

Perfil microbiológico do leite das raças bovinas Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro
Microbiological profile of milk of Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro cattle breeds
Perfil microbiológico de la leche de razas bovinas Curraleiro Pé-Duro y Pantaneiro

Recebido: 12/11/2020 | Revisado: 15/11/2020 | Aceito: 17/11/2020 | Publicado: 21/11/2020

Marília Cristina Sola

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2125-4064>

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Brasil

E-mail: mcsmarilia@gmail.com

Janaína Costa Feistel

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2124-8991>

Universidade Federal de Goiás, Brasil

E-mail: janainafeistel@gmail.com

Fernanda Antunha de Freitas

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2532-6501>

Universidade Federal de Goiás, Brasil

E-mail: fernandaantunha@gmail.com

Maria Clorinda Soares Fioravanti

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4993-5523>

Universidade Federal de Goiás, Brasil

E-mail: mariaclorinda@gmail.com

Raquel Soares Juliano

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1692-4801>

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Pantanal, Brasil

E-mail: raquel.juliano@embrapa.br

Cíntia Silva Minafra e Rezende

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0727-5651>

Universidade Federal de Goiás, Brasil

E-mail: cintiaminafra@gmail.com

Resumo

A qualidade microbiológica do leite cru pode ser influenciada diretamente pela sanidade dos animais, procedimentos de higiene realizados durante a ordenha e condições de

armazenamento do produto. Diante da necessidade de caracterizar os aspectos microbiológicos relacionados à produção de leite dos rebanhos bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, foram avaliadas 333 amostras de leite cru à partir da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva bem como a determinação do número mais provável de coliformes a 30°C e a 45°C. Os resultados obtidos mostraram baixos níveis de contaminação das amostras de leite por mesófilos ($7,5 \times 10^1$ - $8,7 \times 10^3$ UFC/ml – Curraleiro Pé-Duro/ $1,8 \times 10^2$ - $8,6 \times 10^2$ UFC/ml- Pantaneiro), psicrotróficos (2 - $1,4 \times 10^2$ UFC/ml / $2,6 \times 10^1$ - $1,4 \times 10^2$ UFC/ml), *Staphylococcus* coagulase positiva (4 - $5,2 \times 10^2$ UFC/ml/ $1,1 \times 10^2$ - $7,6 \times 10^2$ UFC/ml), coliformes a 30°C (2,0 - 40,2 NMP/ml / 0,6 - 21,9 NMP/ml) e coliformes a 45°C (0,9-14,8 NMP/ml / 0,4- 20,3 NMP/ml). Estes resultados demonstram as potencialidades que os rebanhos bovinos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro apresentam quanto a qualidade microbiológica do leite, adequação do produto às legislações sanitárias bem como a viabilidade tecnológica desta matriz alimentar na produção de derivados lácteos.

Palavras-chave: Avaliação microbiológica; Conservação de recursos genéticos; Controle de qualidade.

Abstract

The microbiological quality of raw milk can be directly influenced by the health of the animals, hygiene procedures performed during milking and storage conditions of the product. Given the need to characterize the microbiological aspects related to milk production of the bovine herds of the breeds Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro, 333 samples of raw milk were evaluated from the count of aerobic microorganisms mesophilic, psychrotrophic, *Staphylococcus* coagulase positive as well as the determination of the most likely number of coliforms at 30°C and 45°C. Results showed low levels of contamination of milk samples by mesophils (7.5×10^1 - 8.7×10^3 CFU/ml - Hard Foot Currall/ 1.8×10^2 - 8.6×10^2 CFU/ml- Pantaneiro), psychrotrophic (2 - 1.4×10^2 CFU/ml / 2, 6×10^1 - 1.4×10^2 CFU/ml), Coagulase positive *Staphylococcus* (4 - 5.2×10^2 CFU/ml/ 1.1×10^2 - 7.6×10^2 CFU/ml), coliforms at 30°C (2.0 - 40.2 NMP/ml / 0.6 - 21.9 NMP/ml) and coliforms at 45°C (0.9-14.8 NMP/ml / 0.4- 20.3 NMP/ml). These results demonstrate the potential that the cattle herds of the breeds Curraleiro Pé-Duro and Pantaneiro present regarding the microbiological quality of the milk, the adequacy of the product to the sanitary legislation as well as the technological viability of this food matrix in the production of dairy products.

Keywords: Microbiological evaluation; Conservation of genetic resources; Quality control.

Resumen

La calidad microbiológica de la leche cruda puede verse directamente influida por la salud de los animales, los procedimientos de higiene realizados durante el ordeño y las condiciones de almacenamiento del producto. En vista de la necesidad de caracterizar los aspectos microbiológicos relacionados con la producción de leche de los rebaños de bovinos de las razas Curraleiro Pé-Duro y Pantaneiro, se evaluaron 333 muestras de leche cruda a partir del recuento de microorganismos aeróbicos mesófilos, psicotróficos y con *Staphylococcus coagulasa* positiva, así como la determinación del número más probable de coliformes a 30°C y 45°C. Los resultados mostraron bajos niveles de contaminación de las muestras de leche por mesófilos (7,5x10¹ - 8,7x10³ UFC/ml - Pie Duro / 1,8x10² - 8,6x10² UFC/ml- Pantaneiro), psicotróficos (2 - 1,4x10² UFC/ml / 2, 6x10¹ - 1,4x10² UFC/ml), *Estafilococos coagulasa* positivos (4 - 5,2x10² UFC/ml/ 1,1x10² - 7,6 x10² UFC/ml), coliformes a 30°C(2,0 - 40,2 MPN/ml / 0,6 - 21,9 MPN/ml) y coliformes a 45°C (0,9-14,8 MPN/ml / 0,4- 20,3 MPN/ml). Estos resultados demuestran el potencial de los rebaños de bovinos de las razas Curraleiro Pé-Duro y Pantaneiro en cuanto a la calidad microbiológica de la leche, la adecuación del producto a la legislación sanitaria, así como la viabilidad tecnológica de esta matriz alimentaria en la producción de productos lácteos.

Palabras clave: Evaluación microbiológica; Conservación de los recursos genéticos; Control de calidad.

1. Introdução

O leite é um dos alimentos mais completos, sendo uma importante fonte de proteínas, lipídeos, carboidratos, sais minerais e vitaminas. Estes componentes podem ser influenciados por fatores genéticos, fisiológicos, nutricionais, sanitários, comportamentais e ambientais, durante o processo de síntese do leite na glândula mamária (Bondan et al., 2018).

Diante de sua riqueza nutricional, este produto se apresenta como substrato para o desenvolvimento de diversos microrganismos, os quais são capazes de alterar as características da matéria-prima ou, até mesmo, comprometer sua inocuidade. Logo, a sanidade dos animais, condições de obtenção, manipulação, armazenamento e higiene no processamento do leite, são fatores determinantes na qualidade microbiológica dos produtos derivados de leite (Georgescu et al., 2014; Zingone et al., 2017).

Estudos apontam que o leite obtido de animais sadios e em condições adequadas de higiene e armazenamento, contém células e microrganismos saprófitas da glândula mamária,

compondo a microbiota normal, como, por exemplo, as bactérias lácticas. Além disso, pode apresentar em menor quantidade outros gêneros como *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*. Já a microbiota contaminante, é composta principalmente por bactérias, destacando-se microrganismos deteriorantes e patogênicos, como o grupo coliformes, *Enterococcus*, *Bacillus*, esporos de *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Salmonella*, entre outros gêneros (Yamazi et al., 2010; Menezes et al., 2014).

O controle microbiológico em amostras de leite se baseia principalmente na determinação de microrganismos indicadores auxiliando na avaliação da segurança e qualidade microbiológica dos alimentos, por fornecer informações sobre as condições sanitárias durante a obtenção, processamento e armazenamento do produto, além de estabelecer uma estimativa sobre a vida de prateleira, bem como sinalizar a possível presença de patógenos (Heck et al. 2009, Lambertz et al. 2014).

As raças bovinas Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro representam um importante recurso genético animal a ser conservado, devido ao impacto socioeconômico e suas potencialidades zootécnicas (Bianchini et al., 2006; Fioravanti et al., 2011; Marques Junior et al., 2012). Apesar da maior rusticidade e adaptabilidade, pouco se sabe sobre a composição genética destas raças localmente adaptadas, suas características satisfatórias e as possibilidades de utilização e fornecimento de alimentos (Carvalho et al., 2013; Carmo et al., 2015).

Apesar da dupla aptidão, os animais são pouco explorados quanto à produção de leite, sendo oportuno avaliar nestas raças atributos relacionados a sanidade da glândula mamária e a qualidade do leite, a fim de caracterizar e avaliar o potencial das populações de raças nativas, reconhecendo as relações entre características de produção e adaptação às diversas condições ambientais, muitas vezes menos favoráveis (Fioravanti et al., 2012; Félix et al., 2013).

Considerando os aspectos abordados, o presente trabalho avaliou a qualidade microbiológica do leite de rebanhos das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro, gerando dados sobre a identidade e qualidade do produto oriundo destas raças bovinas naturalizadas.

2. Metodologia

Animais e amostras

Foram colhidas 333 amostras de leite, sendo 226 da raça Curraleiro Pé-Duro e 107 obtidas do rebanho de bovinos da raça Pantaneiro. Os animais estavam em diferentes estágios

de lactação, eram mantidos em sistema de criação extensivo e a coleta do leite foi realizada uma vez ao dia, pela manhã.

O rebanho bovino da raça Curraleiro Pé-Duro pertencia à Fazenda Coqueiro, localizada no município de Cocalzinho, Estado de Goiás. Já os animais da raça Pantaneiro pertenciam ao Núcleo de Conservação *in situ* do bovino Pantaneiro, localizado na Fazenda Nhumirim, campo experimental da Embrapa- Pantanal, sub-região da Nhecolândia, Corumbá, Mato Grosso do Sul.

Após a realização dos testes da caneca de fundo escuro e o *California Mastitis Test* (CMT) (Schalm & Noorlander, 1957; Schalm et al., 1971) foram colhidas amostras de leite, procedendo a antissepsia dos óstios dos tetos com algodão embebido em álcool 70% iodado (Harmon et al., 1990). As amostras foram obtidas por meio de um *pool* dos tetos, sendo armazenadas em frascos esterilizados e sem conservantes, totalizando 40mL. Todas as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelo reciclável, mantidas refrigeradas durante o transporte até o laboratório multiusuário de Microbiologia do Centro de Pesquisa de Alimentos da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, para a realização dos procedimentos laboratoriais.

Os procedimentos realizados durante o manejo dos bovinos e as colheitas das amostras atenderam as normas éticas e princípios de bem-estar animal preconizados pela Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos (DBCA) do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) vinculado ao Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação.

Para análise dos resultados foi realizado um estudo descritivo das variáveis quantitativas estudadas, empregando-se a distribuição de frequência (%) (Pereira et al., 2018).

Ensaio analítico

As amostras de leite cru foram submetidas à contagem de *Staphylococcus* spp., determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 35°C e Coliformes a 45°C, Contagem de bactérias aeróbias mesófilas e Contagem de bactérias aeróbias psicotróficas, segundo metodologia recomendada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil, 2003) e o *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (Apha, 2001).

Preparo das diluições decimais seriadas e sucessivas

Após a homogeneização das amostras, foram realizadas as diluições decimais seriadas e sucessivas com transferência de alíquotas de 1 ml da amostra (diluição 10^0) para tubos contendo 9 ml de água peptonada esterilizada a 0,1%, compondo as diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} (Brasil, 2003).

Contagem padrão de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis

Para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, alíquotas de 1ml das diluições 10^0 a 10^{-2} , foram inoculadas em placas de Petri, utilizando-se a técnica de profundidade, com adição de 15ml de ágar Padrão de Contagem (PCA). Após a homogeneização, procedeu-se a incubação das placas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por um intervalo de 24 a 48 horas, seguida de contagens de colônias, com resultados expressos em UFC/mL (Apha, 2001; Brasil, 2003).

Contagem de microrganismos psicrotróficos

Para a contagem de microrganismos psicrotróficos foram utilizadas as diluições decimais 10^0 a 10^{-2} das amostras de leite. Alíquotas de 100 μl de cada diluição foram semeadas em ágar Padrão de Contagem (PCA) com o auxílio de alça de Drigalsky esterilizada, seguido a técnica de espalhamento em superfície, incubação a 7°C por sete dias, contagem de colônias e expressão de resultados em UFC/mL (Brasil, 2003).

Determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 35°C e a 45°C

Alíquotas de 1 ml das diluições 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} foram submetidas aos testes presuntivo e confirmativo para coliformes, utilizando-se uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato de Sódio, por diluição (Brasil, 2003). Os tubos foram incubados a 35°C por 24-48 horas, e aqueles que apresentaram turvação do meio e formação de gás nos tubos de Durham, tiveram alíquotas transferidas para tubos com Caldo Verde Brilhante Bile Lactose 2% (Caldo VBBL) com posterior incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas. A leitura do resultado se baseou na formação de gás nos tubos de Durham invertidos ou efervescência quando agitado.

No teste confirmativo de coliformes a 45°C , foram transferidas alíquotas do Caldo Lauril Sulfato de Sódio para o Caldo EC, sendo incubados em banho-maria a $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ por

24-48 horas. A presença de coliformes a 45°C se deu pela leitura dos tubos e observação quanto a formação de gás ou efervescência após sutil agitação.

Os resultados foram anotados em planilhas, sendo a determinação do número mais provável de coliformes a 35°C e a 45°C realizada pela leitura na tabela de Hoskins (Brasil, 2003).

Contagem de *Staphylococcus coagulase positivo*

O procedimento para contagem de *Staphylococcus* spp. foi baseado na inoculação de 0,1 ml em ágar Baird-Parker, com a utilização da técnica de plaqueamento em superfície, com auxílio de alça de Drigalsky, e incubação das placas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 a 48 horas (Brasil, 2003).

Procedeu-se a leitura das placas pela presença de colônias típicas e atípicas, seguida da confirmação do gênero e espécies, com a inoculação de 3 a 5 colônias de cada tipo em tubos contendo Caldo Brain Heart Infusion (BHI) e incubação a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Os cultivos foram submetidos à prova de coagulase e ao teste complementar de coloração de Gram.

3. Resultados e Discussão

O perfil microbiológico do leite bovino de raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro quanto a contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Staphylococcus coagulase positivo* e a determinação do Número Mais Provável de coliformes a 30°C e a 45°C foram apresentados no Quadro 1.

Considerando a microbiota mesofílica, grupo que abrange a maioria das bactérias de uso industrial e também podem indicar a presença de microrganismos deteriorantes e patogênicos, observou-se que os valores encontrados neste estudo foram inferiores aos relatos presentes na literatura, assim como aos parâmetros determinados para Contagem Padrão em Placas (CPP) de máximo $3,0 \times 10^5$ UFC/ml definidos pela Instrução Normativa n. 76 (Brasil, 2018) que regulamenta os requisitos de identidade e qualidade do leite cru refrigerado.

Quadro 1. Valores da contagem de microrganismos aeróbios mesófilos, psicrotróficos, *Staphylococcus* coagulase positiva e da determinação do número mais provável de coliformes a 30°C e 45°C em amostras de leite cru das raças bovinas Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro.

Ensaio analítico	Raça Curraleiro Pé-Duro	Raça Pantaneiro
Contagem de microrganismos aeróbios mesófilos (UFC/mL)	$7,5 \times 10^1 - 8,7 \times 10^3$ UFC/ml	$1,8 \times 10^2 - 8,6 \times 10^2$ UFC/ml
Contagem de psicrotróficos (UFC/mL)	2 - $1,4 \times 10^2$ UFC/ml	$2,6 \times 10^1 - 1,4 \times 10^2$ UFC/ml
Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo (UFC/mL)	4 - $5,2 \times 10^2$ UFC/ml	$1,1 \times 10^2 - 7,6 \times 10^2$ UFC/ml
Determinação do Número mais provável de coliformes a 30°C (NMP/mL)	2,0 - 40,2 NMP/ml	0,6 - 21,9 NMP/ml
Determinação do Número mais provável de coliformes a 45°C (NMP/mL)	0,9 - 14,8 NMP/ml	0,4 - 20,3 NMP/ml

Fonte: Autores (2020).

Cabe ressaltar que o leite analisado, para as duas raças, pode ser classificado como banco genético diferenciado, devido às características de rusticidade para os dois sistemas de criação, não pautados em exploração leiteira. Isso significa que, apesar do menor aparato tecnológico e práticas mínimas de incremento em produção, associadas aos cuidados de higiene de ordenha, obteve-se nas ocasiões avaliadas, matéria-prima de melhor valor microbiológico.

A concentração de bactérias mesófilas encontradas no leite cru pode variar significativamente, podendo ser utilizada no monitoramento de rebanhos leiteiros, na avaliação de alterações na sanidade da glândula mamária e procedimentos técnicos e sanitários que envolvem a obtenção do leite (Jayarão & Henning, 2001).

Soares e Barros (2010) na avaliação de amostras de leite cru comercializados no Recôncavo Baiano, constataram que a média de microrganismos mesófilos variou entre $1,27 \times 10^4$ UFC/mL e $6,35 \times 10^8$ UFC/mL. Posteriormente, Mata et al. (2012) ao avaliarem a

qualidade microbiológica da matéria-prima em uma cooperativa de laticínios da cidade de São José dos Campos, São Paulo, observaram valor médio de bactérias heterotróficas mesófilas, aeróbias estritas e facultativas viáveis em torno de $3,1 \times 10^5$ UFC/ml, valores acima do preconizado por Brasil (2018) para contagem padrão em placas do leite cru.

Nero et al. (2009) avaliaram a qualidade microbiológica do leite obtido em propriedades rurais com diferentes níveis de produção diária. Considerando os valores médios na contagem de mesófilos, as propriedades com baixa produção diária (< 50 l) apresentaram menor média quando comparados aos outros níveis ($5,1 \pm 0,8$ UFC/ml), seguidos de propriedades com 50-100 litros diários produzidos ($5,8 \pm 1,2$ UFC/ml) e propriedades > 100 litros produzidos, com $6,2 \pm 1,2$ UFC/ml. Considerando a contagem de microrganismos psicrotróficos, os autores não observaram diferenças significativas entre os resultados obtidos por propriedades com volumes de produção diária diferenciadas. Estes resultados demonstram que independentemente do nível de produção, as propriedades apresentavam deficiências nos procedimentos de higiene na obtenção e armazenamento do leite.

Apesar das propriedades avaliadas neste estudo não realizarem a exploração leiteira, os procedimentos adotados para coleta de amostras preconizaram medidas higiênicas como antisepsia dos tetos, utilização de luvas e utensílios limpos para não comprometer a avaliação microbiológica do leite. Entretanto, verifica-se a necessidade de capacitação dos funcionários das propriedades visando as boas práticas agropecuárias caso haja interesse na utilização dos animais para obtenção de leite de forma adequada.

Os valores encontrados para psicrotróficos neste estudo foram baixos (Quadro 01), quando comparados à literatura compilada (10^4 - 10^5 UFC/mL). Apesar disso, é importante salientar a preocupação na obtenção do leite e principalmente nos procedimentos de armazenamento e processamento deste produto visto que os microrganismos psicrotróficos são provenientes do meio ambiente e equipamentos de ordenha e sua presença no leite pode ser associada à realização de procedimentos de higiene de forma inadequada durante ou após a ordenha ou também à refrigeração do leite (Pinto et al., 2006).

Em relação aos baixos valores encontrados na contagem de *Staphylococcus coagulase* positivo, verificou-se que a menor frequência da bactéria confere menor associação à mastite e ao risco à produção de toxinas estafilocócicas que são resistentes ao processo de pasteurização. Estes achados apontam para possível diferenciação da microbiota, uma vez que o ambiente de criação dos dois rebanhos favorecia a contaminação.

Ataíde et al. (2008) ao avaliarem as características microbiológicas do leite cru de uma indústria de laticínios no Estado da Paraíba, relataram uma contagem média de $3,9 \times$

10^4 UFC/ml para *Staphylococcus* coagulase positivo. Estes valores, apesar de estarem abaixo do intervalo considerado significativo (10^5 - 10^6 UFC/ml) para causar intoxicação alimentar, demonstraram a presença do agente no ambiente de ordenha, provavelmente relacionado aos casos de mastite, da mesma forma que observado neste estudo.

Os valores apresentados no Quadro 1 quanto a presença de coliformes a 30°C e a 45°C revelaram a um baixo nível de contaminação do leite em ambas as raças avaliadas. Considerando que a legislação vigente (Brasil, 2018) não estabelece limites para a presença de coliformes a 30° e 45°C em leite cru, é possível sugerir que os resultados encontrados neste estudo, foram inferiores aos observados na literatura, e podem ter relação com os cuidados utilizados para a coleta de amostras bem como o envolvimento nos casos de mastite de origem ambiental.

Estes resultados diferem do estudo de Soares e Barros (2010) que ao avaliarem amostras de leite cru comercializados no Recôncavo Baiano, constataram valores entre $2,4 \times 10^2$ e $9,3 \times 10^2$ NMP/ml para coliformes a 30°C , indicando falhas no processo de higienização tanto na obtenção do leite quanto comercialização.

Santos et al. (2010) ao identificarem o perfil microbiológico de leite in natura mantido sob refrigeração ou à temperatura ambiente comercializado em estabelecimentos varejistas e informais na Bahia, observaram que o número mais provável de coliformes a 35°C , estiveram entre $9,3 \times 10^2$ e $> 1,1 \times 10^6$ NMP/ml, enquanto para os coliformes a 45°C , os valores obtidos foram de $1,1 \times 10^1$ a $> 1,1 \times 10^6$ NMP/ml. Os autores relataram que a presença de microrganismos indicadores em elevadas proporções no leite in natura pode ser decorrente de práticas inapropriadas na obtenção e conservação do leite. Apesar da comercialização de leite in natura ser proibida, esta prática continua sendo realizada em muitas regiões do país, possibilitando a veiculação de patógenos aos consumidores e a ocorrência de surtos de toxinfecções alimentares.

Martins e Lima (2013) relataram a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado em propriedades rurais de Frutal/MG obtido por ordenha manual e mecânica. Constataram que as médias na contagem de mesófilos variaram de $7,9 \times 10^3$ a $2,2 \times 10^5$ UFC/ml no leite obtido pela ordenha manual, e entre $7,9 \times 10^3$ e $6,4 \times 10^4$ UFC/ml da ordenha mecânica. Na contagem de psicotróficos, os valores encontrados na primeira e última coleta estiveram entre $2,5 \times 10^2$ a $1,3 \times 10^3$ UFC/ml, enquanto no leite obtido por ordenha mecânica, apenas a primeira coleta apresentou crescimento de microrganismos, com contagem de $1,85 \times 10^2$ UFC/ml.

Neste mesmo estudo, os autores relataram a presença de coliformes nos dois tipos de ordenha, sendo verificadas contagens mais elevadas na propriedade de ordenha mecânica,

com resultados entre $4,3 \times 10^2$ e $4,6 \times 10^3$ NMP/ml para coliformes totais e valores de $9,3 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^4$ NMP/ml para coliformes termotolerantes, enquanto que amostras obtidas por ordenha manual apresentaram coliformes totais ($9,2 \times 10^1$ a $4,6 \times 10^3$ NMP/ml) e coliformes termotolerantes, com valores entre $9,3 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^4$ NMP/ml. As observações feitas no estudo puderam constatar que as medidas de higiene na ordenha devem ser praticadas de forma adequada para garantia de qualidade do leite, independente do sistema de ordenha utilizado.

Considerando o tipo de ordenha manual, os resultados observados por este estudo se apresentaram inferiores aos valores encontrados por Martins e Lima (2013), talvez pelas condições ambientais, procedimentos de coleta de amostras, quanto pelas características de resistência das raças avaliadas por neste trabalho.

Barreto et al. (2012) investigaram a qualidade microbiológica do leite in natura comercializado na Bahia, por meio da quantificação de microrganismos mesófilos e psicotróficos, *Staphylococcus* spp., *Staphylococcus* coagulase positivo coliformes (35°C e 45°C). Os resultados encontrados apresentaram valores médios de $1,6 \times 10^9$ UFC/ml para mesófilos; $9,6 \times 10^4$ UFC/ml na contagem de psicotróficos; coliformes a 35°C (4×10^5 NMP/ml) e a 45°C ($3,8 \times 10^5$ NMP/ml) e $7,3 \times 10^5$ UFC/ml na contagem média de *Staphylococcus* coagulase positivo.

Chye et al. (2011) analisaram amostras de leite cru de 360 propriedades rurais em diferentes regiões da Malásia. À partir de 930 amostras, foram relatadas contagens de 12×10^6 UFC/ml para mesófilos, $7,5 \times 10^3$ UFC/ml para psicotróficos e $9,1 \times 10^3$ UFC/ml para termófilos, além de valores entre 10^3 to 10^4 UFC/ml para *S. aureus*, isolados em mais de 60% das amostras. Os autores relataram a contaminação de 90% das amostras por coliformes, sendo 65% amostras positivas (600/930) para *E. coli* apresentando contagens entre 10^3 e 10^4 UFC/ml.

Estes resultados corroboram com a necessidade do controle microbiológico no leite, associado a adoção de boas práticas na ordenha, além do tratamento térmico da matéria-prima na fabricação dos derivados lácteos.

4. Considerações Finais

Sob o ponto de vista sanitário, os baixos níveis de contaminação relacionados aos microrganismos mesófilos, psicotróficos, estafilococos coagulase positivo e coliformes no leite das raças Curraleiro Pé-Duro e Pantaneiro são satisfatórios pois além de atender aos

padrões de qualidade estabelecidos pela legislação, ressaltam a possibilidade de exploração leiteira destas raças, mesmo que em baixo nível de produção, e impulsionam a valorização das potencialidades deste patrimônio genético e cultural do Brasil.

Cabe ressaltar que as observações deste estudo não buscaram estabelecer parâmetros para as raças avaliadas e sim evidenciaram características até então desconhecidas para estes rebanhos. Diante disso, verifica-se a necessidade de mais informações e estudos sobre os aspectos ligados à produtividade e qualidade do leite, na tentativa de esclarecer as particularidades das raças, quanto adaptação, resistência e rendimento, bem como quanto ao perfil das bactérias naturalmente presentes no leite e que podem caracterizar grupos bacterianos capazes de inibir microrganismos patogênicos e deteriorantes, bem como podem aumentar a resistência da glândula à doença.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG) pelo financiamento do projeto de pesquisa. Agradecemos também ao Centro de Pesquisa em Alimentos (CPA) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás pelo apoio técnico.

Referências

Apha - American Public Health Association. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. (4a ed.), Washington, 2001.676p.

Ataíde, W. S., Maciel, J. F., Lima, P. L. A., Lima, A. R. C., Silva, V. G., & Silva, J. (2008). Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 67(1):73-77.

Barreto, N. S. E., Santos, G. C. F., Crepaldi, A. L., & Santos, R. A. R. (2012). Qualidade microbiológica e suscetibilidade antimicrobiana do leite in natura comercializado em Cruz das Almas, Bahia. *Semina: Ciências Agrárias*, 33, (6):2315-26. DOI: 10.5433/1679-0359.2012v33n6p2315.

Bianchini, E., McManus, C., Lucci, C. M., Fernandes, M. C. B., Prescott, E., Mariante, A. S. & Egito, A. A. (2006). Características corporais associadas com a adaptação ao calor em bovinos naturalizados brasileiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41(9), 1443-48.

Bondan, C., Folchini, J. A., Noro, M., Quadros, D. L., Machado, K. M. & González, F. H. D. (2018). Milk composition of Holstein cows: a retrospective study. *Ciência Rural*, 48(12), e20180123. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180123>

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Departamento de Inspeção de Produtos de origem Animal. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Diário Oficial da União. Set. 2003

Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 76, de 2018. Dispõe sobre os Regulamentos Técnicos que fixam a identidade e as características de qualidade que devem apresentar o leite cru refrigerado, o leite pasteurizado e o leite pasteurizado tipo A, na forma desta Instrução Normativa e do Anexo Único. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30.11.2018.

Carmo, A. S., Kolling, G. J., Egito, A. A., Mariante, A. S., Albuquerque, M. S. M., Garcia, J. F., & Silva, M. V. G. B. (2015). Divergência genômica entre as raças bovinas brasileiras localmente adaptadas. *XXV Congresso Brasileiro de Zootecnia Zootec*; 2015; Fortaleza, Brasil. Fortaleza: Zootec; 2015. 1-3.

Carvalho, G. M. C., Fé da Silva, L.R., Almeida, M.J.O., Lima Neto, A.F. & Beffa, L.M. (2013). Avaliações fenotípicas da raça bovina Curraleiro Pé-Duro do Semiárido do Brasil. *Archivos de Zootecnia*, 62 (237), 9-20.

Chye, F. Y. Abdullah, A & Ayob, M.A. (2004). Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology*, 21(5), 535-41. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2003.11.007>

Félix, G. A., Piovezan, U., Juliano, R. S., Silva, M. C. & Fioravanti, M. C. S. (2013). Potencial de uso de raças bovinas locais brasileiras: Curraleiro Pé -Duro e Pantaneiro. *Enciclopédia Biosfera*, 9(16), 1715.

Fioravanti, M. C. S., Juliano, R. S., Costa, G. L., Abud, L. J., Cardoso, V. S., Carpio, M. G., & Costa, M. F. O. (2011). Conservación del bovino Curraleiro: cuantificación del censo y caracterización de los criadores. *Animal Genetic Resources*, 48: 109-116.

Fioravanti, M. C. S., Neiva, A. C. G. R., Moura, M. I., Oliveira e Costa, M. F., Monteiro, E. P., Monteiro, E. P. & Sereno, J. R. B. (2012). Kalungas e Curraleiro Pé-Duro: O resgate de uma tradição. *Revista UFG*, 13 (13), 100-112.

Georgescu, M., Savu, C., Neagu, J., & Georgescu, D. (2014). Coliform bacteria contamination profiling of raw milk cheeses using statistical assessment of type-linked correlations. *AgroLife Science Journal*, 3(2). 35-38.

Harmon, R. J., Eberhart, R. J., & Jasper, D. E. (1990). Microbiological procedures for diagnosis of bovine udder infection. Arlington: National Mastitis Council. 34p.

Heck, J. M., Valenberg, H. J. F., Dijkstra, J., & Hooijdonk, A. C. M.(2009). Seasonal variation in the Dutch bovine raw milk composition. *Journal of Dairy Science*, 92, 4745-4755. 2009. doi: 10.3168/jds.2009-2146.

Jayarao, B. M., & Henning, D. R. (2010). Prevalence of Foodborne Pathogens in Bulk Tank Milk. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2157-62.

Lambertz, C., Sanker, C., & Gauly, M. Climatic effects on milk production traits and somatic cell score in lactating Holstein-Friesian cows in different housing systems. *Journal of Dairy Science*, 97, 319-329. doi: 10.3168 / jds.2013-7217.

Marques Junior, H. R., Juliano, R. S., & Abdo, Y. (2012). Bovino Pantaneiro: retrospectiva histórica e fomento à raça. *Unbral Fronteiras*, 42, 71-86.

Martins, E. S., & Lima, C. M. F. (2013). Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado obtido de propriedades rurais do município de Frutal-MG: comparação das ordenhas mecânica e manual. *Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial*, 7(1), 955-64. doi: <http://dx.doi.org/10.3895/S1981-36862013000100008>

Mata, N. F., Toledo, O. S., & Pavia, P. C. (2012). A importância da pasteurização: comparação microbiológica entre leite cru e pasteurizado, do tipo B. (2012). *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 384(67), 66-70.

Menezes, M. F. C., Simeoni, C. P., Etchepare, M. A., Huerta, K., Bortoluzzi, D. P., & Menezes, C. R. (2014). Microbiota e conservação do leite. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental*, 18(5), 76-89. doi: <http://dx.doi.org/10.5902/2236117013033>

Nero, L. A., Viçosa, G. N., & Pereira, F. E. V. (2009). Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 29(2), 386-90.

Pereira, A. S., et al (2018). Metodologia da pesquisa científica. [free ebook]. Santa Maria: UAB/NTE/UFSM. Recuperado de https://www.ufsm.br/app/uploads/sites/358/2019/02/Methodologia-da-Pesquisa-Cientifica_final.pdf

Pinto, C. L. O., Martins, M. L., & Vanetti, M. C. D. (2006). Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrotróficas proteolíticas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 26(3), 645-651.

Santos, G. C. F., Crepaldi, A. L., Silva, R. A. R., Cazetta, M. L., & Barreto, N. S. E. (2010). Identificação de *Escherichia coli* em leite in natura mantido refrigerado ou à temperatura ambiente obtido em estabelecimentos varejistas e informais. Reunião Regional da SBPC no Recôncavo da Bahia; 2010; Cruz das Almas, Brasil. Anais/Resumos da Reunião Regional da SBPC no Recôncavo da Bahia/BA.

Schalm, O. W., & Noorlander, B. S. (1957). Experiments and observations leading to development of the California Mastitis Test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 30(5), 199-204.

Schalm, O. W., Carroll, E. J., & Jain, N. C. (1971). Bovine mastitis. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971.360p.

Soares e Barros, L. S., Oliveira, L. P., Cerqueira, M. G., Silva, V. C., & Oliveira, R. S. (2010). Análise microbiológica do leite cru consumido em cinco cidades do Recôncavo Baiano. Reunião Regional da SBPC no Recôncavo da Bahia; 2010; Cruz das Almas, Brasil. Anais/Resumos da Reunião Regional da SBPC no Recôncavo da Bahia/BA - ISSN 2178-3969: SBPC; 2010.

Souza, L. F., & Castro, M. L. L. (2015). Qualidade microbiológica do leite cru no município de Pontalina, GO. *Revista Analytica*, 58-64.

Yamazi, A. K., Moraes, P. M., Viçosa, G. N., Ortolani, M. B. T., & Nero, L. A. (2010). Práticas de produção aplicadas no controle de contaminação microbiana na produção de leite cru. *Biosciene Journal*, 26(4), 610-8.

Zingone, F., Bucci, C., Iovino, P., & Ciacci, C. (2017). Consumption of milk and dairy products: Facts and figures. *Nutrition*, 33(1), 322–325. doi:10.1016/j.nut.2016.07.019.

Porcentagem de contribuição de cada autor no manuscrito

Marília Cristina Sola – 40%

Janaína Costa Feistel –10%

Fernanda Antunha de Freitas – 10%

Maria Clorinda Soares Fioravanti – 10%

Raquel Soares Juliano –10%

Cíntia Silva Minafra e Rezende – 20%