$\pm 1940,35$	11,89	$\pm 0,799$

179 Médias seguidas de letras iguais nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey
180 a 5% de probabilidade.

181

182 **Tabela 3** – Temperatura: Mês/Ano (M/A), Média (Me), Máxima (Máx.), Mínima (Mín.) e
183 Precipitação (P) registrada em novembro de 2008 e março e outubro de 2009,
184 no município de Rio Branco. AGRITEMPO, 2008/2009.



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

Época	M/A	Me	Máx.	Mín.	P (mm)
1	Nov/2008	26,9	31,8	22,0	150,4
2	Mar/2009	26,8	31,6	22,1	202,9
3	Out/2009	26,1	31,5	20,7	138,4

185

186 CONCLUSÕES

187 A qualidade microbiológica do leite *in natura* está abaixo dos padrões exigidos pela
188 legislação vigente no país – Instrução Normativa 62, com maior carga microbiana na época de
189 transição da seca para águas. Já a contagem de células somáticas é baixa no rebanho acriano.

190

191 AGRADECIMENTOS

192 Aos laticínios do estado que liberaram suas plataformas de recepção para que fosse
193 possível realizar as coletas das amostras de leite no período estudado.

194

195 REFERÊNCIAS

196

197 ALMEIDA, G. M. **Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no município de**
198 **Ouro Preto do Oeste – Rondônia, Brasil.** 2012. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências da
199 Saúde) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília; Brasília, DF, 2012.

200

201

202 ARAÚJO, V. M.; SILVA, P. D. L.; CORREIA, R. T. P. Variação dos níveis de células
203 somáticas no leite de rebanho bovino potiguar em diferentes períodos do ano. In: 2º
204 CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2006, Goiânia, GO. **Anais...**
205 Goiânia, GO, 2006.

206

207

208 BARBIERI, P. R. B. **Caracterização da estação chuvosa nas regiões sul e sudeste do**
209 **Brasil associado com a circulação atmosférica.** 2005. 121 f. Dissertação - São José dos
210 Campos: Instituto Nacional de Pesquisa Espaciais, 2005.

211

212

213 BRASIL, Instrução normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Art. 1º Aprova os
214 Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B,
215 do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico
216 da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **Ministério da Agricultura,**
217 **Pecuária e Abastecimento.** Brasília, 2002. Disponível em:
218 <http://www.qualidadedoleite.com.br/hd/arquivos/IN51de2002_leitebnormas.pdf> Acesso
219 em: 01 Jan. 2011.

220

221



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

- 222 CARNEIRO, J. M. et al. Caracterização de pequenas propriedades leiteiras do Estado do
223 Acre. In: 19º CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA, 2009; Águas de Lindóia.
224 **Visão estratégica de cadeias do agronegócio:** anais... Faculdade de Zootecnia e Engenharia
225 de Alimentos. Águas de Lindóia, SP, 2009.
- 226
- 227
- 228 CÓRDOVA, H. A.; FILHO, O. C.; HILGEMBERG, E. M. Qualidade do leite no estado do
229 Paraná. In: 1º SEMINÁRIO DE POLÍTICAS PÚBLICAS NO PARANÁ: ESCOLA DE
230 GOVERNO E UNIVERSIDADES ESTADUAIS. 2008; Curitiba. **Anais...** Curitiba:
231 Repositório da Escola de Governo do Paraná; 2008. Disponível em:
232 <http://repositorio.seap.pr.gov.br/arquivos/File/anais/painel_agricultura/programa_de_melhoria_da_qualidade.pdf>. Acesso em 01 de Jan. 2011.
- 233
- 234
- 235
- 236 FONSECA, L. F. L. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema
237 de resfriamento. In: 1º SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE,
238 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 1998.
- 239
- 240
- 241 HARMON, R. J. Symposium: mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. **Journal of Dairy Science**, v. 77, n.7, p. 2103-111, 1994.
- 242
- 243
- 244
- 245 MACEDO, L. C. S. Freitas JA. Ocorrência de resíduos de antimicrobianos em leite. **Revista de ciências agrárias**, v. 52, p.147-57, 2009.
- 246
- 247
- 248
- 249 SAS Institute Inc 2002. SAS® (Statistical Analysis System) User's Guide: **Statistics**. Version
250 9.1, 4th ed., Inc., Cary. NC. 2002.
- 251
- 252
- 253 SÁ, C. P. et al. **Sistemas sustentáveis de pecuária leiteira para a agricultura familiar no Acre**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre; 2008. Disponível em:
254 <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/111507/1/3674.pdf>>. Acesso em: 03 de
255 ago. 2015.
- 256
- 257
- 258
- 259 SILVA, et al. Variação da qualidade do leite cru refrigerado em função do período do ano e
260 do tipo de ordenha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, SP, v. 69, n.1, p.112-18,
261 2010.
- 262
- 263



X CONNEPI

X Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação

- 264 SILVA, R. O. P. **Instrução Normativa n. 62: uma decisão consciente para o setor lácteo.**
265 Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=12296>>. Acesso em:
266 12 mar. 2013.
- 267
- 268 SIQUEIRA et al. **Indicadores de qualidade do leite bovino orgânico em duas**
269 **propriedades leiteiras certificadas do estado de São Paulo.** São Paulo, 2012. Disponível
270 em: <<http://www.scielo.br/pdf/aib/v79n3/a12v79n3.pdf>>. Acesso em: 10 de ago. 2015.
- 271
- 272
- 273 SOUZA, D. M.; VAZ, D. A. P. L. Avaliação da produção e da qualidade do leite cru em
274 pequenas propriedades de Frutal: segurança alimentar e saúde pública. In: **3º CONGRESSO**
275 **BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 2008, Recife. **Anais...** Recife: Universidade
276 Federal Rural de Pernambuco.
- 277
- 278
- 279 RIBEIRO NETO, A. C. Qualidade do leite cru refrigerado sob inspeção federal na região
280 Nordeste. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n.5, p.1343-
281 1351. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352012000500035&lng=en&tlang=pt>. Acesso em:
282 09 de ago. 2015.
- 283