

Revisão de literatura
QUALIDADE DO LEITE CAPRINO

Goat Milk Quality

Vinicius Brack Gestaro¹, Verônica Schmidt²

Resumo

A qualidade do leite pode ser mensurada individualizada por animal (teto) ou no leite de conjunto/rebanho. No leite individualizado pode-se diagnosticar a infecção da glândula mamária (mastite) e, no leite de conjunto, parâmetros de qualidade no processamento deste, desde a ordenha até o transporte ao laticínio. No presente estudo realizou-se uma revisão dos procedimentos de diagnóstico de mastite (CMT, CCS e isolamento bacteriano) no leite individual e parâmetros de qualidade no leite de rebanho (avaliação físico-química e microbiológica).

1. Introdução

O leite constitui um dos principais alimentos, sendo uma das principais fontes proteicas para os humanos, assim como importante alimento do recém-nascido para muitas espécies de interesse zootécnico.

A mastite é uma das principais enfermidades do gado leiteiro em todo o mundo. É capaz de determinar consideráveis perdas econômicas devido à redução na produção e qualidade do leite, diminuição na produção de produtos lácteos, perda da capacidade secretora, eliminação precoce dos animais, custo com assistência veterinária e custo do tratamento.

Entre as diferentes causas de mastite, os principais responsáveis são as bactérias, destacando-se o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, especialmente na espécie bovina. A principal causa de insucesso no tratamento contra a mastite é o uso irregular e indiscriminado de antimicrobianos, sem que haja estudos sobre a eficiência destes produtos, sendo responsável pela seleção de linhagens resistentes de bactérias.

¹Zootecnista, E.mail: vinicius.gestaro@gmail.com

²Veterinária, Professora Titular da Faculdade de veterinária, UFRGS- E.mail: veronica.schmidt@ufrgs.br

Estudos realizados no RS quanto à susceptibilidade bacteriana em relação a antimicrobianos revelaram que o *S.aureus* é altamente resistente à penicilina, entretanto em menor grau à tetraciclina, estreptomicina, cloranfenicol e ampicilina, entre outros.

A caprinocultura leiteira no RS está crescendo gradativamente, devido ao aumento no consumo de leite e seus derivados, bem como a regulamentação da produção industrial do leite de caprino.

O leite caprino tem uma grande importância na alimentação devido à sua constituição nutricional, sendo procurado como alternativa para aqueles indivíduos que possuem intolerância ao leite bovino. Há registro no aumento do consumo de iogurte e queijos.

Entretanto, observa-se que a mastite em cabras tem despertado pouca atenção da comunidade científica, por isso são poucos os dados disponíveis sobre o assunto, particularmente no Sul do Brasil.

Em caprinos, conforme os dados disponíveis, as bactérias Gram-positivas, entre elas *Staphylococcus* e *Streptococcus* são, também, os mais prevalentes.

Ao lado disto, são pouco conhecidas as condições higiênico-sanitárias em que ocorre a ordenha e armazenamento do leite nas propriedades que exploram a caprinocultura leiteira. Entre os indicadores da qualidade higiênico-sanitária que são comumente utilizados encontram-se a contagem de coliformes e estafilococos coagulase positivos.

Os coliformes são indicadores de contaminação fecal e do risco da presença de microrganismos patogênicos que podem interferir na qualidade do leite e determinar o aparecimento de infecções ao consumidor. Os estafilococos são de grande importância, principalmente aqueles coagulase positiva, pois podem produzir enterotoxinas que são termoestáveis podendo, mesmo após a pasteurização, chegar ao consumidor.

As condições inadequadas de qualidade do leite poderão resultar em doença nos consumidores e perda de suas características levando, assim, a prejuízos financeiros pela rejeição do produto.

Entre estas perdas destaca-se a acidificação decorrente da multiplicação bacteriana no leite durante o período de transporte até a indústria, associado ao tempo de armazenamento, muitas vezes prolongado.

Os fatores que determinam esta ocorrência podem tanto estar associados à contaminação bacteriana por um elevado índice de animais com mastite subclínica e/ou precária qualidade sanitária. Assim, uma investigação justifica este estudo.

O objetivo do presente estudo é realizar uma revisão dos procedimentos de diagnóstico de mastite (CMT, CCS e isolamento bacteriano) no leite individual e parâmetros de qualidade no leite de rebanho (avaliação físico-química e microbiológica).

2. Material e Métodos

Realizou-se uma pesquisa descritiva exploratória, utilizando-se dados secundários e revisão bibliográfica utilizando-se publicações científicas e material de divulgação/circulação, como jornais. Esse tipo de pesquisa é apropriado quando o explorador busca desenvolver uma pesquisa inicial (Leite, 2008). Uma de suas características é a flexibilidade e a versatilidade em relação aos demais métodos (Malhotra, 2001).

3. Revisão Bibliográfica

A qualidade pode ser mensurada no leite individualizado por animal (teto) ou no leite de conjunto/rebanho. No leite individualizado pode-se diagnosticar mastite através do CMT, CCS ou isolamento bacteriano. No leite de rebanho, pode-se realizar CCS, avaliação físico-química e microbiológica. Estes serão os temas alvo da presente revisão.

3.1 Mastite

A mastite é uma inflamação que ocorre na glândula mamária e pode apresentar-se na forma clínica ou subclínica sendo causada, na maioria dos casos, por microrganismos entre esses, as bactérias são os principais agentes etiológicos. Ocorre durante todo o ano, em todos países e regiões, quase sempre durante o período de lactação (Schalm et al., 1971). Na forma clínica os animais apresentam sinais aparentes da doença, dentre eles, endurecimento e dor na glândula, edema, aumento da temperatura, resquícios de pus, grumos ou outras alterações no leite (Gyles et al., 2004).

A forma subclínica se caracteriza por alterações no leite, como aumento de CCS, diminuição na lactose, gordura e caseína, mas sem visualização de sintomas. Este tipo de mastite precisa de testes auxiliares para ser detectada (Medeiros, 1994).

A ocorrência desta doença sofre influência ligada a fatores genéticos, idade, machucados, outras doenças e fase de lactação, além da falta de higiene na ordenha, equipamentos e instalações (Boscos et al., 1996). A mastite causa vários danos no sistema de

produção leiteiro, pelas perdas econômicas e diminuição da qualidade e volume do leite, tempo despendido com tratamentos e descarte de animais, além do risco de contaminação dos outros animais do rebanho (Kitchen, 1981).

A mastite é considerada uma das doenças mais importantes que acometem os rebanhos de caprinos leiteiros. Atribui-se a ela perdas na produção e, conseqüentemente, prejuízos econômicos ao produtor e à indústria (Fonseca; Santos, 2000).

As principais razões que levam à perda econômica são:

- * Redução da produção de leite;
- * Alto custo do tratamento e do serviço;
- * Diminuição no lucro do produtor devido à perda do leite que não deve ser levado à indústria após o tratamento do animal com antimicrobianos;
- * Redução da produção de leite pelo menor período de lactação;
- * Perigo de transmissão da mastite para outros animais, quando esta for infecciosa;
- * Demanda de maior tempo no manejo higiênico;
- * Substituição dos animais cronicamente afetados.

As perdas na produção de leite de cabra portadoras de mastite subclínica, de acordo com o grau de infecção, variam de 55 kg a 132 kg de leite/ano e uma perda de 3g de gordura/kg leite por animal (Baudry et al.,1997).

Também se observa prejuízo na indústria devido ao leite proveniente de glândulas mamárias afetadas. Este leite apresenta redução nos teores de gordura, caseína e lactose, enquanto que o pH, glicogênio, proteínas do soro e cloretos estarão elevados, interferindo nos processos industriais (Krug et al.,1990).

De acordo com Krug et al., (1990), existem alguns fatores predisponentes que levam o animal a ter mastite. Entre esses podemos destacar:

a) Hereditariedade: Fatores adquiridos geneticamente aumentam a suscetibilidade do animal frente à mastite. Entre eles pode-se citar o tamanho e inserção do úbere e a conformação e tamanho do teto. Animais que apresentam úbere muito grande e pendentes serão mais predispostos à traumatismos. Já as características relacionadas ao teto estão mais associadas a problemas no momento da ordenha.

b) Idade: Animais mais velhos são mais susceptíveis, pois a sequência de lactações vai aumentando as lesões internas dos tetos e da glândula mamária e provocando um maior

relaxamento do esfíncter mamário. Ao lado disto, a proteção natural da parede interna do teto (camada serosa) contra a invasão de agentes patogênicos diminui com a idade.

c) Estágio de Lactação: No início e no final da lactação há uma predisposição maior para a instalação de mastite. Na fase inicial está relacionada ao edema fisiológico da glândula mamária, o qual ocorre no momento do parto devido à retenção de líquido na pele, tecido subcutâneo e no interstício do úbere, permanecendo por um período após o parto. No final da lactação, há maior propensão devido ao esgotamento irregular e consequente retenção de leite.

d) Traumatismo: Traumatismos de origens diversas, como quedas, acidentes com arame farpado, mordedura de animais, coices, pancadas, cabeçadas, pisoteio nos tetos, introdução incorreta da cânula intra-mamária, entre outros, lesionam o tecido secretor, permitindo a entrada de microrganismos patogênicos. Arranhões, contusões e cortes provocados pela vegetação alta e pelo terreno acidentado também contribuem para o aparecimento da mastite.

e) Doenças infecciosas: Lesões provocadas nos tetos pelo vírus da Febre Aftosa e da Artrite Encefalite Caprina (CAEV) são agravadas pela ordenha, facilitando o aparecimento da mastite.

f) Ordenha incompleta e falta de higiene na ordenha: O leite que fica no úbere, devido à ordenha incompleta, principalmente aquele que fica na cisterna do teto, constitui-se num excelente meio de cultura para a multiplicação de microrganismos. Da mesma forma panos e mãos sujas, além da desinfecção malfeita do úbere, antes e depois da ordenha, estão entre os principais fatores que colaboram para instalação de mastites.

A negligência na limpeza e na desinfecção dos equipamentos da ordenha, principalmente nas teteiras, propicia o desenvolvimento de microrganismos nos resíduos de leite que ficam em suas paredes. Copos mal ajustados, com borrachas velhas, pouca flexibilidade, vácuo muito intenso ou irregular e pulsação muito rápida podem causar traumatismo nos tetos e favorecer o aparecimento da mastite.

De acordo com Chapaval (2009), no processo de ordenha mecânica, o leite é retirado pela diminuição da pressão externa devido à força do vácuo exercida pela máquina de ordenha. Portanto, a definição do nível de vácuo (medido em unidades de pressão, tais como Milímetros de Mercúrio - mmHg e quilo Pascal - kPa) tem que levar em consideração o tipo de sistema de ordenha (Quadro 1); tão importante quanto o ajuste do nível de vácuo adequado, é a manutenção da constância do nível de vácuo, evitando flutuações.

Quadro 1: Nível de vácuo recomendado para ordenha mecânica de cabras leiteiras.

Linha alta.....	47-51 kPa
Linha com garrafão central.....	46-49 kPa
Linha baixa.....	42-46 kPa

Fonte: Chapaval (2009)

A mastite pode apresentar-se na forma clínica e subclínica. Na mastite clínica os animais apresentam sinais evidentes da doença, tais como: edema, aumento da temperatura, endurecimento e dor na glândula mamária e/ou aparecimento de grumos, pus ou qualquer alteração das características do leite.

Já a mastite subclínica caracteriza-se por alterações na composição do leite, tais como aumento na contagem de células somáticas (CCS), aumento de teores de Cloro, Sódio e proteínas séricas, e diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura do leite. Nesse tipo de mastite não existem sinais evidentes da doença, sendo difícil diagnosticá-la sem a utilização de testes auxiliares (Fonseca; Santos, 2000).

Alguns dados de ocorrência de mastite em caprinos em outros países são relatados: 36,4% em Connecticut e Rhode Island; 38,2% em Nova Iorque (White; Hinckley, 1999); 54,4% na Califórnia (East et al., 1987); 18% na Espanha (Poutrel; Lerondelle, 1982); 36% na Inglaterra (Manser, 1986); e 36,2% na França (Contreras et al., 1997).

Mota et al. (2000) referem-se que a prevalência de mastite subclínica em criações leiteiras pode variar entre 22% e 75% dos animais e de 10% a 68% das metades da glândula mamária.

Para o diagnóstico correto desta enfermidade são utilizados alguns métodos como o CMT (*Califórnia Mastite Teste*), exame clínico, análises microbiológicas e contagem de células somáticas (CCS).

3.1.1 *Califórnia Mastitis test (CMT) no diagnóstico de mastite*

O CMT é um teste muito prático, pois, pode ser realizado no capril durante a ordenha e tem como princípio a estimativa da contagem células somáticas no leite. Para tal, utiliza-se um detergente aniônico neutro que atua rompendo a membrana das células presentes na amostra de leite e liberando o material nucléico (DNA), o qual apresenta alta viscosidade. Dessa forma, o resultado do teste é avaliado em função do grau de viscosidade da mistura de partes iguais de leite e reagente (2mL), sendo o teste realizado em bandeja apropriada (Figura 1). Os resultados

são expressos em cinco escores: negativo, traços, um, dois ou três sinais positivos (Fonseca; Santos, 2000; Poutrel & Lerondelle, 1982).

Figura 1: Teste do Califórnia Mastitis Test - CMT



Fonte: autores

Células somáticas são células da corrente sanguínea, como leucócitos, e também provenientes da descamação natural do epitélio glandular secretor. Sua contagem pode ser afetada por época de lactação, raça e manejo (Marth & Steele, 2001).

O leite de cabra apresenta altos teores de célula somática, ocasionadas pela perda de epitélio alveolar em face de processos fisiológicos. Este fator pode interferir com a sensibilidade e especificidade de testes, em comparação com a espécie bovina. Por esta razão, há diferentes interpretações dos resultados obtidos no CMT com leite de cabras (Santos et al., 1995). Estes autores apontam em caprinos o CMT como o mais indicado para o diagnóstico rápido de CCS. Entretanto, a sua interpretação, em relação a essa espécie é bastante contraditória, considerando-se positivo quando ≥ 1 e ≥ 2 . Além disto, na interpretação do CMT deve-se considerar comparativamente os resultados de ambas as metades da glândula mamária. Dependendo do estágio de lactação, cabras podem apresentar escores elevados no CMT em ambas as metades, o que é mais indicativo de um estado fisiológico do que de mastite bilateral (Santos et al., 1995).

Já Winter & Baumgartner (1999) concluíram que o CMT não é um teste específico para infecções de metades do úbere. Entretanto, o CMT pode ser utilizado como uma ferramenta

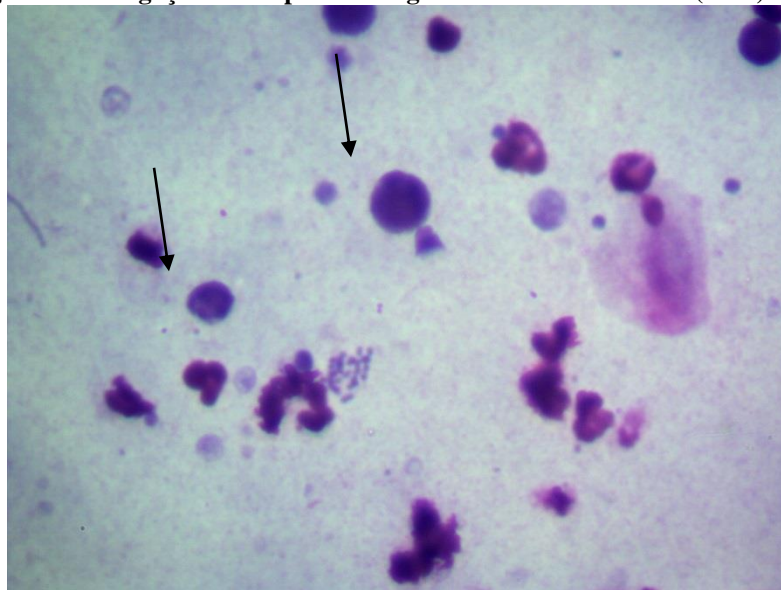
adicional no diagnóstico em relação à mastite caprina, mas não deve ser superestimado porque diferentes fatores influenciam na contagem de células.

Ndegwa et al. (2000) relataram que a proporção de amostras de leite positivas em exames bacteriológicos era significativamente mais alta que aquelas positivas para CMT e contagem de leucócitos. Concluíram, desta forma, que existe uma correlação significativa entre o CMT e contagem de leucócitos, mas não concordância entre o isolamento bacteriano e CMT.

3.1.2 Contagem de Células Somáticas (CCS) no diagnóstico de mastite

Uma forma menos rápida de determinar a CCS é a contagem microscópica de células somáticas. Essa contagem é realizada em uma lâmina com esfregaço leite realizado numa área de 1cm² e submetidas a colorações específicas (Figura 2). Em rotina de análise de leite deve-se fazer a contagem de no mínimo de 25 campos. O total do número de células contadas é multiplicado pelo fator de correção para o microscópio utilizado, obtendo-se o número de cel/mL de leite.

Figura 2: Esfregaço de leite para contagem de células somáticas (CCS)



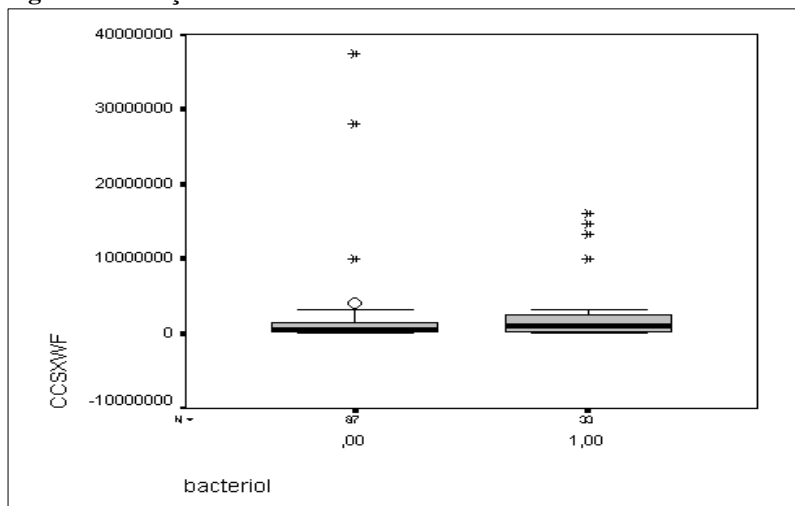
Fonte: autores

As células contadas obtidas pelo método microscópico tendem a diminuir quando o leite envelhece, por causa da perda da integridade celular e fragmentação. A maior diminuição ocorre entre o primeiro e o segundo dia de estocagem, sendo que o número declina mais rapidamente em amostras com menor contagem de células. Por esta razão a contagem deve ser realizada nas primeiras 24 horas após a coleta (Schalm et al.,1971).

Em caprinos, tem sido proposto como leite mastítico aquelas amostras que tiverem contagem de células somáticas igual ou maior que 1×10^6 céls/mL enquanto em bovinos a contagem proposta é de 5×10^4 (White; Hinckley, 1999).

Contudo, não existe um parâmetro para CCS em caprinos, observando-se isolamento bacteriano tanto em baixas como altas contagens de células somáticas, resultando em confundimento quanto à identificação de animais com mastite subclínica (Figura 3).

Figura 3: Relação entre resultado da CCS e isolamento bacteriano



Fonte: autores

Apesar de ainda não possuir um padrão para caprinos, a contagem de células somáticas representa uma forma de detecção de mamite e contagens a partir de 10^6 células/mL tem sido usada como base para leite com mamite nesta espécie (Paes et al., 2003).

Para a contagem de células somáticas automatizada, após homogeneização do leite ordenhado, cerca de 50 mL de leite é coletados em frasco contendo bromopol e encaminhado para laboratório de referência para contagem.

3.1.3 Isolamento e identificação do agente causal no diagnóstico de mastite

A mastite também pode ser classificada de acordo com o agente causador, como contagiosa e ambiental (Fonseca; Santos, 2000).

A mastite contagiosa apresenta baixo número de casos clínicos e alta ocorrência de casos subclínicos, geralmente de longa duração ou crônicos, acompanhada de alta contagem de células somáticas (CCS). Essa mastite é causada por patógenos cujo habitat preferencial é a glândula mamária e a superfície da pele dos tetos. Com isso, a transmissão ocorre durante a ordenha, sendo necessário um elemento de ligação entre o quarto infectado e um quarto sadio.

Na maioria das vezes, isso ocorre pelas mãos do ordenhador, pano/esponja para secagem dos tetos (quando utilizado em mais de um animal) e teteiras.

Então, a transmissão de mastite contagiosa ocorre, principalmente, pela colonização da pele dos tetos e não pela entrada direta do agente no interior da glândula mamária, especialmente naqueles rebanhos nos quais o equipamento de ordenha está bem regulado (Fonseca; Santos, 2000).

Para o exame bacteriológico de amostras do leite individualizadas por teta, procede-se à antissepsia dos tetos com algodão embebido em álcool 70°GL (Figura 4).

Figura 4: Antissepsia de teta caprino para coleta de leite para diagnóstico de mastite.



Fonte: autores

Após a antissepsia, coletam-se de alíquotas de 15 a 20 mL de leite, individualizadas em frasco estéril (Figura 5) e acondicionadas em gelo até a análise. As amostras são semeadas em ágar acrescido de sangue de carneiro (5%), levadas à estufa 35°C, por 24 a 48 horas. Após, realiza-se a identificação bacteriana (Mac Fadin, 1977).

Figura 5: Amostras de leite caprino para diagnóstico de mastite



Fonte: autores

No laboratório, são retirados 0,01 mL de cada amostra de leite e semeados em Ágar acrescido de 5% de sangue ovino (Figura 6), e incubados a uma temperatura de 37°C por 24-48 horas. Após esta etapa as colônias serão analisadas, contadas e identificadas segundo (Quinn et al.,1998).

Figura 6: Lactocultura em ágar sangue, para diagnóstico de mastite



Fonte: autores

Os principais agentes casuais deste tipo de mastite nos bovinos são: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis*, (Fonseca; Santos, 2000). Em estudos realizados no Rio Grande do Sul por Ferreira et al. (1985) encontraram com maior prevalência *S.aureus* (19,96%), *Staphylococcus epidermidis* (13,28%), *S.agalactiae* (12,05%). Já em outro estudo realizado foram encontrados *S.aureus* (80%) isoladamente ou e em associação com espécies do gênero *Streptococcus* (Lange et al.,1998).

Em caprinos os agentes prevalentes na mastite contagiosa têm sido *Staphylococcus coagulase negativa*, *S.aureus*, *Streptococcus* sp., *S.agalactiae*, *Corynebacterium* sp., *Micrococcus* sp., (White & Hinckley, 1999; Winter & Baumgartner, 1999; Poutrel et al., 1997;

Contreras et al., 1997; Mota et al., 2000). Em estudos realizados no Rio Grande do Sul o agente prevalente foi o *Staphylococcus* sp, mas também foram identificados *Escherichia coli* e *Serratia* sp. como causador de mastite (Schmidt et al., 1992).

S.aureus, devido à sua virulência, é o mais importante patógeno da glândula mamária de caprinos. As infecções por este microrganismo podem ser subclínicas, crônicas, agudas ou gangrenosas. Os infectados servem como reservatórios para futuras infecções dentro do rebanho e podem eliminar intermitentemente o microrganismo no leite (White; Hinckley, 1999).

A mastite ambiental é causada por agentes que vivem, preferencialmente, no ambiente onde está o animal, em locais que apresentam esterco, urina, barro e camas orgânicas. Tem como característica alto número de casos clínicos, geralmente de curta duração, frequentemente com manifestação aguda e com maior concentração nos momentos pré e pós-parto. Já que estes microrganismos estão disseminados por todo o ambiente animal, torna-se impossível erradicar esse tipo de mastite. Esta se manifesta em rebanhos bem manejados e com baixa CCS.

Em relação ao confinamento dos animais, quando adotado de forma incorreta, predispõe ao aumento da ocorrência de mastite ambiental. Em bovinos os principais agentes causadores deste tipo de mastite são os coliformes e estreptococos ambientais.

Streptococcus sp. é um patógeno do meio ambiente e alguns tipos são capazes de produzir mastite crônica no rebanho bovino e caprino, tendo como sinais clínicos atrofia, endurecimento e abscesso no úbere (White; Hinckley, 1999).

É raro em caprinos mastites causadas por bactérias Gram negativas. Porém *Escherichia coli* foi isolada em caprinos; esse organismo está presente no meio ambiente, para reduzir a prevalência de infecção por este agente deve-se conservar o ambiente limpo, tetos secos evitando feridas no mesmo e ordenha limpa (White; Hinckley, 1999).

Surtos de mastite por *Pseudomonas spp* estão associados com tetos molhados, cama molhada e água contaminada (White; Hinckley, 1999).

Em caprinos observa-se ainda uma parcela de amostras onde a contagem de células somática é maior que 1×10^6 céls/ml, mas não há o crescimento de agentes causadores de mastite. A razão para amostras com resultados negativos no isolamento pode estar relacionada, por um lado, com agentes não pesquisados rotineiramente como *Mycoplasma* sp. ou o vírus da Artrite Encefalite Caprina (CAEV).

Outras explicações para aumento de CCS e culturas negativas incluem bactérias intracelulares que não podem ser isoladas facilmente ou o tratamento com antimicrobiano antes da coleta. Aumento de CCS pode ser devido à elevação fisiológica que acontece no final da lactação. Contudo, entre os motivos para o aumento de células somáticas em caprinos em fase

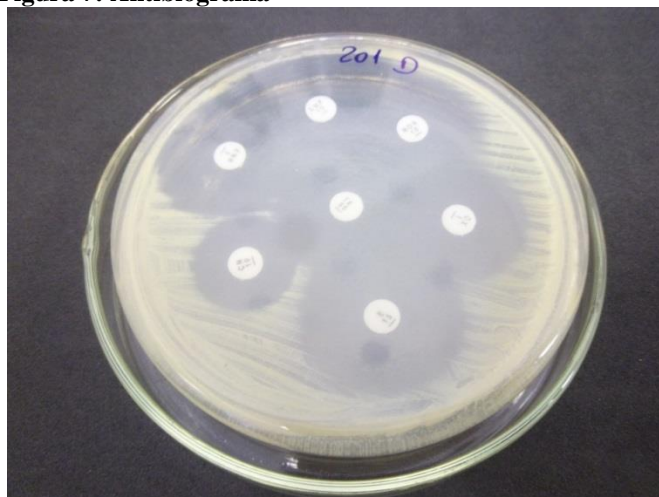
final de lactação pode ser devido a dois fatores: efeito de concentração, já que menos leite é produzido no final da lactação; ou pela presença de substâncias quimiotáticas que atraem leucócitos polimorfonucleares para a glândula mamária (White; Hinckley, 1999).

3.2 Antimicrobianos no tratamento da mastite

Para o tratamento da mastite caprina os antimicrobianos recomendados tem sido gentamicina, cloranfenicol, cefalosporina, penicilina G, novobiocina, estreptomicina, tetraciclina, nitrofurantoína e neomicina (Mota et al., 2000; Poutrel et al., 1997).

Entretanto como medida preventiva em relação à resistência bacteriana, deve-se fazer o cultivo, isolamento e antibiograma (Figura 7) do agente etiológico da mastite, para obter um melhor resultado no tratamento.

Figura 7: Antibiograma



Fonte: autores

3.3 Qualidade o leite de mistura

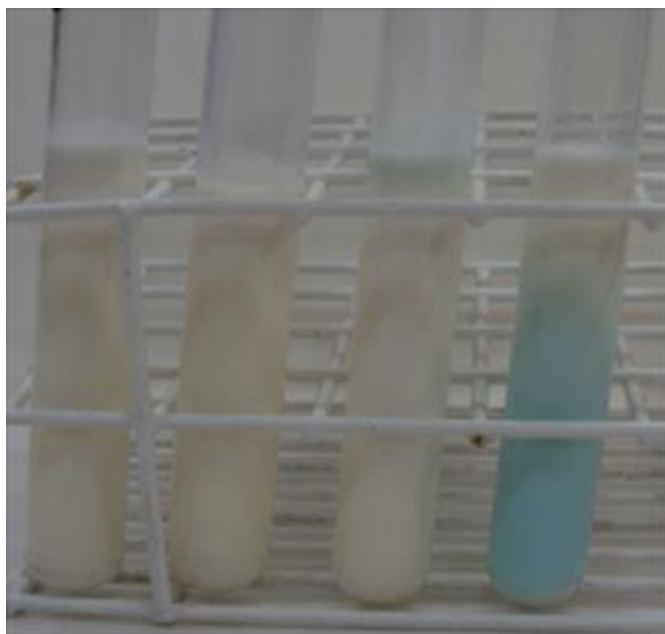
Os parâmetros levados em consideração para a qualidade do leite caprino vêm mudando em concordância com os parâmetros de exigência legal, da indústria e do mercado consumidor, os quais visam a segurança alimentar e a qualidade industrial (Sá, 2004).

A qualidade do leite abrange a capacidade de sofrer processamento, resultando em produtos que assegurem qualidade nutricional, segurança alimentar e características organolépticas.

3.3.1 Parâmetros higiênico-sanitários

A avaliação higiênico-sanitária do leite pode ser feita através de vários métodos. Entre estes encontra-se o teste de redução de azul de metileno (Figura 8), o qual é uma substância indicadora que pode medir o potencial óxido redutor que é reduzido com o crescimento de microrganismos que provocam o consumo do oxigênio presente no leite, levando à produção de substâncias redutoras. Quando introduzido em uma cultura bacteriana ou em qualquer meio contendo bactérias, o azul de metileno age como aceptor de elétrons, ou seja, sofre redução, tornando-se incolor. A velocidade dessa transformação é diretamente proporcional à concentração bacteriana do meio. Sendo assim, é possível a determinação da concentração bacteriana no meio pela adição desse indicador e pela determinação do tempo de descolorimento (Tronco, 1997). Esta técnica tem como inconveniente o fato de que nem todos os microrganismos reduzem os corantes de modo similar (Siqueira, 1995).

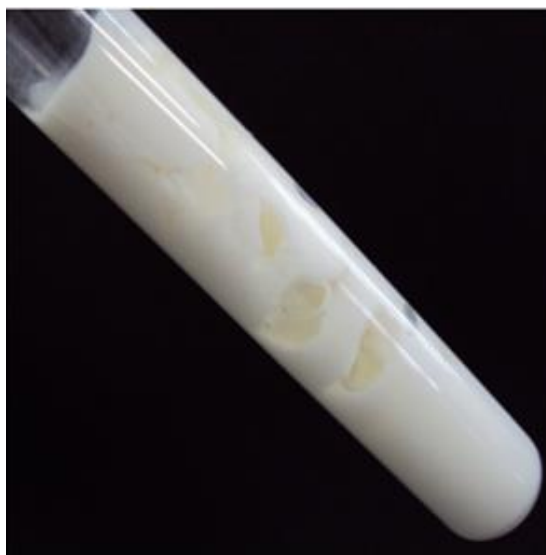
Figura 8: Teste da redução do azul de metileno



Fonte: autores

Outra técnica utilizada é a lactofermentação onde o tipo de coágulo (Figura 9) pode indicar o grupo de microrganismo presente no leite (Fagundes, 1997).

Figura 9: Técnica da lactofermentação



Fonte: autores

O coágulo floculoso se apresenta na forma de coalhada em flocos com presença de soro nas tonalidades branca ou amarelada. Os microorganismos predominantes neste tipo de coágulo são os mofos, leveduras, *Pseudomonas* e *Achromobacter* (microorganismos psicrófilos), além de *Flavobacterium* provenientes, provavelmente, de lavagem ou enxágüe inefficientes de equipamentos. Estes microorganismos podem causar problemas tecnológicos, como sabor desagradável, proteólise, lipólise e sabor de ranço, nos produtos oriundos dessa matéria prima.

O coágulo digerido se apresenta em forma de alvéolos com presença de soro no fundo do tubo. Os microorganismos predominantes neste tipo de coágulo são anaeróbios (predominância do gênero *Clostridium*) com crescimento ótimo de 30 a 37°C e provavelmente provenientes de forragens ensiladas, polpa e fezes, os quais podem causar problemas tecnológicos como estufamento tardio e proteólise, além de possíveis alterações em leite esterilizado e em queijos fundidos.

O coágulo sulcado se apresenta com bolhas de fermentação, semelhante a uma coalhada, com odor desagradável e aspecto esponjoso. As bactérias predominantes neste tipo são as da flora lática, coliformes, *Enterococcus*, *Staphylococcus* e *Micrococcus*, provenientes de recipientes mal lavados, fezes e forragens; podendo ter como consequências tecnológicas o estufamento precoce em queijos, presença de gás nos derivados e sabor desagradável.

O coágulo homogêneo apresenta uma massa compacta e sem soro com pequenas fendas e odor um pouco ácido. As bactérias predominantes são as da flora mesofílica e este possui flora lática abundante.

O coágulo caseoso possui uma coalhada depositada com soro da cor verde. As bactérias predominantes são bacilos esporulados, *Micrococcus*, *Proteus vulgaris* e leveduras,

provenientes de equipamentos mal higienizados, poluição dos estábulos e presença de forragens. Pode ter como consequências proteólise, lipólise, olhaduras e sabor azedo na massa.

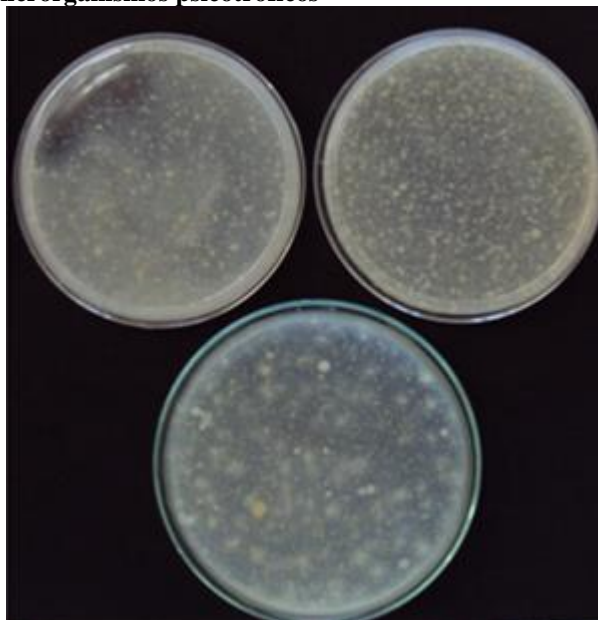
3.3.2 Qualidade microbiológica

A avaliação microbiológica permite controlar a qualidade higiênica aplicada na propriedade leiteira e é de grande importância, pois, microrganismos patogênicos podem ser transmitidos ao homem, comprometendo sua saúde, assim como prejudicar os sistemas de beneficiamento do leite.

Em relação aos parâmetros microbiológicos, a legislação refere que qualquer tipo de impurezas ou elementos estranhos devem estar ausentes no leite. O leite cru não deve conter carga de microrganismos mesófilos superior a 5×10^5 UFC/mL já, o leite pasteurizado, após o processamento na indústria, deve conter de 1×10^4 até 5×10^4 UFC/mL (Brasil, 2000).

A contaminação do leite por microrganismos psicotróficos (Figura 10) é um fator de grande relevância uma vez que estes microrganismos encontram-se presentes na água, solo e animais e facilmente tornar-se um contaminante do leite (Sorhaug & Stepaniak, 1997).

Figura 10: Ágar Padrão para Contagem com microrganismos psicotróficos



Fonte: autores

Microorganismos psicotróficos são aqueles que, apesar de apresentar temperatura ótima de crescimento entre 20 e 40°C. Sobrevivem em temperaturas abaixo de 7°C, que é a temperatura de resfriamento comercial para alimentos. Sendo assim, este grupo se torna importante no ponto de vista da segurança alimentar, uma vez que embora a maioria seja

eliminado pela pasteurização. Possuem capacidade de produzir enzimas extracelulares resistentes a este processo, que degradam os componentes do leite, desenvolvem atividades metabólicas relacionadas com seu processo de crescimento e manutenção que levam a fermentação de carboidratos com a hidrólise de proteínas e lipídeos. Como consequência, geram vários problemas na qualidade de produtos lácteos que estão ligados a ação de lipases e proteases microbianas como as alterações físicas de sabor e odor e problemas no processamento de queijos (Wesseles et al., 1989).

Pseudomonas, *Bacillus*, *Listeria*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Micrococcus*, *Serratia*, *Yersinia* e *Lactobacillus* são os principais gêneros de bactérias psicotróficas de interesse, sendo que entre estes microorganismos alguns são capazes de causar doenças ao homem que venha a consumir leite cru ou mal processado. Estes microorganismos predominam em locais onde há limpeza deficitária de instalações, falta de higiene na ordenha, ineficiência na sanitização dos equipamentos ou descontrole nos sistemas de resfriamento (Siqueira, 1995).

Outro grupo de microorganismos importantes em relação a qualidade microbiológica do leite são os coliformes (Figura 11). Estes, são indicadores de condições higiênicas não favoráveis, deficiência na higienização e sanitização de equipamentos e contaminação pós-produção e, não necessariamente, de contaminação fecal (Siqueira, 1995).

Figura 11: Caldo Bile Verde Brilhante para determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes



Fonte: autores

Coliformes são bastonetes Gram negativos, não esporulados, aeróbios ou aeróbios facultativos com capacidade de fermentar lactose, produzir ácido e gás quando colocados em situação de incubação por 24-48 horas a 36°C. São provenientes do trato intestinal de humanos e animais de sangue quente, além de outros gêneros de bactérias não entéricas (Silva et al., 1997).

Os coliformes termotolerantes são um subgrupo dos coliformes que estão presentes no trato gastrointestinal dos homens e animais de sangue quente. O índice de presença destes microrganismos no leite significa que houve contato com material fecal, ou seja, péssimas condições higiênico-sanitárias. Estes microrganismos fermentam a lactose e produzem ácido e gás, quando incubados a 45°C por 24-48 horas. Neste grupo, há uma grande proporção de *E. coli*, que é um indicador de que existem outros microrganismos entéricos. Alguns de seus sorotipos são responsáveis por gastroenterites em humanos que consomem alimentos contaminados (Siqueira, 1995).

O estudo da presença de coliformes pode ser feita por meios de cultura líquidos se utilizando da técnica do número mais provável (NMP), também conhecida como técnica dos tubos múltiplos. Esta técnica se baseia na fermentação da lactose e produção de gás a partir de diluições seriadas que são inoculadas em três ou cinco tubos e com o resultado da produção de gás se tem a combinação de resultados positivos os quais são aplicados à uma tabela que indica o número estimado de microrganismos naquela amostra (Siqueira, 1995).

Quanto a presença de coliformes, a carga máxima permitida em leite pasteurizado é de 4 NMP de coliformes totais em um mililitro e 1 NMP de coliformes termotolerantes em um mililitro (Brasil, 2000), não havendo menção quanto à presença destes microrganismos no leite cru.

A amostra de leite de mistura será diluída até 10^{-5} em água peptonada e processadas como Silva et al. (1997). Brevemente 1mL de cada diluição será semeada pelo método do “pour plate” em Ágar VRB para contagem de coliformes totais. Após a incubação à 37°C por 24-48 horas serão contadas as colônias. A média da contagem obtida nas duas placas será multiplicada pelo inverso da diluição contada e será interpretada como o número de unidades formadoras de colônia (ufc) de coliformes totais. Os coliformes fecais são confirmados através do cultivo de 5 colônias típicas em caldo EC à $44,5^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas. Tubos com presença de gás após o crescimento serão considerados positivos (Figura 12). A percentagem de colônias confirmada é aplicada na contagem obtida no ágar VRB, sendo consideradas como UFC de coliformes fecais.

Figura 12: Caldo EC para determinação de coliformes termotolerantes



Fonte: autores

Das mesmas diluições realizadas são semeadas alíquotas de 0,1 mL na superfície de ágar Baird-Parker (Figura 13). Após incubação a 37°C por 24-48 horas serão contadas as colônias típicas, sendo 5 delas submetidas à confirmação pelo teste da coagulase em tubo.

Figura 13: Ágar Baird Parker com crescimento de estafilococos



Fonte: autores

Gottardi et al. (2008), ao analisarem o leite de oito unidades produtivas (UP) de caprinos, verificaram contagem de unidades formadoras de colônias típicas de estafilococos coagulase-positiva inferior às atípicas. As contagens de colônias típicas variaram entre 0 e 4×10^3 UFC. mL⁻¹. Nenhuma colônia, típica ou atípica, foi confirmada como estafilococos coagulase-positiva. Esse resultado pode estar relacionado com o fato de serem os estafilococos coagulase-negativa (SCN) os agentes mais encontrados na glândula mamária dos caprinos.

Por outro lado, os autores identificaram coliformes em sete das oito UP visitadas (Tabela 1).

Tabela 1: Contagem de coliformes totais, coliformes fecais e estafilococos coagulase-negativa (UFC mL-1) em amostras de leite de mistura caprino coletadas em duas visitas realizadas a oito propriedades no Rio Grande do Sul.

Propriedades	coliformes totais		coliformes fecais		estafilococos	
	visita 1	visita 2	visita 1	visita 2	visita 1	visita 2
1	$5,2 \times 10^3$	0	0	0	2×10^3	0
2	$1,3 \times 10^5$	$4,3 \times 10^3$	0	$3,4 \times 10^3$	1×10^3	0
3	$1,2 \times 10^4$	0	0	0	6×10^3	0
4	$1,2 \times 10^5$	9×10^3	0	0	3×10^3	1×10^3
5	$1,4 \times 10^4$	9×10^3	0	0	0	1×10^3
6	$1,4 \times 10^6$	8×10^4	0	0	8×10^2	$1,3 \times 10^3$
7	0	0	0	0	0	4×10^2
8	$1,3 \times 10^5$	$6,8 \times 10^3$	0	$4,1 \times 10^3$	3×10^2	4×10^3

Fonte: Gottardi et al. (2008)

Outros microrganismos como *Salmonella* sp., *Listeria* sp. também são avaliados em leite caprino.

3.3.3. Parâmetros físico-químicos

A qualidade do leite, no que diz respeito à composição, é afetada por uma série de fatores, tais como manejo nutricional, manejo sanitário do rebanho e raça. Os aspectos higiênicos são afetados pelo manejo da ordenha, resfriamento e armazenamento do leite (Medeiros, 1994).

A densidade do leite é a relação entre a massa existente e o volume. Este parâmetro serve para detectar fraudes de adição de água ou desnatado. A densidade pode variar de acordo com o tempo decorrido após a ordenha, quanto mais frio maior a densidade por causa da solidificação da gordura, hidratação das proteínas e perdas de CO₂. Esta variável também aumenta à medida que a temperatura de estocagem diminui; a homogeneização também interfere na densidade, pois, os primeiros jatos de leite têm densidade maior porque têm menor teor de gordura (Fagundes, 1997).

A acidez do leite representa a degradação da lactose em ácido lático, devido à ação de microorganismos acidificantes como consequência de condições inadequadas de higiene durante o sistema de produção. É expressa em graus Dornic, que representa a acidez do leite em 0,001g de ácido lático em 0,1 mL de NaOH N/9 que neutralizam a acidez em 10 mL de leite (Marth & Steele, 2001).

Os testes de estabilidade do leite frente ao álcool são empregados há mais de um século para qualificação do leite. Porém, existem problemas na estabilidade do leite associados à estação do ano, dieta e estágio de lactação. A coagulação do leite pelo álcool é afetada pelo balanço de sais no leite. Resultados positivos ao teste do álcool (formação de grumos) podem ocorrer devido à redução de pH, pela fermentação da lactose até ácido lático, resultando na instabilidade da proteína. As indústrias de processamento de leite de vaca recebem leite com baixa contagem de unidades formadoras de colônia (UFC), baixa contagem de células somáticas (CCS), pH dentro da faixa normal e que, no entanto, apresentam resultado positivo na prova do álcool.

O leite instável não ácido (LINA) caracteriza-se pela perda da estabilidade da caseína, resultando na sua precipitação frente à prova do álcool, mesmo com acidez titulável em valores dentro da normalidade. Isso já é bem conhecido para o leite de vaca, tanto no Brasil como em outros países (MARQUES et al., 2004), mas pouco se sabe quanto ao comportamento do leite de cabra frente à prova do álcool.

O equilíbrio salino afeta a prova do álcool, encontrando entre seus componentes principais as concentrações de cálcio, fosfato e citrato. Devido ao papel importante do fosfato de cálcio na estabilidade das micelas de caseínas, alterações no equilíbrio cálcio solúvel e coloidal afetam a prova do álcool.

A prova da estabilidade ao calor é uma prova rápida que permite medir a estabilidade térmica do leite ao calor, ou seja, saber se o leite não vai apresentar problemas no processamento durante o processo de pasteurização, evitando coágulos aderidos às paredes do pasteurizador. O processo se dá quando determinado grau de álcool faz com que ocorra uma desidratação parcial de certos colóides hidrófilos causando perda de equilíbrio e floculação (Tronco, 1997).

A indústria láctea busca a recepção de leite com elevada estabilidade térmica, uma vez que essa é uma característica muito importante para derivados lácteos que sofrem severos tratamentos térmicos. Atualmente, o leite com baixa estabilidade térmica é um problema encontrado em vários estados do Brasil, sendo este um fator limitante da matéria prima, principalmente para a fabricação do leite fluido UHT. O tratamento térmico tem como objetivos a garantia de segurança ao consumidor e o aumento da conservação, o qual é obtido através da redução do número de microorganismos patogênicos e deteriorantes, assim como da atividade enzimática. No entanto, com o tratamento térmico ocorrem alterações indesejáveis tais como o deslocamento do cálcio e fosfato solúveis para a fase coloidal (precipitação do fosfato tricálcico), diminuição da solubilidade da proteína do soro e quebra da lactose em ácidos orgânicos (Wastra & Jenness, citados por Santos, 2004).

A estabilidade térmica do leite pode ser definida como o tempo necessário para ocorrer a coagulação visível, em determinado pH e temperatura. Essa estabilidade está diretamente relacionada com a capacidade do leite de resistir à coagulação pelo calor e, portanto, às suas características de processamento (Silva apud Santos, 2004).

Referências

- BAUDRY, C.; et al. Impact of the cellular concentration of milk in goats on its production and its composition. **Vet. Res.** v.28, p.277-286, 1997.
- BOSCOS, C.; STEFANAKIS, A.; ALEXOPOULOS, C. et al. Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on Coulter Counter Counts and California Mastitis Test in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. **Small Ruminant Research.** v.21, p.139-147, 1996.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 37**, de 31 de outubro de 2000. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite de Cabra. Disponível em: <<http://sistemasweb.agricultura.gov.br/sislegis>>.
- CHAPAVAL, L. Instruções técnicas para uso da ordenha mecânica em cabras leiteiras. **Comunicado Técnico**, Sobral, n.101, 2009. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CNPC-2010/23024/1/cot101.pdf>>.
- CONTRERAS, A.; et al. Persistence of subclinical intramammary pathogens in goats throughout lactation. **Journal of Dairy Science**, v.80, n.11, p.2815-2819, 1997.

- East N.E., Birnie E.F. & Farver T.B. Risk factors associated with mastitis in dairy goats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.48, p.776-779, 1987.
- FAGUNDES, C.M. **Inibidores e controle de qualidade do leite**. Pelotas: Ed.Universitária/UFPEL, 1997. 115p.
- FERREIRO, L.; et al. Mastite bovina na grande Porto Alegre, RS- Brasil. I. Agentes etiológicos isolados durante o período 1982-1985. **Arquivos da Faculdade de Veterinária - UFRGS**, v.13, p.81-88, 1985.
- FONSECA, L.F.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000.
- GOTTARDI, C.P.T.; et al. Qualidade higiênica de leite caprino por contagem de coliformes e estafilococos. **Ciência Rural**, v.38, n.3, p.743-748, 2008.
- GYLES, C.S; et al. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. Iowa: Blackwell, 2004. 456p.
- KITCHEN, B.J. Review of the progress of dairy science: Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, v.48, n. p.167-188, 1981.
- KRUG, E.E.B.; et al. **Mamite Bovina**. Porto Alegre, Cooperativa Central de leite Ltda. - CCGL- 1990.
- LANGE, C.; et al. Suscetibilidade a antimicrobianos de amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de mastite bovina na grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul (Brasil). **Arquivos da Faculdade de Veterinária - UFRGS**, v.26, n.1, p.71-81, 1998.
- LEITE, F.T. **Metodologia Científica**. 3ed. Aparecida, SP: Ideias & Letras, 2008. 318p.
- MAC FADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. Baltimore: Williams Wilking, 1977.
- Manser, P.A. Prevalence, causes and laboratory diagnosis of subclinical mastitis in the goat. **Vet. Rec.**, v.118, p.552-554, 1986.
- MALHOTRA, N. **Pesquisa de marketing**. 3ed. Porto Alegre: Bookman, 2001. 720p.
- MARTH, E.H; STEELE, J.L. **Applied dairy microbiology**. 2ed.Wisconsin: Marcel Dekkar, 2001.
- MEDEIROS, L.P. Caprinos: princípios básicos para sua exploração. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **EMBRAPA**. Brasília. EMBRAPA SPI. Terezina PI. 177 p, 1994.
- MOTA, R.A.; et al. Etiologia e sensibilidade antimicrobiana *in vitro* das bactérias isoladas do leite de cabras com mastite procedentes da Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil. **A Hora Veterinária**, v.19, n.114, p.26-29, 2000.
- NDEGWA, E.N.; et al. The prevalence of subclinical mastitis in dairy goats in Kenya. **Journal of South African Veterinary Association**, v.71, n.1, p.25-27, 2000.
- PAES, P.R.O.; et al. Efeitos da administração de vitamina E na infecção mamária e na contagem de células somáticas de cabras primíparas desafiadas experimentalmente com *Staphylococcus aureus*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.55, n.1, 2003.
- POUTREL, B.; et al. Control of intramammary infections in goats: impact on somatic cell counts. **Journal Animal Science**, v.75, n.2, p.566-570, 1997.

POUTREL, B.; LERONDELLE, C. Cell content of goat milk: California mastitis test, coulter counter, and fossomatic for predicting half infection. **Journal Dairy Science**, v.66, n.12, p.2575-2579, 1982.

Quin, P.J.; et al. **Clinical Veterinary Microbiology**. London: Mosby, 1998.

SÁ, E. Análises realizadas para o controle da qualidade de leite in natura de acordo com os parâmetros legais. **Leite e derivados**, v 81., p 66-72, 2004.

SANTOS, L.F.L.; et al. “California Mastitis Test” e “Whiteside Modificado” como critério de triagem para mastite caprina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.30, n.2, p.295-298, 1995.

SCHMIDT, V.; et al. Agentes bacterianos como causa de mamite sub-clínica em caprinos no Rio Grande do Sul, Brasil. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 6., 1992, Gramado,RS. **Anais**. Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1992, p.83.

SCHALM, O.W.; et al. **Bovine Mastitis**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1971.

SILVA, N.; et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997, p.295.

SIQUEIRA, R.D. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA-CTAA, 1995.

SORHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 8, p. 35-40, 1997.

TRONCO, V.M. **Manual para inspeção da qualidade do leite**. Santa Maria: UFSM, 1997. 166 p.

WESSELS, D.; JOOSTE, P.J.; MOSTERT, J.F. Psychrotrophic, proteolytic and lipolytic properties of *Enterobacteriaceae* isolated from milk and dairy products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 9 p. 79-83, 1989.

WHITE, E. C.; HINCKLEY, L. S. Prevalence of mastitis pathogens in goat milk. **Small Ruminant Research**, v.33, p.117-121, 1999.

WINTER, P.; BAUMGARTNER, W. Evaluation of the California mastitis test (CMT) reaction in goat milk and its interpretation. **Dtsch Tierarztl Wochenschr**, v.106, n.1, p.30-34, 1999.