

MANUAL DE COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE CRU, LEITE CRU REFRIGERADO E LEITE PASTEURIZADO/UHT



Realização



Faculdades
Gammon

Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total, detecção de resíduos de antibióticos e detecção de fraude econômica

Med. Vet. Msc Ângelo Ricardo Garcia
Med. Vet. Esp. Cinthia Maria Ribeiro Lourenço

Versão 01
SETEMBRO DE 2020

Sumário

1- Introdução	4
2- Procedimentos para coleta de amostras de leite cru e leite cru refrigerado para contagem de células somáticas e contagem total de bactérias	5
2.1- Recomendações gerais.....	5
2.2- Responsáveis pela coleta.....	5
2.3- Conservação da amostra e envio ao laboratório.....	5
2.4- Formulário.....	6
2.5- Materiais Necessários.....	6
2.6- Tanque de refrigeração.....	7
2.6.1- Procedimento antes da coleta	7
2.6.2- Procedimento de coleta	7
2.7- Latão.....	8
2.7.1- Procedimento de coleta	8
3- Procedimento para coleta de Leite Cru Refrigerado/Fluido a Granel de Uso Industrial (Leite Estocado a Granel)	8
3.1- Análise de CMP (Caseínomacropéptídeo) e Pesquisas de Fraudes (amido, cloretos, sacarose, formaldeído e substâncias redutoras voláteis).....	8
3.1.1 Materiais Necessários	8
3.1.2- Procedimentos de Coleta	9
3.2- Análises Físico-Químicas.....	10
3.2.1- Materiais Necessários	10
3.2.2- Número de Amostras e quantidade mínima	10
3.2.3- Procedimentos de coleta	10
4- Procedimento para coleta de Leite Pasteurizado/UH	11
4.1- Análise de CMP (Caseínomacropéptídeo) e Pesquisas de Fraudes (amido, cloretos, sacarose, formaldeído e substâncias redutoras voláteis)	11
4.1.1- Materiais Necessários	11
4.1.2- Número de amostras e quantidade mínima	11
4.1.3- Procedimentos de coleta	12
5- Observações finais	13
Referências	14

1- Introdução

No Brasil, o controle da qualidade do leite cru e leite cru refrigerado proveniente de rebanhos que fornecem matéria-prima para laticínios sob inspeção oficial, está previsto no art. 82 do Decreto 9.013/2017 e nas Instruções Normativas nº 76 e 77/2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Essas normas determinam a coleta mensal de pelo menos uma amostra de leite de cada rebanho, para determinação do teor de gordura; teor de proteína total; teor de lactose anidra; teor de sólidos não gordurosos; teor de sólidos totais; contagem de células somáticas (CCS); contagem total de bactérias (CTB); detecção de resíduos de produtos de uso veterinário e detecção de fraude econômica, em unidades operacionais da Rede Brasileira de Laboratórios de Controle da Qualidade do Leite (RBQL).

Os procedimentos para coleta e transporte de amostras de leite são padronizados, pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA), para que os resultados obtidos por diferentes laboratórios possam ser comparados entre si. Estes resultados podem ser utilizados tanto para o monitoramento da sanidade da glândula mamária pelo produtor rural, para a determinação da qualidade da matéria prima pela indústria e avaliação da qualidade e seguridade do leite pelos serviços de inspeção oficiais.

Segundo o MAPA, as amostras fiscais a serem coletadas são definidas por levantamento estatístico realizado pelo DIPOA, sendo periodicamente comunicado aos serviços de inspeção, de acordo com o programa a ser executado. Quando a coleta da amostra for programada antecipadamente, deverá ser realizada em horário que permita o seu envio ao laboratório imediatamente após sua coleta ou o mais brevemente possível sendo que algumas análises devem ser iniciadas no prazo de até 24 horas após a coleta da amostra.

Os laboratórios da Rede Nacional de Laboratórios Agropecuários (RBQL) do Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA), somente aceitarão amostras que cheguem aos laboratórios nas seguintes condições:

- a) Lacradas e sem sinais de violação;
- b) Em embalagens e recipientes adequados, conforme descrito no item 2.3;
- c) Em estado de conservação aceitável, conforme descrito no item 2.3;
- d) Dentro do prazo de validade do produto processado;
- e) Em quantidade suficiente (900 ml);
- f) Estarem acompanhadas de documentação adequada e devidamente preenchida;
- g) Estarem em conformidade com os critérios de recebimento de amostras estipulados pelo Manual de Procedimentos para Laboratórios disponível na página

eletrônica do MAPA, pelo link <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/produtos-de-origem-animal>.

2- Procedimentos para coleta de amostras de leite cru para contagem de células somáticas e contagem total de bactérias

2.1- Recomendações gerais

Antes da coleta propriamente dita, o coletor deve certificar-se da disponibilidade dos materiais necessários nas etapas de coleta, conforme especificado no item 2.5, acondicionamento e remessa das amostras que serão coletadas em atendimento aos programas oficiais e ou demandas extraordinárias.

As amostras destinadas às análises físico-químicas devem ser coletadas em triplicata, constituindo uma amostra de prova/fiscal, uma contraprova para o Serviço de Inspeção Oficial e uma contraprova da empresa, embaladas e lacradas individualmente.

A coleta de amostras de leite para análise laboratorial será realizada sem aviso prévio. Dessa forma, evitam-se, mudanças dos procedimentos de rotina da ordenha e do armazenamento do leite, o que poderia comprometer a representatividade da amostra, uma vez que as análises não são realizadas diariamente.

2.2- Responsáveis pela coleta

Os responsáveis pela coleta devem dispor de tempo suficiente para proceder à coleta conforme as instruções recebidas, especialmente quanto à homogeneização do leite antes da coleta e uso correto dos frascos e conservantes pela coleta. Devem assegurar a integridade das amostras, bem como sua rastreabilidade e confiabilidade documental (informações legíveis). Serão evitadas modificações nas características e as amostras devem ser coletadas por pessoas treinadas e estas devem seguir rigorosamente todos os procedimentos (avaliação de riscos relativos ao contato com conservantes, atenção aos cuidados higiênicos etc) com o dever de preservar as características desta amostra para que se possa obter qualidade e confiabilidade dos resultados.

2.3- Conservação da amostra e envio ao laboratório

✓ Imediatamente após a coleta, as amostras de leite devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas (caixas de isopor ou outro material isolante adequado) necessariamente íntegras, em condições higiênicas, de paredes suficientemente espessas para uma adequada proteção física, química e microbiológica, além disso,

MANUAL DE COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE CRU, LEITE CRU REFRIGERADO E LEITE PASTEURIZADO

6

devem, preferencialmente, ser de primeiro uso para garantir a integridade, inviolabilidade e conservação da amostra.

- ✓ Para conservação, deve-se utilizar material refrigerante (apenas o uso de gelo reciclável) e em quantidade proporcional ao volume da amostra, garantindo a sua conservação, sendo que, a temperatura interna da caixa deve chegar em, no máximo, 7 °C.
- ✓ Deve-se colocar uma camada de gelo reciclável na parte inferior e nas laterais da caixa isotérmica, e outra camada sobre as amostras, e no espaço que sobrar acima da camada superior de gelo reciclável deve-se completar com papel amassado para diminuir a perda de temperatura da caixa para o meio externo e evitar que as amostras sofram choques durante o transporte até o laboratório.
- ✓ A amostra não poderá ficar em contato direto com o material refrigerante, nem em contato com a água do degelo.
- ✓ Deve-se fechar a caixa contendo a amostra com a utilização de fita adesiva e lacre adesivo e fixar na face externa desta caixa o documento oficial de solicitação de análise já dentro de um saco plástico lacrado.
- ✓ De acordo com Manual de Procedimento para Laboratórios 2019 do MAPA, o período entre a coleta e a chegada das amostras no laboratório não deve exceder 48 horas.

2.4- Formulário

Para o envio das amostras ao laboratório deverá ser preenchido o formulário da Solicitação Oficial de Análises (SOA) contendo informações referentes à identificação do rebanho, procedimento de coleta e quais análises estão sendo solicitadas (teor de gordura; teor de proteína total; teor de lactose anidra; teor de sólidos não gordurosos; teor de sólidos totais; contagem de células somáticas; contagem padrão em placas; resíduos de produtos de uso veterinário).

2.5- Materiais Necessários

- ✓ Lacs ou sacos lacres com numeração e identificação do Serviço de Inspeção Oficial;
- ✓ Saco plástico para a proteção do formulário da Solicitação de Análise Oficial (SOA);
- ✓ Caixas de material isotérmico para transporte de amostras;
- ✓ Fita adesiva para selar a caixa isotérmica (caixa isopor);

MANUAL DE COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE CRU, LEITE CRU REFRIGERADO E LEITE PASTEURIZADO

7

- ✓ Agitador (manual ou automático) - nos casos de coleta de baldes e latões poderá ser utilizado um homogeneizador manual a fim de obter homogeneização mais adequada;
- ✓ Concha, caneca ou outro utensílio que possa ser utilizado para coletar o leite - coletor específico ou tipo concha, fabricados em inox, devidamente higienizados. Os materiais de coleta devem ser armazenados em locais adequados e, antes da sua utilização, devem ser limpos com detergente neutro ou álcool 70°;
- ✓ Frascos de boca larga com tampa tipo lacre, sem nenhuma inscrição. Preferencialmente o frasco deverá ter capacidade mínima de 900ml. Na ausência destes, alternativamente podem ser utilizados tantos frascos quanto forem necessários para atingir o volume necessário de amostra.

2.6- Tanque de refrigeração

2.6.1- Procedimentos antes da coleta

- a) Deve-se observar se há anormalidade no leite, em caso de alterações não realizar a coleta e registrar a ocorrência.
- b) Deve-se medir o volume de leite com a régua cuidadosamente higienizada. Após, secar com toalha de papel descartável ao nível do leite e registrar.
- c) Homogeneizar o leite agitando-o por cinco minutos imediatamente antes da coleta da amostra. Quando a capacidade do tanque for acima de 5.700 litros, o tempo de agitação deve ser aumentado para dez minutos, ou de acordo com a recomendação do fabricante. As amostras devem sempre ser coletadas com o agitador parado.
- d) Verificar a temperatura do leite e também registrar.

2.6.2- Procedimento de coleta

- a) Após a homogeneização do leite, deve-se coletar amostra utilizando coletor próprio ou tipo concha, devidamente higienizado e transferi-lo para o frasco de CCS e CTB até a linha identificada no frasco como MÁX.
- b) Deve-se realizar a homogeneização da amostra, invertendo os frascos várias vezes, até a dissolução completa das pastilhas de conservante.
- c) Deve-se identificar as amostras colando as etiquetas no sentido vertical do frasco.
- d) Acondicionar as amostras conforme descrito no subitem “Conservação da amostra e envio ao laboratório”.

2.7- Latão

2.7.1- Procedimentos para coleta

- a) Deve-se observar se há anormalidade no leite, em caso de alterações não realizar a coleta e registrar a ocorrência.
 - b) Deve-se medir e anotar o volume do leite total do latão.
 - c) Homogeneizar o leite utilizando o homogeneizador manual realizando dez movimentos suaves de cima para baixo.
 - d) Coletar amostra de leite com o auxílio de um coletor e transferi-la para o frasco.
 - e) Realizar a homogeneização da amostra, invertendo os frascos até a dissolução completa das pastilhas de conservante.
 - f) No caso de existirem vários latões, deve-se transferir as quantidades de leite proporcionais ao volume de cada latão para outro recipiente e proceder a homogeneização, retirando o volume necessário para o frasco que levará a amostra.
 - g) Realizar a identificação das amostras com as etiquetas encaminhadas juntamente com os frascos.
 - h) Imediatamente após a coleta, as amostras de leite devem ser acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, como orientado anteriormente.
- ✓ Observação: Deve-se manter o frasco no momento da coleta fora da área de abertura do tanque/latão, para que o conservante não caia no leite armazenado, caso isto ocorra, o leite deverá ser desprezado.

3- Procedimento para coleta de Leite Cru Refrigerado/Fluido a Granel de Uso Industrial (Leite Estocado a Granel)

3.1- Análise de CMP (Caseínomacropéptido) e Pesquisas de Fraudes (amido, cloretos, sacarose, formaldeído e substâncias redutoras voláteis)

3.1.1- Materiais Necessários

- ✓ Lacres ou sacos lacres com numeração e identificação do Serviço de Inspeção Oficial;
- ✓ Saco Plástico para a proteção do formulário da Solicitação de Análise Oficial (SOA);

MANUAL DE COLETA DE AMOSTRAS DE LEITE CRU, LEITE CRU REFRIGERADO E LEITE PASTEURIZADO

9

- ✓ Caixas de material isotérmico para transporte de amostras;
- ✓ Fita adesiva para selar a caixa isotérmica (caixa isopor);
- ✓ Agitador (manual ou automático) - nos casos de coleta de baldes e latões poderá ser utilizado um homogeneizador manual a fim de obter homogeneização mais adequada;
- ✓ Concha, caneca ou outro utensílio que possa ser utilizado para coletar o leite devidamente higienizados. Os materiais de coleta devem ser armazenados em locais adequados e, antes da sua utilização, devem ser limpos com detergente neutro ou álcool 70°;
- ✓ Frascos de boca larga com tampa tipo lacre, sem nenhuma inscrição. Preferencialmente o frasco deverá ter capacidade mínima de 900ml. Na ausência destes, alternativamente podem ser utilizados tantos frascos quanto forem necessários para atingir o volume necessário de amostra.
- ✓ Número de amostras e quantidade mínima: Amostra em triplicata (prova, contraprova do serviço de inspeção oficial, contraprova da empresa): coletar 3 amostras, cada uma com volume mínimo de 900ml.

3.1.2- Procedimentos de coleta

- a) Deve-se agitar o leite fortemente por 3 minutos, no caso de agitação manual (dentro do caminhão), ou ligar o motor do agitador quando o leite estiver em silo ou balão de estocagem dotado de sistema de pás. Uma boa homogeneização da amostra é fundamental para garantir a sua representatividade;
- b) Deve-se utilizar o auxílio de uma caneca e coletar 3 amostras com aproximadamente 900ml de leite cada;
- c) Deve-se realizar o acondicionamento do leite em 3 frascos, sem preencher toda a sua capacidade para que não haja extravasamento do conteúdo devido o procedimento de congelação do leite;
 - ✓ Se não for possível a utilização de um frasco de 900ml, as amostras deverão ser distribuídas em tantos frascos quantos forem necessários até completar o volume mínimo de 900ml para cada amostra;
- d) Deve-se preencher corretamente o formulário de solicitação oficial de análise;
- e) Deve-se destacar, proteger e fixar a cinta de identificação da amostra nos frascos contendo as amostras, de forma que seja possível ler todas as informações existentes;
- f) Deve-se inserir cada amostra devidamente identificada em sacos lacre ou sistema equivalente (saco transparente com lacre), observando o número do lacre de cada amostra: prova, contraprova Serviço de Inspeção Oficial e contraprova empresa e lacrá-las adequadamente;

- g) Realizar o congelamento das amostras em até 12 horas após a coleta. Para o não congelamento imediato, as amostras deverão ser mantidas resfriadas até que o seu congelamento seja realizado. Para que todo o conteúdo da amostra seja congelado, sugerimos utilizar freezer ou câmara de congelamento por no mínimo 24 horas;
- h) Deve-se colocar o saco lacrado em caixa térmica previamente preenchida com material refrigerante;
- j) Preparar a caixa para envio ao laboratório como orientado anteriormente.

3.2- Análises Físico-Químicas:

3.2.1- Materiais necessários

- ✓ Lacs ou sacos lacres com numeração e identificação do Serviço de Inspeção Oficial;
- ✓ Saco Plástico para a proteção do documento oficial de solicitação de análise;
- ✓ Caixas de material isotérmico para transporte de amostras;
- ✓ Fita adesiva para selar a caixa isotérmica (caixa isopor);
- ✓ Agitador (manual ou automático);
- ✓ Concha, caneca ou outro utensílio que possa ser utilizado para coletar o leite;
- ✓ Frascos de boca larga com tampa tipo lacre, sem nenhuma inscrição. Preferencialmente o frasco deverá ter capacidade mínima de 900ml. Alternativamente podem ser utilizados tantos frascos quanto forem necessários para atingir o volume necessário de amostra.

3.2.2.- Número de amostras e quantidade mínima

- ✓ Amostra simples (prova): coletar uma única amostra com volume mínimo de 900ml. Não deve ser coletada amostra de contraprova para análise físico-química de leite cru, uma vez do curto prazo de validade ao qual impede a realização de análise pericial de contraprova.

3.2.3- Procedimentos de coleta

- a) Deve-se agitar o leite fortemente por 15 minutos, no caso de agitação manual (dentro do caminhão), ou ligar o motor do agitador quando o leite estiver em silo ou balão de estocagem dotado de sistema de pás. Uma boa homogeneização da amostra é fundamental para garantir a sua representatividade

- b) Deve-se utilizar o auxílio de uma caneca e coletar 1 amostra com aproximadamente 900ml de leite cada. Se não for possível a utilização de um frasco de 900ml, a amostra deverá ser distribuída em tantos frascos quantos forem necessários até completar o volume mínimo de 900ml;
- c) Acondicionar o leite no frasco;
- d) Deve-se preencher corretamente o formulário de solicitação oficial de análise;
- e) Deve-se destacar, proteger e fixar a cinta de identificação da amostra no frasco contendo a amostra, de forma que seja possível ler todas as informações existentes;
- f) Deve-se inserir a amostra devidamente identificada em sacos lacre ou sistema equivalente (saco transparente com lacre);
- g) Lacrar adequadamente a embalagem;
- h) Manter a amostra sob refrigeração, desde a coleta até o recebimento no laboratório;
- i) Colocar o saco lacrado em caixa térmica previamente preenchida com material refrigerante, conforme orientado anteriormente;
- j) Preparar a caixa para envio ao laboratório conforme também orientado anteriormente.

4- Procedimento para coleta de Leite Pasteurizado/UHT

4.1- Análise de CMP (Caseínomacropéptido) e Pesquisas de Fraudes (amido, cloretos, sacarose, formaldeído e substâncias redutoras voláteis)

4.1.1- Materiais necessários

- ✓ Lacs ou sacos lacs;
- ✓ Saco Plástico para a proteção do documento oficial de solicitação de análise;
- ✓ Caixas de material isotérmico para transporte de amostras;
- ✓ Fita adesiva para selar a caixa isotérmica (caixa isopor).

4.1.2- Número de amostras e quantidade mínima

✓ Amostra em triplicata (prova, contraprova do serviço de inspeção oficial, contraprova da empresa): coletar 3 amostras, cada uma com volume mínimo de 900ml.

✓ As 3 amostras devem pertencer ao mesmo lote, não devendo ser consideradas as informações complementares ao número do lote na sua identificação, tais como: hora, minuto e segundo.

4.1.3- Procedimentos de coleta

- a) Deve-se coletar 3 amostras do produto em sua embalagem original;
- b) Deve-se preencher atentamente o formulário de solicitação oficial de análise;
- c) Deve-se destacar, proteger e fixar a cinta de identificação nas embalagens das amostras, de forma que seja possível ler todas as informações existentes;
- d) Deve-se inserir cada amostra devidamente identificada em sacos lacre ou sistema equivalente (saco transparente com lacre), observando o número do lacre de cada amostra: prova, contraprova serviço de inspeção oficial e contraprova Empresa;
- e) Deve-se lacrar adequadamente as embalagens;
- f) Deve-se congelar as amostras, respeitando-se os seguintes prazos:
 - ✓ Leite pasteurizado: o congelamento deve ocorrer em até 12 horas após a coleta;
 - ✓ Leite UHT: o congelamento deve ocorrer em até 48 horas a partir da data de fabricação.
 - ✓ Observação: As amostras deverão ser mantidas resfriadas até que seu congelamento seja realizado. Sugere-se freezer ou câmara de congelamento por no mínimo 24 horas.
- g) Colocar o saco lacrado em caixa térmica previamente preenchida com material refrigerante;
- h) Preparar a caixa para envio ao laboratório conforme orientado anteriormente.

5- Observações finais

- ✓ As ações de inspeção, fiscalização e investigações devem estar bem integradas com os laboratórios, devendo haver sincronismo entre a remessa e a capacidade do laboratório em executar as análises, mediante o desenvolvimento e execução de cronogramas de remessa de amostras.
- ✓ Deve-se atentar para o intervalo de tempo definido entre a coleta e o início do ensaio;
- ✓ Sempre que houver necessidade de fracionamento do produto para obtenção da amostra, devem ser tomados todos os cuidados com a assepsia na sua obtenção;
- ✓ As amostras para realização de ensaios para verificação de atendimento aos parâmetros de identidade e qualidade destinadas a área físico-química devem estar em envoltórios separados daquelas destinadas aos ensaios microbiológicos.

REFERÊNCIAS

DIAS, J. A., Antes, F. G. - **Documentos 150 - Procedimentos para a coleta de amostras de leite para contagem de células somáticas, contagem bacteriana total e detecção de resíduos de antibióticos** - ISSN 0103-9865, Porto Velho/RO, Outubro 2012. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/983813/1/doc150leite.pdf>

BRITO, J. R. F et al. - **Circular Técnica 109 - Procedimentos para coleta e envio de amostras de leite para determinação da composição e das contagens de células somáticas e de bactérias totais** - ISSN 1678-037X, Juiz de Fora/MG, Setembro, 2017. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/136566/1/CircularTecnica-109-Framboesa.pdf>

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - **Manual de coleta de amostras de produtos de origem animal**, Versão 04- Brasília, Março/2020 . Disponível em: http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2020/03/Manual_10238871_Manual_de_Coleta_versao_04___marco_2020.pdf

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Área de Microbiologia e Físico-química de Produtos de Origem Animal - **Manual de procedimentos para laboratórios** 4^a.ed. – Brasília, 2019. Disponível em: https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/poaManualdeProcedimentosPOA4edjan_2020.pdf

SILVA, A. C. L. - MCF- **Manual de instruções para coleta e envio de amostras de leite para análise** – Piracicaba/SP, Novembro/2019. Disponível em: <https://static1.squarespace.com/static/5ba13ccdc258b480c8e7d64e/t/5e3aae5c40f8654969623bab/1580904036576/manual+de+coleta+de+fazendas.pdf>