

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS AGROPECUÁRIAS (BPA)  
NA ORDENHA SOBRE A QUALIDADE DO LEITE BOVINO, EM PROPRIEDADES  
PRODUTORAS DE QUEIJO ARTESANAL SERRANO.**

**Autora: Lisiane Moreira Matos**

**PORTO ALEGRE**

**2013/1**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**AVALIAÇÃO DA APLICAÇÃO DE BOAS PRÁTICAS AGROPECUÁRIAS (BPA)  
NA ORDENHA SOBRE A QUALIDADE DO LEITE BOVINO, EM PROPRIEDADES  
PRODUTORAS DE QUEIJO ARTESANAL SERRANO.**

**Autora: Lisiane Moreira Matos**

**Trabalho apresentado à Faculdade  
de Veterinária como requisito  
parcial para obtenção da  
Graduação em Medicina  
Veterinária**

**Orientadora: Verônica Schmidt**

**Co-orientadora: Caroline Pissetti**

**PORTO ALEGRE**

**2013/1**



## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha mãe que me deu oportunidade de ir em busca do meu sonho, sempre me incentivando e me dando apoio.

À professora Verônica Schmidt pela orientação, amizade, conhecimento, atenção e paciência que teve comigo durante mais de dois anos como iniciação científica.

À Vanessa Dias pela paciência, ajuda e ensinamentos durante meu estágio e principalmente durante o experimento do trabalho de conclusão.

À Caroline Pissetti pelo auxílio nas dúvidas do laboratório, na escrita deste trabalho e pela amizade.

Ao meu namorado José por ter me motivado, incentivado e por ter tido paciência mesmo quando deixado de lado em virtude dos estudos.

À minha amiga Bianca Zago pela elaboração do *abstract*.

Aos colegas e amigos do laboratório de Medicina Veterinária Preventiva: Tatiana Vieira, Gisele Huber, Bruna Genz, Gabriela Werlang, Eduardo Costa pela colaboração para realização deste trabalho.

A todos, muito obrigada!

## RESUMO

O Queijo Artesanal Serrano (QAS) é um produto tradicional dos Campos de Cima da Serra, do estado do Rio Grande do Sul e Planalto Sul Catarinense, em Santa Catarina, tem mais de 200 anos de história e a forma de produzir foi passada de geração para geração. É produzido a partir do leite cru de vacas de corte, alimentadas em campo nativo. Como o leite cru, por ser um alimento bastante nutritivo para os microrganismos, pode se tornar veículo de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), as condições de higiene no processo de obtenção da matéria prima são de extrema importância. O objetivo deste trabalho foi comparar a qualidade do leite utilizado na preparação do QAS antes e após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias (BPA). Para tanto, em dez propriedades rurais localizadas na região dos Campos de Cima da Serra, coletaram-se amostras de leite de rebanho antes e após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias (BPA) com orientação da Secretaria do Desenvolvimento Rural, Pesca e Cooperativismo do Rio Grande do Sul (Emater). Nas amostras realizaram-se contagens de mesófilos totais, coliformes a 45°C (CT) e *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP). Observou-se uma tendência à diminuição nas contagens de CT e aumento nas contagens de SCP. Entretanto, estas não foram significativas. Por outro lado, determinou-se redução significativa ( $p=0,0006$ ) na contagem de mesófilos após a implementação de BPA. A contagem de mesófilos está diretamente relacionada à qualidade do produto enquanto a CT está relacionada com a higiene do processo produtivo. Apesar de ter sido observado uma melhora na qualidade do produto, ainda há necessidade de maior intensificação das BPA, visto que se observou um aumento na contagem de SCP sendo este microrganismo relacionado, diretamente, à higiene pessoal do responsável pelo processo da ordenha. O QAS possui importância socioeconômica para a população dos Campos de Cima da Serra sendo, portanto necessária uma capacitação desses produtores para garantir a qualidade da matéria prima e, assim, agregar valor ao produto final.

**Palavras-chave:** Queijo Artesanal Serrano, boas práticas agropecuárias, mesófilos, coliformes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva.

## **ABSTRACT**

The *Artesanal Serrano Cheese* (ASC) is a traditional product that comes from the region of *Campos de Cima da Serra*, covering part of the state of *Rio Grande do Sul*, and the upland of the state of *Santa Catarina*, has over 200 years of history and its production is taken from generation to generation. It is made from raw milk from dairy cows, which are fed in native grassland. As the raw milk can be a very nutritious source of nourishment to different microorganisms, it can become a source of foodborne disease, the hygiene conditions in the process of obtaining the raw material are extremely important. The goal in this study was to compare the quality of the milk used to manufacture of this cheese before and after the implementation of Good Agricultural Practice (GAP). Therefore, ten farms in the region of *Campos de Cima da Serra* were studied, having raw milk samples collected before and after the implementation of GAP, with guidance from the *Rio Grande do Sul Department of Rural Development, Fisheries and Cooperatives* (Emater). The samples were subjected to counts of total mesophilic microorganisms, coliforms at 45°C (TC), and *Staphylococcus* positive coagulase (SPC). There was a trend towards a decrease in count of TC and an increase in count of SPC. However, these results were not significant. On the other hand, were determined a significant reduction ( $p=0,0006$ ) in count of mesophilic microorganisms after the implementation of GAP. The count of mesophilic microorganisms is directly related to the product's quality, while the TC count is related to the hygiene during productive process. Despite the observance of an improvement in the quality of the product, there is still a need for further intensification of GAP, since was observed an increase in SPC count being this particular microorganism directly related to personal hygiene of the person responsible for the milking process. The ASC hold socioeconomic importance to the population of the *Campos de Cima da Serra*, thus there is a need for a better capacitating these producers in order to guarantee the quality of raw material, and so, add value to the final product.

**Keywords:** *Artesanal Serrano Cheese*, good agricultural practice, mesophilic microorganisms, coliforms at 45°C, *Staphylococcus* positive coagulase.

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Contagens de coliformes totais e termotolerantes, mesófilos totais e *Staphylococcus* (UFC/mL), em amostras de leite de rebanho de dez propriedades localizadas nos Campos de Cima da Serra, RS antes da implementação de Boas Práticas Agropecuárias.....19
- Tabela 2** - Contagens de coliformes totais e termotolerantes, mesófilos totais e *Staphylococcus* (UFC/mL), em amostras de leite de rebanho de dez propriedades localizadas nos Campos de Cima da Serra, RS após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias.....21
- Tabela 3** - Comparação entre os resultados da coleta antes e após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias (BPA) através do teste não paramétrico Wilcoxon Mann Whitney (WMW).....22

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**BPA:** Boas Práticas Agropecuárias.

**°C:** grau Celsius.

**CCS:** Campos de Cima da Serra.

**CT:** Coliformes termotolerantes, sinônimo de Coliformes a 45°C e Coliformes de origem fecal.

**DTA:** Doenças Transmitidas por Alimentos.

**Emater:** Secretaria do Desenvolvimento Rural, Pesca e Cooperativismo do Rio Grande do Sul.

**g:** gramas.

**IN:** Instrução Normativa.

**MAPA:** Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

**mL:** mililitro(s).

**pH:** potencial hidrogeniônico.

**QAS:** Queijo Artesanal Serrano.

**RS:** Rio Grande do Sul.

**SCP:** *Staphylococcus* coagulase positiva.

**UFC:** Unidade Formadora de Colônia.

**WMW:** Wilcoxon Mann Whitney.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1</b>	<b>Queijo Artesanal Serrano .....</b>	<b>10</b>
<b>2.2</b>	<b>Boas Práticas Agropecuárias .....</b>	<b>10</b>
<b>2.3</b>	<b>Microrganismos indicadores de higiene .....</b>	<b>12</b>
2.3.1	Coliformes totais.....	12
2.3.1.1	Coliformes a 45°C .....	13
<b>2.4</b>	<b>Microrganismos indicadores gerais de contaminação do alimento .....</b>	<b>13</b>
2.4.1	Aeróbios mesófilos .....	13
<b>2.5</b>	<b>Microrganismos Patogênicos .....</b>	<b>14</b>
2.5.1	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (SCP) .....	14
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
<b>3.1</b>	<b>Delineamento experimental .....</b>	<b>16</b>
<b>3.2</b>	<b>Análises laboratoriais .....</b>	<b>16</b>
3.2.1	Contagem de coliformes a 45°C .....	16
3.2.2	Contagem de mesófilos.....	17
3.2.3	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (SCP).....	18
<b>3.3</b>	<b>Interpretação dos resultados .....</b>	<b>18</b>
<b>3.4</b>	<b>Análise Estatística .....</b>	<b>18</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADO E DISCUSSÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>24</b>
	REFERÊNCIAS .....	25

## 1 INTRODUÇÃO

O Queijo Artesanal Serrano (QAS) é um produto tradicional dos Campos de Cima da Serra no estado do Rio Grande do Sul e do Planalto Sul Catarinense, em Santa Catarina, com mais de 200 anos de história. O queijo é produzido em pequena escala, com leite cru de vacas de corte criadas em sistema extensivo e alimentadas com pasto nativo. No início surgiu como uma fonte de renda extra para os pecuaristas, porém, atualmente a venda do QAS tornou-se a principal fonte de renda.

A fabricação de queijo artesanal, a partir de leite cru, é regulamentada pela Instrução Normativa Nº 57, de 15 de dezembro de 2011 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA (BRASIL, 2011). A legislação prevê que nas propriedades rurais onde estão localizadas as queijarias deve-se implementar o Programa de Controle de Mastite e Programa de Boas Práticas de Ordenha e de Fabricação.

Segundo Fagan et al. (2005), a qualidade do leite cru está diretamente relacionada com a contaminação inicial e o tempo e a temperatura que o leite permanece desde a ordenha até o processamento. A qualidade da matéria prima é um fator importante que vai determinar a qualidade final do produto.

Segundo Santana et al. (2008), em algumas localidades, o leite ainda é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes e, em consequência, apresenta elevado número de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico. Dessa forma, para o leite e seus derivados, cuidados higiênicos desde a ordenha até a obtenção do produto final devem ser empregados.

As Boas Práticas Agropecuárias (BPA) buscam assegurar que o leite e os seus derivados sejam seguros e adequados para o uso a que se destinam. Dentre as medidas recomendadas se destacam: a sanidade animal e a higiene na ordenha; ordenha e armazenagem do leite sob condições higiênicas; equipamentos para ordenha e armazenamento do leite adequado e mantido em boas condições (FAO e IDF, 2013).

O objetivo deste trabalho foi analisar a qualidade do leite produzido em dez propriedades dos Campos de Cima da Serra, na região nordeste do estado do Rio Grande do Sul, que produzem Queijo Artesanal Serrano antes e após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias (BPA).

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Queijo Artesanal Serrano**

A região denominada Campos de Cima da Serra (CCS) está situada no Nordeste do estado do Rio Grande do Sul (RS), fronteira com estado de Santa Catarina, é uma região caracterizada por invernos rigorosos e tem a pecuária em sistema de campo nativo como principal atividade econômica. O povoamento dessa região é marcado pelas rotas de tropeiros, que ligavam os CCS a Santa Catarina e São Paulo (KRONE, 2009).

Dos CCS partiam tropas de mulas carregadas com alimentos, especialmente queijo, que eram comercializados em Santa Catarina. A tradição da produção de Queijo Artesanal Serrano (QAS) é datada de meados do século XVIII, quando era forte o vínculo com a atividade dos tropeiros. O QAS era o principal produto alimentar, além disso, era utilizado como moeda de troca na obtenção de alimentos trazidos pelos tropeiros (AMBROSINI, 2007; KRONE, 2009).

Com uma tradição de mais de dois séculos, a receita de fabricação do QAS foi sendo passada de geração a geração, sem sofrer muitas modificações. O microclima característico da região combinado às técnicas artesanais utilizadas na fabricação do queijo, leite cru de vacas de corte alimentadas em campo nativo, conferem características que o diferenciam dos demais queijos (MENASCHE e KRONE, 2007).

Sendo a pecuária, uma produção em baixa escala, essa atividade somada a outras, como o turismo e a produção do QAS, é que asseguram a estabilidade econômica e social das famílias da região (AMBROSINI, 2007).

O QAS é produzido na própria propriedade, sendo que a tarefa é dividida pelo casal de proprietários. Na maioria das propriedades, o homem é responsável pela ordenha, enquanto a mulher é responsável pela produção do queijo. A queijaria fica localizada em um galpão próximo à sala de ordenha. O queijo é fabricado logo após a ordenha com a adição de coalho (AMBROSINI, 2007).

### **2.2 Boas Práticas Agropecuárias**

As Boas Práticas Agropecuárias em Bovinos de Corte têm como objetivo aumentar a competitividade da bovinocultura de corte, mediante a incorporação de tecnologias que viabilizem as boas práticas em cada sistema de produção e, com isso, assegurar a oferta de

alimentos seguros provenientes de sistemas de produção sustentáveis (VALLE, 2011). Apesar das BPA em Bovinos de Corte visar oferecer carne de qualidade, os produtores do nordeste do Rio Grande do Sul utilizam o leite proveniente de vacas de corte para produção de QAS. Neste sentido, a Secretaria do Desenvolvimento Rural, Pesca e Cooperativismo do Rio Grande do Sul (Emater), no ano de 2013, implantou nas propriedades da região dos Campos de Cima da Serra, as Boas Práticas Agropecuárias (BPA) baseadas na pecuária de leite.

Nos últimos anos, ocorreram muitas mudanças no setor leiteiro, principalmente em função da implantação de duas Instruções Normativas a IN51 (BRASIL, 2002) e a IN62 (BRASIL, 2011) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), que regulamentam a qualidade do leite no Brasil. A questão da qualidade passou a ser um dos principais assuntos relacionados à cadeia produtiva do leite. Também foi criado o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNQL), sendo a IN51 uma das prioridades do programa (OLIVEIRA et al., 2009).

As BPA aplicadas à pecuária de leite tratam da implementação de procedimentos adequados em todas as etapas da produção de leite nas propriedades rurais. O objetivo dessas práticas é assegurar que o leite e seus derivados sejam seguros e adequados ao consumo humano, além de serem produzidos por animais saudáveis, de forma sustentável e responsável no que diz respeito ao bem-estar animal e às perspectivas econômica, social e ambiental (FAO e IDF, 2013).

Segundo Lima et al. (2008), as BPA se compõem de um conjunto de atividades, procedimentos e ações adotadas na propriedade rural com a finalidade de obter leite de qualidade e seguro ao consumidor, respeitando o meio ambiente. Essas atividades englobam desde a organização da propriedade, suas instalações, equipamentos e ações realizadas envolvendo o ser humano e os animais.

Para Vallin (2009), a aplicação de BPA na bovinocultura de leite é uma alternativa para minimizar os riscos de contaminação nas diferentes etapas do processo de produção. Esses procedimentos são capazes de reduzir a contaminação microbiana e fundamentam-se na exclusão, remoção, eliminação e inibição da multiplicação de microrganismos indesejáveis.

Para atingir tais objetivos os produtores devem aplicar os princípios nas seguintes áreas: saúde animal, higiene na ordenha, nutrição, bem-estar animal, meio ambiente e gestão socioeconômica (FAO e IDF, 2013).

## 2.3 Microrganismos indicadores de higiene

Os microrganismos indicadores são utilizados na avaliação microbiológica de alimentos, devido às dificuldades encontradas na detecção de microrganismos patogênicos. São grupos ou espécies que podem fornecer informações sobre ocorrência de contaminação de origem fecal, provável presença de patógenos ou a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Segundo Forsythe (2002), os microrganismos indicadores são organismos marcadores cuja presença indica a possível presença de um patógeno ecologicamente similar. São utilizados para avaliar a segurança e a higiene alimentar. De forma ideal, um indicador de segurança alimentar deve apresentar certas características importantes:

- Ser detectável de forma fácil e rápida.
- Ser facilmente distinguível de outros membros da flora do alimento.
- Possuir um histórico de associações constantes com o patógeno cuja presença visa indicar.
- Estar sempre presente quando o patógeno de interesse estiver presente.
- Ser um microrganismo cujos números sejam correlacionados às quantidades do patógeno de interesse.
- Possuir características e taxas de crescimento equivalente às do patógeno.
- Possuir uma taxa de mortalidade que seja ao menos paralela à do patógeno e, de preferência, que persista por mais tempo do que este último.
- Estar ausente dos alimentos que são livres de patógenos, com exceção, talvez, de números mínimos.

### 2.3.1 Coliformes totais

Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, não esporulados, que fermentam a lactose dentro de 48 horas, quando incubados a  $35^{\circ}\text{C}\pm 2$ . De forma geral, os coliformes são representados por quatro gêneros da família *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e *Klebsiella* (JAY, 2005).

Segundo Franco e Landgraf (2008), destes apenas a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal do homem e animais. Os demais, além de serem encontrados nas

fezes, também estão presentes em outros ambientes como vegetais e solo, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal como *Salmonella* e *Shigella*. Conseqüentemente, a presença de coliformes totais no alimento não indica, necessariamente, contaminação fecal recente ou ocorrência de microrganismos enteropatogênicos.

#### 2.3.1.1 Coliformes a 45°C

Os coliformes termotolerantes (CT) são um subgrupo dos coliformes totais, restritos aos membros capazes de fermentar a lactose em 24 horas, a 45°C, com produção de gás (SILVA et al., 2010). Segundo Franco e Landgraf (2008), nessas condições, ao redor de 90% das culturas de *Escherichia coli* são positivos, enquanto entre os demais gêneros, apenas algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* mantêm essa característica.

Em alimentos processados, a presença de um número considerável de coliformes termotolerantes indica: processamento inadequado e /ou recontaminação pós-processamento, devido a equipamentos sujos ou manipulação sem cuidados de higiene; proliferação de bactérias que poderia permitir a multiplicação de microrganismos patogênicos e toxigênicos (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

São utilizados como indicadores, para servir como uma medida de contaminação fecal e, assim, medir a presença de patógenos de origem intestinal nos alimentos (FORSYTHE, 2002).

### **2.4 Microrganismos indicadores gerais de contaminação do alimento**

São grupos de microrganismos que, quando estão presentes em números elevados nos alimentos, poderão causar a deterioração e a redução da vida de prateleira. Essas contagens fornecem informações sobre as condições durante o processamento do alimento (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

#### 2.4.1 Aeróbios mesófilos

A contagem dessas bactérias é utilizada como indicador geral de populações bacterianas em alimentos. Sendo utilizada para se obter informações gerais sobre a qualidade de produtos, matérias-primas utilizadas e vida de prateleira (SILVA et al., 2010).

As bactérias mesófilas não estão diretamente relacionadas à presença de patógenos ou toxinas. Um número elevado desses microrganismos indica que o alimento é insalubre devido a deficiências na sanitização ou falha no controle do processo (FRANCO e LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

Em alimentos perecíveis, como é o caso do leite, contagem elevada desse grupo de bactérias pode indicar abuso durante o armazenamento em relação ao binômio tempo/temperatura. Além disso, todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas. Portanto, uma alta contagem significa que houve condições para que esses patógenos se multiplicassem (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

## 2.5 Microrganismos Patogênicos

Os microrganismos causadores de doenças alimentares podem ser transmitidos a partir de fezes contaminadas, pelos dedos dos manipuladores de alimentos com hábitos de higiene insatisfatórios e pela água (JAY, 2005).

Segundo Franco e Landgraf (2008), as doenças microbianas de origem alimentar podem ser subdivididas em duas grandes categorias:

a) Intoxicações alimentares, causadas pela ingestão de alimentos contendo toxinas microbianas pré-formadas. Estas toxinas são produzidas durante a intensa proliferação do microrganismo patogênico no alimento, como é o caso do *Staphylococcus aureus*.

b) Infecções alimentares, causadas pela ingestão de alimentos contendo células viáveis de microrganismos patogênicos.

### 2.5.1 *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP)

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*. São facultativas anaeróbias, com maior crescimento sob condições aeróbias, quando produzem catalase (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

O gênero *Staphylococcus* inclui mais de 30 espécies, sendo 16 de real e potencial interesse em alimentos. Dessas, cinco (*S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hycus*, *S. delphini*, *S. schleiferi*), são coagulase positivas e, geralmente, produzem nuclease termoestável (JAY, 2005). A espécie *S. aureus* é a que está mais frequentemente associada às doenças estafilocócicas. Produz uma grande variedade de fatores de patogenicidade e virulência e as intoxicações alimentares são causadas pelas enterotoxinas produzidas pela bactéria

(FORSYTHE, 2002). São bactérias mesófilas com temperatura de crescimento na faixa de 7°C a 47,8°C. A produção de toxinas ocorre entre 10°C e 46°C. Os limites de pH estão entre 4,2 e 9,3 e a atividade de água mínima é de 0,85 suportando concentrações de até 25% de NaCl (FRANCO e LANDGRAF, 2008; SILVA et al., 2010).

As espécies de estafilococos são hospedeiro-adaptadas, e metade das espécies habita somente humanos ou humanos e animais. São encontradas próximo às aberturas do corpo, narinas, axilas e na área das virilhas. As fontes mais importantes de contaminação para alimentos são fossas nasais e mãos e braços de manipuladores de alimentos (JAY, 2005).

*Staphylococcus aureus* não é resistente ao calor, sendo destruído na pasteurização ou na cocção de alimentos. Entretanto, as toxinas, são resistentes, suportando até mesmo a esterilização de alimentos de baixa acidez (SILVA et al., 2010).

As intoxicações humanas são causadas pela ingestão de enterotoxinas produzidas nos alimentos, normalmente porque o alimento não foi mantido quente (60°C ou mais) ou frio o suficiente (7°C ou menos) (FORSYTHE, 2002).

A contaminação de queijos pode causar vários surtos tanto quando se utiliza leite cru como depois da pasteurização e, nesse caso, pode ocorrer contaminação pós-processamento ou utilização de coalho contaminado por *S. aureus* (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Delineamento experimental

O estudo foi conduzido em 10 propriedades produtoras de Queijo Artesanal Serrano, em municípios localizados na região dos Campos de Cima da Serra no estado do Rio Grande do Sul, amostrados por conveniência, de acordo com os seguintes critérios (THRUSFIELD et al., 2004): concordar em participar do projeto de implementação de BPA desenvolvido pela Secretaria do Desenvolvimento Rural, Pesca e Cooperativismo do Rio Grande do Sul (Emater); e concordar em participar do projeto de análise do leite.

Coletaram-se amostras de leite de rebanho logo após a finalização da ordenha, em frascos estéreis os quais foram acondicionados em caixa isotérmica e refrigerada para transporte ao laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), no mesmo dia da coleta.

Realizaram-se coletas em outubro de 2012, antes da implementação das BPA nas propriedades e outra, em abril de 2013, após a implementação das BPA, resultando num total de 20 amostras de leite.

As amostras foram analisadas quanto à contagem de coliformes a 45°C, mesófilos totais e *Staphylococcus* coagulase positiva.

### 3.2 Análises laboratoriais

No laboratório, 25 mL de leite foi reservado para futuras análises. Após, foi adicionado 225 mL de água peptonada tamponada (APT) 0,1% estéril e homogeneizadas por 60 segundos em Stomacher (*Logen Scientific*). Imediatamente após serem homogeneizadas, as amostras foram submetidas às análises descritas a seguir, segundo a Instrução Normativa (IN) Nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2003).

#### 3.2.1 Contagem de coliformes a 45°C

As amostras homogeneizadas, considerada como  $10^{-1}$ , foram submetidas a diluições seriadas até  $10^{-6}$  em solução salina 0,9% estéril. Alíquotas de um mL de cada diluição foram pipetadas na superfície de placas de Petri estéreis. Após, foram adicionados cerca de 15 mL de meio ágar Vermelho Violeta Bile Lactose (VRBA, Oxoid), previamente fundido. O

inóculo e meio de cultura foram homogeneizados cuidadosamente por meio de movimentos circulares da placa. Após a solidificação do meio, foi adicionada uma sobrecamada de cerca de cinco mL de meio, conforme instruções do fabricante.

A contagem das colônias típicas (rosa intensa com precipitado da mesma cor ao redor da colônia) foi realizada após 48 horas de incubação a  $36\pm 1^\circ\text{C}$ . A média de colônias típicas de foi multiplicada pelo inverso da diluição de contagem para obter o número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) (SILVA et al., 2010).

Foram selecionadas cinco colônias típicas, para posterior confirmação de coliformes totais e termotolerantes.

A confirmação da presença de coliformes totais foi feita por meio da inoculação das colônias suspeitas em dez mL de Caldo Verde Brilhante Bile 2% Lactose (Himedia) e posterior incubação a  $36\pm 1^\circ\text{C}$ , por 24 a 48 horas. Para a confirmação de coliformes termotolerantes, após este período, alíquotas de 0,1 mL, de tubos positivos para coliformes totais - a presença de coliformes totais é confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou efervescência quando agitado - foram transferidas para 10 mL de Caldo EC (Merck) e posterior incubação em temperatura seletiva de  $45 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , em banho-maria, por 24 a 48 horas. A presença de coliformes termotolerantes foi confirmada pela formação de gás (mínimo 1/10 do volume total do tubo de Durham) ou efervescência quando o tubo foi agitado.

### 3.2.2 Contagem de mesófilos

Alíquotas de um mL de cada diluição foram pipetadas na superfície de placas de Petri estéreis. Após foram adicionados cerca 20 mL de Ágar padrão para contagem (PCA, Himedia) fundido e mantido em banho-maria a  $46-48^\circ\text{C}$ . O inóculo e meio de cultura foram homogeneizados cuidadosamente por meio de movimentos circulares da placa. Após a solidificação do meio, as placas foram incubadas invertidas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ .

A contagem foi realizada 48 horas após a incubação, sendo a média do número de colônias multiplicado pelo inverso da diluição de contagem para obter-se o número de UFC (SILVA et al., 2010).

### 3.2.3 Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva* (SCP)

Alíquotas 0,1 mL de cada diluição foram pipetadas sobre a superfície seca do ágar Baird-Parker (Himedia). Com o auxílio de alça de Drigalski, o inóculo foi espalhado por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. As placas invertidas foram incubadas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , por 48 horas.

Após esse período, foi feita a contagem das colônias típicas (negras brilhantes com anel opaco, rodeadas por um halo claro, transparente e destacado sobre a opacidade do meio) e colônias atípicas (acinzentadas ou negras brilhantes, sem halo ou com apenas um dos halos).

Cinco colônias foram selecionadas e semeadas em *Trypticase Soy Agar* (TSA, Oxoid), incubadas a  $36^\circ\text{C}$  por 24 horas, para confirmação. Após esse período, foi realizada a prova da catalase e, nas colônias positivas (formação de borbulhas), foi feita a coloração de Gram. Na presença de cocos positivos, era realizada a prova da coagulase.

O resultado final foi expresso com a soma dos resultados de colônias típicas e atípicas confirmadas na prova da coagulase.

### 3.3 Interpretação dos resultados

Os resultados foram interpretados de acordo com a Instrução Normativa (IN) N° 62, de 29 de dezembro de 2011 que aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

### 3.4 Análise Estatística

Os resultados da primeira e segunda coleta foram comparados através do teste não paramétrico Wilcoxon Mann Whitney (WMW) do programa estatístico SAS®, com nível de confiança de 95%.

#### 4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Na primeira coleta, realizada antes da implantação das BPA, de acordo com a IN N° 62 do MAPA (BRASIL, 2011) 60 % (6/10) das amostras (tabela 1) atenderiam ao requisito de contagem padrão de mesófilos ( $<7,5 \times 10^5$  UFC/mL), em vigor entre 2008 e 2011, enquanto 50% (5/10) atenderiam ao padrão estabelecido para vigorar entre 2011 e 2014 ( $<6 \times 10^5$  UFC/mL). Entretanto, somente 40% (4/10) atenderiam a exigência deste parâmetro que vigorará a partir de 2014 ( $<3 \times 10^5$  UFC/mL). Barreto et al. (2012) relataram contagens de  $9,1 \times 10^5$  a  $8,8 \times 10^9$  UFC/mL do leite *in natura* comercializado em Cruz das Almas, Bahia. Contagens acima do limite estabelecido pela legislação também foi observado por Borges et al. (2009) em leite de propriedades da região do Vale do Taquari, no estado do Rio Grande do Sul.

**Tabela 1** - Contagens de coliformes totais e termotolerantes, mesófilos totais e *Staphylococcus* (UFC/mL), em amostras de leite de rebanho de dez propriedades localizadas nos Campos de Cima da Serra, RS antes da implementação de Boas Práticas Agropecuárias.

Propriedade	Ctotais	Ctermotolerantes	Mesófilos	SCP
A	$2 \times 10$	$<1$	$2,5 \times 10^8$	$<1$
B	$<1$	$<1$	$1,4 \times 10^4$	$<1$
C	$7,2 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$3,4 \times 10^5$	$4,8 \times 10^4$
D	$1,3 \times 10^2$	$<1$	$6,4 \times 10^5$	$<1$
E	$1 \times 10^2$	$6 \times 10$	$1,5 \times 10^4$	$5,8 \times 10^2$
F	$6 \times 10$	$<1$	$2,4 \times 10^4$	$<1$
G	$<1$	$<1$	$2,5 \times 10^8$	$<1$
H	$8,2 \times 10^3$	$<1$	$2,5 \times 10^8$	$7,8 \times 10^3$
I	$1,3 \times 10^4$	$<1$	$7,5 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$
J	$<1$	$<1$	$2,5 \times 10^8$	$<1$

Ctotais: Contagem de coliformes totais; Ctermotolerantes: Contagem de coliformes termotolerantes; Mesófilos: Contagem de mesófilos; SCP: Contagem de *Staphylococcus*.

A contagem de mesófilos está diretamente relacionada à qualidade da matéria prima. Como o leite utilizado na produção do QAS não é pasteurizado, a qualidade do produto final será prejudicada. Além disso, o grupo de microrganismos mesófilos inclui a maioria das bactérias acidificantes do leite e os patógenos (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

A contagem de coliformes totais variou de  $<1$  a  $1,3 \times 10^4$  UFC/mL e a de coliformes termotolerantes de  $<1$  a  $1,4 \times 10^3$  UFC/mL (tabela 1). A elevada contagem de coliformes totais em um alimento pode indicar a presença de bactérias como *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Citrobacter* e *Salmonella*, responsável por causar quadros de gastroenterite (CITADIN et al., 2009).

A presença de coliformes termotolerantes acima de  $10^3$  UFC/mL no leite cru é um indicador de obtenção e de manipulação do leite em condições de higiene inadequadas. Os coliformes metabolizam a lactose, produzindo ácido láctico e  $\text{CO}_2$ . O ácido láctico produzido junto com o que é produzido pelas bactérias lácticas, torna o leite mais ácido. O  $\text{CO}_2$  produzido apresenta importância nos queijos, pois os coliformes multiplicam-se ativamente nos primeiros dias de maturação e o  $\text{CO}_2$  produzido fica retido na massa dos queijos, provocando o aparecimento de pequenos buracos (BEUX, 2013).

A contagem de SCP variou de  $< 1$  a  $4,8 \times 10^4$  (tabela 1). Esses dados foram inferiores às contagens de *Staphylococcus* sp. observadas por Lamaita et al. (2005) que variou de  $1 \times 10^5$  a  $2,5 \times 10^7$  UFC/mL em leite cru refrigerado. A presença de bactérias patogênicas no leite cru é uma preocupação de saúde pública, sendo um risco potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados, e até para quem o manuseia. O leite cru contaminado pode ser ainda, fonte de contaminação cruzada para os produtos lácteos processados, pela contaminação do ambiente na indústria (ARCURI et al., 2006).

Embora o Ministério da Saúde não estabeleça padrão microbiológico para *Staphylococcus* coagulase positiva no leite *in natura*, a presença do patógeno nos alimentos a partir de  $1 \times 10^5$  UFC/mL têm importância epidemiológica por favorecer a produção de enterotoxinas estafilocócica sob condições ambientais adequadas e, com isso, propiciar uma intoxicação alimentar, sendo que  $0,375 \mu\text{g}$  da enterotoxina estafilocócica. $\text{Kg}^{-1}$  corpóreo é suficiente para causar um quadro de intoxicação (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

Após a primeira coleta, foram introduzidas Boas Práticas Agropecuárias com todos os produtores. Onde se tentou corrigir as seguintes deficiências:

No processo de ordenha:

- Ordenhadeira desregulada (vácuo e pulsação);
- Secagem inadequada dos tetos (mesma toalha de papel em mais de um teto);
- Sequência incorreta de procedimentos na ordenha;
- Localização dos conjuntos de ordenha em local sujeito à contaminação;
- Ausência de etapas recomendadas na ordenha (ordenha primeiros jatos e secagem);
- Inadequada higienização das mãos do ordenhador e dos tetos;
- Livre acesso de animais domésticos (cães, gatos e galinhas).

No processo de higienização da ordenhadeira:

- Falta de sanitização do equipamento antes da ordenha;
- Tempo, temperatura e concentração do detergente, inadequados para lavagem interna;

- Falta de lavagem externa dos conjuntos de ordenha, antes do enxague interno;
- Inexistência de escovas para limpeza das teteiras e mangueiras.

Na segunda coleta, realizada após a implementação das BPA, seguindo a IN N° 62 do MAPA (BRASIL, 2011), 100% (10/10) das amostras (tabela 2) atenderiam ao requisito na contagem de microrganismos mesófilos totais ( $<7,5 \times 10^5$  UFC/mL), em vigor entre 2008 e 2011. Além disso, também atenderiam a exigência a partir de 2014. Ao comparar-se a contagem padrão de mesófilos entre as coletas, verificou-se redução média de 42%. Vallin et al. (2009) observaram redução média de 87% na contagem de mesófilos, após a implantação de boas práticas de higiene.

Isso se deve, provavelmente, aos novos hábitos adotados pelos produtores tais como o desprezo dos três primeiros jatos de cada teto antes da ordenha, para obtenção de leite com boa qualidade, uma vez que estes jatos apresentam altas contagens de microrganismos, principalmente de microrganismos mesófilos (MATSUBARA et al., 2011).

**Tabela 2** - Contagens de coliformes totais e termotolerantes, mesófilos totais e *Staphylococcus* (UFC/mL), em amostras de leite de rebanho de dez propriedades localizadas nos Campos de Cima da Serra, RS após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias.

Propriedade	Ctotais	Ctermotolerantes	Mesófilos	SCP
A	<1	<1	$3,7 \times 10^2$	$6 \times 10$
B	1,6	<1	$3,8 \times 10^3$	$5 \times 10$
C	$3,3 \times 10$	<1	$1 \times 10^4$	<1
D	$4,9 \times 10$	<1	$2,7 \times 10^4$	$1 \times 10^3$
E	7	<1	$3 \times 10^3$	$2,2 \times 10^3$
F	$5,4 \times 10^2$	<1	$8,6 \times 10^4$	$1 \times 10^2$
G	<1	<1	$2 \times 10^2$	<1
H	$3,8 \times 10$	<1	$4,6 \times 10^3$	<1
I	<1	<1	$5,3 \times 10^3$	$1,2 \times 10^3$
J	$8,6 \times 10$	<1	$6,6 \times 10^3$	$4,5 \times 10^3$

Ctotais: Contagem de coliformes totais; Ctermotolerantes: Contagem de coliformes termotolerantes; Mesófilos: Contagem de mesófilos; SCP Contagem de *Staphylococcus*.

A contagem de coliformes totais variou de <1 a  $5,4 \times 10^2$  UFC/mL (tabela 2) na segunda coleta, representando uma redução média de 45% em comparação à primeira coleta. Além disso, não foi observada a presença de coliformes termotolerantes (tabela 2) na segunda coleta. Cuidados com os equipamentos de ordenha, higienização correta do teto e dos equipamentos e evitar o acesso de animais domésticos, podem ter levado a essa redução.

A contagem de SCP variou de <1 a  $4,5 \times 10^3$  UFC/mL (tabela 2) representando aumento médio de 29%, quando comparado à primeira coleta. O homem e os animais são os principais reservatórios de *Staphylococcus* sp. A cavidade nasal é o principal habitat dos estafilococos

no homem e, a partir deste foco, atingem tanto a epiderme e feridas como qualquer superfície ou objeto que tenha entrado em contato com o homem. Os portadores nasais e os colaboradores responsáveis pelo processo de ordenha são importantes fontes de contaminação do leite (FRANCO e LANDGRAF, 2008). Provavelmente, as indicações de higienização das mãos do ordenhador ainda não estão sendo executadas de forma correta, uma vez que foi observado aumento na contagem destes microrganismos.

Apesar de as diferenças terem sido visíveis, as contagens de coliformes totais, coliformes termotolerantes e SCP não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ) (tabela 3) entre as coletas. Não houve confirmação de coliformes termotolerantes na segunda coleta, entretanto, para haver uma diferença significativa, seria necessário maior número de amostras.

**Tabela 3** - Comparação entre os resultados da coleta antes e após a implementação de Boas Práticas Agropecuárias (BPA) através do teste não paramétrico Wilcoxon Mann Whitney (WMW).

Análise	N	Média	WMW	P
<b>Ctotais</b>				
Coleta 1	10	1,90	120,5000	0,1253
Coleta 2	10	1,05		
<b>Ctermotolerantes</b>				
Coleta 1	10	0,49	115,0000	0,0840
Coleta 2	10	0,00		
<b>Mesófilos</b>				
Coleta 1	10	6,25	148,0000	0,0006
Coleta 2	10	3,65		
<b>SCP</b>				
Coleta 1	10	1,44	98,0000	0,3032
Coleta 2	10	1,86		

Ctotais: Contagem de coliformes totais; Ctermotolerantes: Contagem de coliformes termotolerantes; Mesófilos: Contagem de mesófilos; SCP Contagem de *Staphylococcus*; Coleta 1= antes da implementação de BPA; Coleta 2 = após a implementação de BPA.

Júnior (2012), ao comparar a qualidade do leite de 19 propriedades produtoras de QAS após a aplicação de BPA, também não encontrou relações estatísticas entre a realização ou não das BPA nos resultados dos testes microbiológicos do leite.

A relação entre a aplicação de BPA e menor contagem de microrganismos no leite cru já foi proposta por diversos autores (FAGAN et al., 2005; PINTO et al., 2009; VALLIN et al., 2009; MATSUBARA et al., 2011) indicando que, mais do que a implementação das BPA, a qualidade com que essas práticas são aplicadas é bastante importante.

Já, na análise da contagem de mesófilos, houve diferença significativa ( $p<0,05$ ) entre a primeira e a segunda coleta (tabela 3). Isso comprova que houve melhora na qualidade do

leite após a correção das principais deficiências do processo de ordenha e na higienização da ordenhadeira.

## 5 CONCLUSÕES

Houve melhora na qualidade da matéria prima utilizada na produção do QAS através da diminuição na contagem de mesófilos a números permitidos pela legislação vigente.

Observou-se melhora na higiene da obtenção do leite, indicada pela diminuição da contagem de coliformes totais e termotolerantes.

Aumento nas contagens de SCP, indicando a necessidade de mais qualidade na higiene pessoal dos colaboradores do processo de ordenha.

## REFERÊNCIAS

- AMBROSINI, L. B. **Dissertação de Mestrado**: Sistema Agroalimentar do Queijo Serrano: estratégia de reprodução social dos pecuaristas familiares dos Campos de Cima da Serra - RS. Porto Alegre: UFRGS, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural, 2007. 192p.
- ARCURI, E. F.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ÂNGELO, F. F.; SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440-446, jun. 2006.
- BARRETO, N. S. E.; SANTOS G. C. F.; CREPALDI, A. L.; SANTOS, R. A. R. Qualidade microbiológica e suscetibilidade antimicrobiana do leite in natura comercializado em Cruz das Almas, Bahia. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 6, p. 2315-2326, nov./dez. 2012.
- BEUX, S. **Apostila de Tecnologia de Leite e Derivados**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em:  
<http://www.ebah.com.br/content/ABAAA7PYAF/apostilatecnologia-leite-derivados>.  
Acessado em: 04 de jul. de 2013.
- BORGES, K. A.; REICHERT, S.; ZANELA, M. B.; FISCHER, V. Avaliação da qualidade do leite de propriedades da região do Vale do Taquari no estado do Rio Grande do Sul. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 37, n. 1, p. 39-44, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos**. Resolução RDC nº 12. Brasília, 02 de janeiro de 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel**. Instrução Normativa Nº 51. Brasília, 18 de setembro de 2002.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água**. Instrução Normativa Nº 62. Brasília, 26 de agosto de 2003.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Critérios adicionais para elaboração de queijos artesanais**. Instrução Normativa nº 57. Brasília, 16 dezembro de 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento., de 29 de dezembro de 2011. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado**. Instrução Normativa nº 62. Brasília, 31 dez. de 2011.
- CITADIN, A. S.; POZZA, M. S. S.; POZZA, P. C.; NUNES, R. V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. Microbiological quality of raw milk and factors that influence its quality. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Salvador, v. 10, n.1, p. 52-59, 2009.

FAGAN, E. P.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MULLER, E. E.; NERO, L. A.; SANTANA, E. H. W.; MAGNANI, D. F.; VACARELLI, E. R.; SILVA, L. C.; PEREIRA, M. S. Avaliação e implantação de boas práticas nos principais pontos de contaminação microbiológica na produção leiteira. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 83-92, jan./mar. 2005.

FAO e IDF. **Guia de boas práticas na pecuária de leite**. Produção e Saúde Animal Diretrizes. Roma, 2013.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, B.D.G.M.F; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008. 182p.

JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

JÚNIOR, N.S.S. **Trabalho de Conclusão de Curso: Qualidade do leite utilizado na fabricação de queijo artesanal serrano nos campos de cima da serra, RS: relação entre as boas práticas agropecuárias adotadas e a qualidade da matéria prima**. Porto Alegre: UFRGS, Faculdade de Veterinária, 2012. 34p.

KRONE, E. E. **Dissertação de Mestrado: Identidade e cultura nos Campos de Cima da Serra (RS): práticas, saberes e modos de vida de pecuaristas familiares produtores do Queijo Serrano**. Porto Alegre: UFRGS, Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural, 2009. 145p.

LIMA, C. G.; POSSA, C.; HELOU, C.; COSTA, E. B.; HELOU, M.; CARNEVALLI, R.; NEO, S. A. N. **Boas Práticas Agropecuárias - BPA**. Goiânia: Sindileite-GO, 2008.

MATSUBARA, M. T.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; SILVA, L. C. C.; MONTEIRO, A. A.; BATTAGLINI, A. P. P.; ORTOLANI, M. B. T.; BARROS, M. A. F. Boas práticas de ordenha para redução da contaminação microbiológica do leite no agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 1, p. 277-286, 2011.

MENASCHE, R.; KRONE, E. E. **Queijo Serrano: identidade e cultura nos Campos de Cima da Serra**. In: REUNIÃO DE ANTROPOLOGIA DO MERCOSUL, VII, 2007, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: UFRGS, 2007.

OLIVEIRA, V. M. de; CARNEIRO, A. V.; ROCHA, B. B.; NEVES, A. L. A. **Competitividade da Cadeia Produtiva do Leite em Pernambuco: Manejo de ordenha para pequenas propriedades e orientações básicas para se obter um leite e derivados próprios para consumo**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2009. 375p.

PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M.; PIRES, A. C. S.; FONTES, L. B. A.; VARGAS, P. I. R. Segurança alimentar do Queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesq. Agropec. Trop.**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 342-347, out./dez. 2009.

SANTANA, R.F.; SANTOS, D.M.; MARTINEZ, A.C.C.; LIMA, Á.S. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.60, n.6, p.1517-1522, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S. ; GOMES, R. A. R. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 4ª ed. São Paulo: Varela. 2010.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Roca,2004. 556p.

VALLE, E. R. **Boas práticas agropecuárias: bovinos de corte: manual de orientações**. 2. ed. rev. ampl.. Campo Grande, MS : Embrapa Gado de Corte, 2011.69 p.

VALLIN, V. M.; BELOTI, V.; BATTAGLINI, A. P. P.; TAMANINI, R.; FAGNANI, R.; ANGELA, H. L.; SILVA, L. C. C. Melhoria da qualidade do leite a partir da implantação de boas práticas de higiene na ordenha em 19 municípios da região central do Paraná. **Revista Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n.1, p. 181 - 188, jan./mar. 2009.