TÂNIA MARIA DOS REIS

QUALIDADE HIGIÊNICO–SANITÁRIA DO LEITE COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE PONTES E LACERDA – MT

Trabalho de conclusão do curso de graduação em Zootecnia, apresentado ao Departamento de Zootecnia (DZ) da Universidade do Estado de Mato Grosso – Campus Universitário de Pontes e Lacerda, como requisito parcial para a obtenção do título de graduada em Zootecnia.

Orientadora: Msc. Giulianna Z. Miguel

PONTES E LACERDA – MT

2006

Esta monografia foi apresentada e defendida perante a seguinte banca examinadora:

Professora Msc. Giulianna Z. Miguel - UNEMAT
(Orientadora)

Professora Msc. Edinéia Alves Moreira Baião - UNEMAT
(Membro)

Professor Ricardo Porfírio - UNEMAT
(Membro)

PONTES E LACERDA – MT, 04 de julho de 2006.

DEDICO:

A Deus que me deu a vida;

A vida que me fez forte para lutar;

A luta que me trouxe a esperança;

A esperança que me levou a vitória;

Ao meu esposo Salvador que sempre apoiou nesta caminhada;

Aos meus filhos Jéssica e Leonardo que foram o motivo maior da minha luta;

Aos meus pais Joaquim Mário e Maria da Penha que me educaram para vencer sem perder a honestidade, a integridade e a dignidade.

Aos meus colegas da EMPAER de Pontes e Lacerda que nos momentos de quase desistência me incentivaram a continuar a lutar. Em especial ao José Antônio Gonzáles da EMPAER de Cáceres, que me deu total apoio nos momentos em que mais precisei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me dado oportunidade de realizar um sonho a muito tempo adormecido, o qual pensava que jamais fosse capaz de realizar.

Agradeço ao meu esposo, por todo amor, paciência e companheirismo dedicado a mim durante esta jornada.

Aos meus filhos pela compreensão durante este período de ausência.

A minha professora e orientadora Ms. Giulianna Zilocchi Miguel, por ter me aceitado como orientada na execução deste trabalho, em especial, pela dedicação a mim dispensada que foi fundamental para a realização deste trabalho.

Ao professor e Biomédico Ricardo Porfírio, por todo o apoio dado durante a execução das análises microbiológicas aqui descritas.

À Professora Ms. Edinéia Alves Moreira Baião, por ter aceitado participar da banca examinadora.

A todos os professores e funcionários da UNEMAT.

A todos os colegas do oitavo semestre, em especial Tatiane Barros, Marcelo Cunha Leite e Jaime May, que sempre me apoiaram para que eu pudesse vencer cada batalha durante esses anos que passamos juntos.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CCS – Contagem de células somáticas

CMT – Califórnia Mastitis Test

CT – Coliformes totais

EMB – Ágar Eosina Azul de Metileno

ESD – Extrato Seco desengordurado

HSTS – High temperature short time

LHT – Low temperature holding

LTLT – Low temperature long time

NMP – Número mais provável

UFC – Unidades Formadora de Colônias

WMT – Wisconsin Mastitis Test

RESUMO

QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DO LEITE DE VACAS COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE PONTES E LACERDA – MT. Tânia Maria dos Reis (Acadêmica do Departamento de Zootecnia – Unemat, Pontes e Lacerda/MT); Profª Orientadora, Giulianna Zilocchi Miguel, Departamento de Zootecnia – Unemat, Pontes e Lacerda/MT.

O leite é um alimento utilizado em todas as faixas etárias, devido sua alta digestibilidade e seu indiscutível valor biológico (FRANCO, 2000). Segundo Tetra Park (2000), denomina-se leite informal aquele sem tratamento térmico que é vendido aos consumidores, sem qualquer inspeção, geralmente é embalado sem nenhum critério. Este leite representa risco à saúde dos consumidores, pois não apresenta qualquer controle sanitário, sendo que o leite é considerado um excelente meio de cultura para a proliferação de microrganismos, esses microrganismos podem contaminar o homem através da ingestão de leite cru, influenciar no tipo de processamento a ser utilizado e interferir na qualidade deste produto e de seus derivados. Em função disso, considerando que na cidade de Pontes e Lacerda (MT), há um grande consumo de leite informal, decidiu-se fazer um estudo da qualidade microbiológica do mesmo. As amostras, coletadas de leiteiros, que comercializam leite clandestinamente nas ruas de Pontes e Lacerda, foram coletadas assepticamente, embasadas em vidros devidamente esterilizados e transportadas ao laboratório para realização das análises microbiológicas. Com base nos resultados obtidos podemos concluir que o leite informal comercializado na cidade de Pontes e Lacerda, não é um produto adequado para o consumo da população, visto que as amostras de todos os fornecedores encontraram-se fora dos padrões microbiológicos da legislação. Os resultados microbiológicos dos leites pasteurizado e esterilizado coletados em estabelecimentos comerciais na cidade apresentaram análises com resultados sanitários satisfatórios.

1 INTRODUÇÃO

A cadeia produtiva do leite aguarda que 2006 seja um período de equilíbrio, traduzido em crescimento moderado da produção, preços uniformes ao longo do ano e crescimento do país no papel de exportador de lácteos. Em 2005 houve um aumento na produção leiteira maior que o correspondente ao aumento do consumo, ou seja, a produção cresceu 17% no período que compreende os anos de 2001 a 2005: 20.510.000 e 24.762.000 milhões de litros, respectivamente, e o consumo *per capita* cresceu, no mesmo período 8,20%: 123,2 e 130,9 litros por habitante, respectivamente (FORTES, 2006). De acordo com dados da Embrapa, a produção leiteira no Brasil, em 2005, girou em torno de 25.000.000 de litros, sendo que a produtividade em 2001 foi de 1,127 litros/vaca por ano e passou a 1,189 litros/vaca ano em 2005. Destes 25.000.000 de litros de leite obtidos no ano de 2005, apenas 11.894.000 de litros foram fiscalizados sob a inspeção federal.

A comercialização do leite cru no Brasil é proibida desde 1952 (BRASIL, 1997), porém, a venda deste tipo de leite tem sido realizada em inúmeras cidades do país, muitas delas possuidoras de elevado nível sócio econômico e cultural, (QUEIROZ, 1995), fato este preocupante, pois o leite cru pode veicular inúmeros microrganismos patogênicos ao homem (ROBINSON, 1987). Estima-se que desde 1997 a produção de leite informal cresceu entre 28% a 29%, aumentando o problema, pois com o crescimento da produção de leite informal, cresce o consumo de produtos clandestinos, pela classe de baixa renda, comprometendo a saúde da população. A região Sudeste é a região com maior percentual de leite sob inspeção, 79,3%. As regiões Sul e Centro-Oeste apresentam aproximadamente os mesmos percentuais de consumo de leite formal, 60,65 % e 63,10 %, respectivamente. A região Norte apresenta uma proporção de 63,01 % de consumo industrial de leite sob inspeção. No Nordeste, o percentual de consumo de leite formal, equivale a apenas 30,29% do total produzido, revelando as dificuldades dessa região no que se refere á produção de leite sob inspeção (FARINA, 2001).

Entende-se por leite informal, o produto fluído sem tratamento térmico que normalmente é consumido diretamente nas propriedades ou vendido aos consumidores, e de acordo com Tetra Pack (2000), cerca de 22,4% do total do leite consumido hoje se encontra na informalidade.

Considerando a destacada importância que o leite assume na alimentação humana, o presente trabalho tem como objetivo avaliar as características microbiológicas do leite comercializado clandestinamente no município de Pontes e Lacerda - MT, a fim de conhecermos qual é a real condição higênico-sanitária desse leite que chega ao consumidor, e para que se preste assistência técnica adequada aos produtores, quanto aos procedimentos e cuidados a serem tomados durante todo o processo de produção, além de alertar a população e autoridades responsáveis.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Qualidade do leite

O leite é uma emulsão de cor branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e gosto adocicado, secretado pelas glândulas mamárias e obtido pela ordenha total e ininterrupta de fêmea leiteira sã, bem alimentada e em perfeito estado de saúde. É um alimento indispensável aos mamíferos, nos primeiros meses de vida, enquanto não podem digerir e assimilar outras substâncias necessárias a sua subsistência (BRASIL, 1997).

Devido o fato do leite ser um produto fluído altamente nutritivo, é utilizado como alimento básico na dieta humana em todas as faixas etárias, possuindo alta digestibilidade, excelente valor biológico e também é fonte de proteína, cálcio e ácidos graxos essenciais (FRANCO, 1992). A qualidade do leite é um conceito complexo, pois além de ser atribuída a um conjunto de fatores, tais como: valores nutricionais, características sensoriais e presença de microrganismos, também pode variar em função da cultura, da região e até mesmo da época.

A avaliação da composição química, obtida através de análises bromatológicas e cromatográficas, revelará os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas, que, por sua vez, são influenciados por fatores que variam em função da alimentação, das práticas de manejo, da genética, da raça do animal, período de lactação, escore corporal, além de fatores ligados a cada animal, como situações de estresse (ABREU, 2004). Por ser um alimento de alto valor nutritivo, o leite é um excelente meio de cultura para microrganismos, podendo ser facilmente contaminado por microrganismos durante as diversas etapas de obtenção. Estas bactérias costumam alterar a qualidade nutricional do leite através da decomposição das proteínas, lipídios e lactose (SANTOS e FONSECA, 2001).

As vacas da mesma raça, submetidas a dietas semelhantes, produzem um leite com uma composição química mais uniforme, mas os valores variam

muito entre vacas de diferentes raças. Também pode ser observada em vacas da mesma raça, que recebem alimentação distinta, uma variação no teor de gordura, sendo o teor fibra da dieta ou a relação volumoso/concentrado a responsável por essa variação. Assim, quanto maior o teor de fibra da dieta maior será o teor de gordura do leite, devido à variação na proporção de ácidos graxos voláteis produzidos no rúmen em função da diferença na dieta. (HARRIS & BACHMAN, 1998). A dieta também vai influenciar na variação do percentual do Extrato Seco Desengordurado (ESD), sendo o nível de variação deste, menor (RENEAU & PACKARD, 1991).

Em um mesmo ciclo de lactação, o ESD apresenta uma variação inversa à curva de produção de leite, ou seja, no primeiro mês o ESD é alto, reduzindo no segundo mês quando há o pico de produção de leite, e voltando a aumentar no final da lactação, à medida que a produção decresce (HARRIS & BACHMAN, 1998).

Algumas enfermidades, principalmente mastites, alteram significativamente a composição do leite, sendo que, os animais que são acometidos por doenças como mastite clinica ou mesmo por mastite subclínica, apresentam uma diminuição em percentuais de gordura e ESD, reduzindo os teores de lactose e, em alguns casos, de proteína. Estas alterações reduzem o valor nutritivo dos produtos lácteos, especialmente em relação aos teores de cálcio, adquirindo um sabor salgado, devido ao aumento dos níveis de sódio e cloro, e da queda do percentual de lactose (KITCHEN, 1981), assim, o leite obtido de vacas com mastite apresentam menor teor de caseína, manifestando redução sobre o rendimento industrial e o valor nutritivo dos produtos lácteos, principalmente queijos e iogurtes (SCHULTZ, 1997).

De acordo com Abreu (2004), a qualidade sensorial do leite se refere àquelas propriedades que dependem dos sentidos do homem, isto é, visão, tato, paladar e olfato. O leite que apresenta propriedades sensoriais desejáveis tem características agradáveis, próprias do alimento, como coloração branca e opaca, consistência homogênea, textura suave, ausência de grumos ou filamentos, odor suave e gosto levemente adocicado.

A qualidade higiênico-sanitária do leite é influenciada pelo estado sanitário do rebanho, pelo manejo dos animais e dos equipamentos durante a ordenha, e pela presença de microrganismos, resíduos de drogas e alterações no sabor e odor do leite (ABREU, 2004; PEREDA et al, 2005). A contaminação do leite altera a sua qualidade, causando deteriorações químicas (degradação da gordura, da proteína ou de carboidratos), alterando as suas características físicas, como por exemplo, o pH e suas propriedades sensoriais, como o sabor (HOFFMANN, 2000).

O estado de saúde da vaca vai refletir na quantidade de leite produzida, pois vaca em fase de produção exige maior quantidade de energia, então, se a vaca estiver acometida de alguma doença, seu consumo de alimento vai ser menor, o seu metabolismo vai ser modificado, e parte de suas energias será desviada para uma reação do organismo à enfermidade, diminuindo assim, a produção leiteira. Qualquer alteração na saúde da vaca refletirá diretamente na qualidade do leite, causando prejuízos, modificando as características sensoriais, químicas, físico-químicas e de ordem econômica, pois também poderá alterar o rendimento dos seus subprodutos (ABREU, 2004).

A mastite é definida como uma reação inflamatória da glândula mamária que provoca redução da produção e mudança da composição do leite, variando de acordo com a intensidade e a duração das infecções. A mastite pode se manifestar na forma clínica ou subclínica. Na forma subclínica, ao contrário da forma clínica, não ocorrem mudanças visíveis na aparência do leite ou do úbere, embora ocorram alterações na composição do leite e deste possam ser isolados microrganismos patogênicos. A mastite subclínica tem grande impacto na produtividade dos rebanhos leiteiros porque sua prevalência é maior que a da forma clínica e, assim as medidas para o seu controle têm recebido grande atenção. Para os casos de mastite clínica, o diagnóstico e a identificação da vaca com o problema são bastante fáceis e rápidos, pois pode ser feito somente pela observação de alterações visuais no leite e úbere (LARANJA & MACHADO, 1994).

Cardoso (1996) recomenda alguns métodos para diagnosticar a incidência de mastite subclínica nos rebanhos leiteiros, sendo eles: *Califórnia Mastitis Test* (CMT), *Contagem de Células Somáticas* (CCS) e *Wisconsin Mastitis Test* (WMT).

O CMT é utilizado mundialmente no diagnóstico da mastite subclínica e tem como vantagem poder ser empregado no local do rebanho, no momento em que os animais são ordenhados (BRITO et al, 1997). Para se medir a qualidade do leite de forma mais eficiente, usa-se a contagem de células somáticas, sendo um meio mais eficiente para avaliar a saúde da glândula mamária. No entanto, em uma glândula mamária infectada, as células de defesa correspondem de 98 a 99% das células encontradas no leite. Desse modo, a contagem de células somáticas (CCS) do leite indica, de maneira quantitativa, o grau de infecção da glândula mamária (ABREU, 2004). A WMT é realizada através de tubos especiais graduados, onde são colocados 2ml de leite mais 2ml de reativo, sendo mostrada a graduação com o número de células somáticas que o leite contém. Entretanto, o CMT, é utilizado para realizar a análise de cada quarto do úbere, podendo analisar também o leite total de uma vaca, o processo é realizado com uma raquete com quatro depósitos para o leite de cada teto. Após eliminar os primeiros jatos de leite de cada um dos quartos e logo após ordenhar um jato (2ml) de cada um dos quartos nos depósitos correspondente da raquete, depois adicione 2ml ou mais do reagente em cada depósito, agita-se suavemente a raquete. Se os quartos estiverem sãos o leite não muda de aspecto, e se os quartos estiverem com mamite subclínica, o leite vai apresentar um aspecto viscoso. (KIRCHOF, 1994).

De acordo com Machado et al (2000), células somáticas são células do organismo do animal presentes em baixos níveis no leite de vacas sem problemas no úbere, formadas por leucócitos, que são células brancas do sangue, tendo a função no mecanismo de defesa celular, no combate de doenças e auxilia na reparação de tecidos danificados, e por células epiteliais, que são células de descamação do úbere. Mas quando o número dessas células aumenta, é indicação de infecção intramamária (mastite).

Para um controle efetivo da mastite, uma boa rotina de ordenha higiênica é necessária, sendo recomendado uma preparação da ordenha onde se deve

realizar o pré dipping (desinfecção das tetas). Vacas com mastite ou vacas com um maior número de células somáticas devem ser ordenhadas no final da ordenha do grupo e a prática de pós dipping das tetas deve ser feita. Assegurar um nível alto de higiene no meio ambiente é um importante fator para manter as vacas limpas bem como suas baias. Por último e de grande importância é a manutenção periódica do equipamento de ordenha, onde se observa, por exemplo, os níveis de vácuo, freqüência e relação de pulsação e reposição de componentes de borracha, entre outros (FONSECA, 2000).

Segundo Fonseca, et al (1999), o equipamento de ordenha pode facilitar a transmissão de patógenos entre vacas e entre quartos do úbere. A ação do equipamento de ordenha pode também causar a migração de bactérias do exterior da teta para seu interior em função de flutuações excessivas de vácuo. Além do mais, flutuações de vácuo no coletor podem fazer com que o leite passe de um copo para o outro. O esfíncter pode ser afetado pelo equipamento de ordenha resultando em lesões nas tetas, as quais serão colonizadas por bactérias. Níveis excessivos de vácuo, sobre a ordenha e pulsação inadequada (insuficiente ou fase de massagem muito pequena) são fatores que podem causar danos nas tetas. Estes exemplos demonstram a importância de como o equipamento de ordenha deve ser fabricado e também como o produtor deve observar seu manuseio.

O valor nutritivo e a produção de leite podem diminuir significativamente, com os níveis elevados de células somáticas do leite, aumentando também a quantidade de leite descartado pelo uso de antibióticos em vacas tratadas, elevando os custos com medicamentos e dos gastos com assistência técnica (PETIM-BATISTA, 1996).

O leite retirado assepticamente de um animal sadio contém pequeno número de bactérias do tipo saprofílítico, que são microrganismos que pouco alteram a qualidade sanitária do leite, porém devem constar em número absolutamente controlado, afim de que não influenciem o padrão de qualidade desejável. Entretanto, o leite proveniente de vacas doentes, ou em estado duvidoso de saúde pode conter bactérias patogênicas, precursoras de zoonoses,

ou seja, doenças que podem ser transmitidas dos animais para os seres humanos. Portanto, para que o consumo do produto e dos subprodutos de leite seja seguro para os homens é imprescindível que haja rigor no controle sanitário de animais produtores deste alimento (VASCONCELLOS, 1983).

Dentre as zoonoses bovinas, a brucelose é uma doença que pode ser transmitida do animal para o ser humano, através da ingestão do leite proveniente da fêmea infectada, causando males como infertilidade, cegueira, e até mesmo a morte. Talvez o fato mais grave seja o de que esta doença não possua cura em seres humanos. O tempo de incubação no homem é de 5 a 30 dias ou mais. Os principais agentes etiológicos da brucelose são: *Brucella abortus* (bovinos), *Brucella melitensis* (caprinos) e a *Brucella suis* (suínos) (CARVALHO, 2004).

Segundo Souza, et al (1999), a tuberculose bovina é uma das principais zoonoses transmitidas pelo bovino ao homem, sendo transmitida aos humanos através da ingestão do leite cru, contaminado, o qual constitui uma das principais formas de infecção humana provocada pela bactéria *Mycobacterium bovis* ou *Mycobacterium tuberculosis.* É uma doença infecciosa crônica de longa duração no homem, representando ainda uma importante causa de mortalidade em muitos países em desenvolvimento. No animal a enfermidade se localiza especialmente nos pulmões diminuindo a capacidade respiratória, afetando também as glândulas mamárias. No homem provoca tuberculose abdominal e ganglionar.

Outra doença bovina transmitida ao homem através do leite é a Febre Q, tendo como agente responsável a *Coxiella burnetti.* Os animais infectados que podem apresentar-se visivelmente sadios excretam o microrganismo no leite, e o homem se contamina através da ingestão do leite cru, contaminado, desenvolvendo assim uma infecção pulmonar grave, mas raramente fatal. A *Coxiella burnetti* permanece viável por vários dias na água ou leite, sendo a pasteurização suficiente para deixar o leite livre deste microrganismo (CARVALHO, 2004).

Athiê (1988), descreve que a estimulação é um manejo importante durante a ordenha e no ato de mamar dos bezerros, pois receptores nervosos existentes na pele da teta, sensíveis a pressão, são ativados, fazendo o hormônio ocitocina

responsável pela liberação do leite, agir. O tempo entre o início da estimulação e a ejeção do leite chamado de "descida do leite" é em torno de 30 a 60 segundos, mas pode variar de vaca para vaca e também depende do estágio de lactação em que a vaca está. Este fato também depende do número de vezes em que a ocitocina é momentaneamente secretada, sendo que sua liberação ocorre uma vez durante a ordenha. O reflexo da ejeção do leite, incluindo a liberação da ocitocina, pode ser estimulado de muitas maneiras tais como o toque na teta, pela presença, visão e audição do bezerro ou do tratador, e ainda, pela alimentação durante a ordenha.

Segundo Vasconcelos (1990), a pré-estimulação é em geral o procedimento executado antes da instalação da unidade de ordenha, incluindo o ato de lavar e secar as tetas, que devem ser limpas por papel toalha, teste de mastite com caneca telada e pós dipping, que é o ato de fazer a desinfecção das tetas após a ordenha, tendo como objetivo eliminar a contaminação pós ordenha, de modo a prevenir a transmissão de mastite patogênica entre as vacas do rebanho.

Após a ordenha, o equipamento fica com resíduos de leite, constituindo um excelente substrato para o crescimento de microrganismos e propiciando a proliferação dos mesmos. A higienização dos equipamentos deve ser realizada imediatamente após o término da ordenha, a fim de evitar contaminações posteriores, além de que, a remoção dos restos de leite fica mais difícil ao longo do tempo. Na limpeza, retira-se a sujeira visível com a ajuda de água morna, esponjas e detergentes (ANTUNES et al.1986),

A sanitização do sistema de ordenha pode ser física, ou seja, realizada com vapores a 65°C ou, química, com a utilização de desinfetantes apropriados contendo princípios ativos que eliminam os microrganismos, tais como: Iodo, Cloro, amônia quaternária, entre outros. As recomendações feitas de acordo com as técnicas de limpeza são cabíveis em quaisquer sistemas de ordenha, desde que sejam adaptadas para cada propriedade (KIRCHOF, 1994).

O interior dos equipamentos (máquinas de ordenha, latões de leite, canalizações, tanques etc.) que entram em contato com o leite são a fonte de contaminação mais relevante, portanto, todos os equipamentos e vasilhames que forem utilizados devem ser de uso exclusivo da ordenha e da manipulação do leite. Este cuidado diminui o risco de ocorrer contaminação cruzada do leite, ou seja, evita a possibilidade de haver invasão de microrganismos vindos de outras fontes, os quais se agregam aos que já estavam presentes no leite, contribuindo para aumentar a contaminação (CARVALHO, 2004; PEREDA, 2005).

Os microorganismos mais encontrados nesses utensílios são bactérias lácticas e psicrotróficas, sendo comum presença de coliformes em grandes quantidades. As bactérias láticas podem ser analisadas sob dois pontos de vista totalmente opostos, como microrganismos deletérios ou benéficos. Elas metabolizam a lactose produzindo ácido láctico, que ao acumular-se no leite vão reduzir o pH do leite, precipitando a caseína quando alcançar um pH em torno de 4,6 alterando assim o leite, sendo o leite cru o produto mais afetado. Portanto no leite cru é necessário deter a proliferação das bactérias lácticas, através da refrigeração, pois as bactérias são mesófilas ou termófilas, encerrando a proliferação à temperatura abaixo de 8 a 10°C. As mais envolvidas na degradação da lactose são as *Lactococcus lactis subsp.cremoris* (*Lc.cremoris*) e *Lactococcus lactis subsp.lactis* (*Lc. Lactis*), por se encontrarem sempre com taxas muito altas, e porque seus tempos de geração são mais curtos no pH usual (6,7 a 6,8) do leite fresco. Os principais efeitos benefícios das ações das bactérias lácticas são: atacar a lactose produzindo ácido láctico e participar das degradações protéicas durante o processo de maturação (PEREDA, 2005).

Segundo Fonseca e Santos (2000), as bactérias psicrotróficas são capazes de crescer em temperaturas de refrigeração (menores que 7°C), produzem enzimas que são resistentes à pasteurização, produzidas durante o crescimento bacteriano, sendo capazes de degradar proteínas e gorduras do leite, causando problemas de qualidade como a redução da vida de prateleira dos produtos lácteos, alteração do sabor e odor do leite, redução no rendimento industrial na fabricação de queijos e geleificação do leite longa vida. As principais fontes destes

microrganismos são: a superfície dos tetos, equipamentos de ordenha e a contaminação pós-pasteurização. Para diminuir a presença das bactérias psicrotróficas no leite cru, deve-se obter o leite de forma mais higiênica possível; realizando o resfriamento imediato (antes de 2 horas) do leite cru até 4°C ou menos; manter essa temperatura até o momento do tratamento na central que deverá ser realizado antes de 48 horas de sua chegada; e realizar todas as etapas de limpeza e esterilização dos equipamentos utilizados na produção, coleta e transporte do leite.

As bactérias fecais não-fermentadoras da lactose, como as do gênero *Salmonella,* são importantes se presentes no leite, devido ao caráter patogênico de muitas espécies. Pois são bactérias termolábeis, que serão destruídas durante a pasteurização. Quanto aos enterococos, muitos deles sobreviverão à pasteurização, se suas taxas forem muito elevadas, podendo se multiplicar em amplo intervalo de temperaturas (entre menos de 10°C até mais de 45°C), e se sobreviverem à pasteurização poderão participar dos processos de alguns tipos de queijos, sendo esta mais uma particularidade dos enterococos. Por sobreviverem à pasteurização, permanecem viáveis no leite assim tratado, fermentam a lactose por via homoláctica, do mesmo modo que as bactérias lácticas, mas se o leite pasteurizado for mantido sob refrigeração, é provável que não provoquem a alteração do mesmo (PEREDA, 2005).

Dentre os microrganismos mais freqüentes no leite, pode-se encontrar a *Escherichia coli,* predominante das fezes dos animais, o *Enterococcus faecalis,* a *Salmonella enteriditis,* e outros como causadores de tuberculose, brucelose, leptospirose. (PASCHOA, 1997).

A importância dos microrganismos do leite revela que o conhecimento sobre o seu índice de contaminação microbiana pode ser usado no julgamento de sua qualidade intrínseca, bem como condições sanitárias de sua produção e da saúde do rebanho. Considerando o potencial de se multiplicarem, as bactérias do leite podem causar alterações químicas, tais como a degradação de gordura, de proteínas ou de carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo e industrialização. (COUSIN, 1982).

Ao chegar à central leiteira ou queijarias, o leite já contém uma quantidade considerável microrganismos provenientes da manipulação inadequada, sendo desenvolvido dois grandes grupos: mesófilos que são capazes de se multiplicarem em temperaturas ótimas na faixa de 30-45°C e os psicotróficos próximos a 25-30°C. Sendo a maioria termolábil, apenas alguns termodúricos, que resistem a pasteurização. Se realizada a análise dos microrganismos do leite e de seus produtos nos dá uma idéia clara dos microrganismos mais importantes em cada produto. A bactéria pode exercer a mesma função em diferentes produtos lácteos, ocasionando muitas repetições desnecessárias como por exemplo, o *Lactococcus lactis subsp.* e o *Lactis biovar diacetylactis,* que contribui para o sabor e o aroma da manteiga e de alguns tipos de queijos frescos (FONSECA e SANTOS, 2000).

Uma das formas para se alcançar um elevado padrão de qualidade é a implantação das Boas Práticas de Fabricação (BPF), que é composto por um conjunto de princípios e regras para o correto manuseio de alimentos, abrangendo desde as matérias-primas até o produto final, sendo o principal objetivo do programa a garantia da integridade do alimento e a saúde do consumidor. As BPF são estabelecidas por normas que envolvem requisitos fundamentais que vão desde as instalações da indústria, passando por rigorosas regras de higiene pessoal e limpeza do local de trabalho (tais como lavagem correta e freqüente das mãos, utilização adequada dos uniformes, disposição correta de todo material utilizado nos banheiros e o uso de sanitizantes) até a descrição, por escrito, dos procedimentos envolvidos no processamento do produto. (RIBEIRO-FURTINE, et al).

Os fundamentos das BPF são simples, compreendem algumas práticas como: exclusão, remoção, inibição e destruição de microrganismos indesejáveis. A exclusão é uma prática muito desejada e efetiva, pois microrganismos ou material estranho excluído não ameaçam a segurança ou salubridade do produto. Para remoção de microrganismos e materiais estranhos do leite pode-se utilizar filtração ou centrifugação. Embora seja efetivo até certo grau, nenhuma prática pode remover completamente microrganismos e materiais estranhos, sendo a remoção de resíduos e microrganismos importante para a limpeza dos equipamentos. Já a

inibição de microrganismos indesejáveis é uma prática amplamente utilizada, as opções incluem armazenamento a baixas temperaturas ou condições de congelamento, adição de ingredientes como sal ou açúcar, e processos fermentativos, onde microrganismos indesejáveis são inibidos por um grande número de organismos benignos. A destruição dos microrganismos é a última medida, quando outras práticas falharam ou foram ineficazes, embora algumas tecnologias alcancem níveis próximos da completa esterilidade do produto (VIALTA et al, 2002).

Segundo Pereda et al. (2005), a contaminação pode ser transmitida pelo ar devido ao acúmulo de estercos que aumenta a população microbiana no ar e contribui para a contaminação do leite, por isso os locais devem estar sempre limpos, evitando também as correntes de ar. Mas se a ordenha for mecânica, fica mais difícil aos microrganismos chegarem ao leite. No caso de ordenha manual, o ordenhador pode se tornar grande responsável pela contaminação do leite, se não forem tomados os cuidados necessários no momento da ordenha e com isso, contaminar o leite com vários agentes patogênicos.

O local da ordenha não precisa ser "luxuoso", mas deve ser de uso exclusivo da ordenha, isolado de currais, pocilgas, aviários. Deve ser limpo e seco, arejado, sem ventos fortes, com um ligeiro declive para facilitar a limpeza, ser coberto, com piso firme, cercado lateralmente a meia altura (ABREU, 2004).

Os ordenhadores são de suma importância em todo o processo, pois são eles que irão ter contato direto com os animais, com o vasilhame e equipamentos e terá responsabilidade de manipular o leite. Os ordenhadores devem ser saudáveis e apresentar bons hábitos de higiene, não fumar, cuspir ou escarrar no local de trabalho e paciência no manejo dos animais. E também ter outros cuidados como: evitar espirros de urina e fezes no leite; diminuir a incidência de mosquitos nos locais de ordenha e manipulação de leite, fazer limpeza periódica dos currais, guardar latões em estrado de madeira ou plástico, manter os latões à sombra, descartar os latões defeituosos ou reformá-los, evitar transvase (KIRCHOF, 1994).

A temperatura é um fator importante a considerar, se a região tem a temperatura elevada é aconselhável coletar o leite duas vezes ao dia para evitar crescimento abundante da microrganismos mesófila, pois parte do leite pode permanecer por algum tempo a temperaturas elevadas, cerca de 20 a 25%. Seis horas são o bastante para que a acidez aumente a níveis indesejáveis. Quando o leite chega ao seu destino, ele é resfriado a temperaturas de até 5°C, permanecendo nessas condições até seu processamento, num período de 24 a 48 horas no máximo. A temperatura de tratamento do leite é que determina as espécies bacterianas que desenvolvem nele, pois as bactérias que geralmente invadem o leite podem ser classificadas quanto à resistência ao calor, sendo agrupadas em quatro tipos: psicrófilas, mesófilas, termófilas e termos-resistentes. Algumas bactérias psicrófilas desenvolvem-se a temperatura logo acima do ponto de congelamento e as termófilas crescem acima de 65°C. (SILVA, 2000).

Devido a temperatura do leite ao sair do úbere ser muito favorável ao crescimento microbiano, é necessário criar condições que inibam sua proliferação, reduzindo rapidamente a temperatura do leite à faixa de 5 a 8°C mantendo assim até o momento da coleta. Inibindo assim o desenvolvimento das bactérias lácticas e de outras de crescimento rápido, como os coliformes. Tanto o tipo de microbiota inicial, como a taxa, temperatura e o tempo de armazenamento vão influenciar na proliferação das bactérias durante o armazenamento em estado cru. Numa temperatura de 25 a 30°C a microbiota láctica e os coliformes são os microrganismos mais abundantes, mas como a maioria das cepas e espécies dessas bactérias é mesófila, quando o leite é resfriado, o crescimento dessas bactérias é inibido ao se resfriar o leite (PEREDA, 2005).

QUADRO 1 Efeito da temperatura (T) na multiplicação dos microrganismos no leite produzido em diferentes condições de higiene.

Condições de higiene		Contagem total de bactérias por ml			
	T	Leite fresco	24 horas	48 horas	72 horas
Vacas, meio ambiente e utensílios **limpos**	4,4°C	4.295	4.138	4.566	8.427
	10,0°C	4.295	13.961	127.727	5.725.277
	15,5°C	4.295	1.587.333	33.011.111	326.500.000
Vacas **limpas**, meio ambiente e utensílios **sujos**	4,4°C	39.082	88.028	121.864	186.245
	10,0°C	39.082	177.437	831.615	1.761.458
	15,5°C	39.082	4.461.111	99.120.000	633.375.000
Vacas, meio ambiente e utensílios **sujos**	4,4°C	136.533	281.546	538.775	749.030
	10,0°C	136.533	1.170.546	13.662.115	25.687.541
	15,5°C	136.533	24.673.571	639.884.615	2.047.083.330

FONTE: Kirchof (1994)

De acordo com Pereda (2005), o leite deverá ser colocado em tanques de refrigeração assim que for ordenhado, permanecendo nesses tanques até o momento do transporte. A coleta do leite pode ser diária, ou em dias alternados, sendo realizada por caminhões equipados com cisternas isotérmicas, que recolhem o leite produzido em inúmeras granjas. Esse processo pode acarretar problemas, como por exemplo, um leite que não foi detectado a contaminação possa alterar a totalidade de sua carga. O leite refrigerado na granja, que não vai ser utilizado de imediato, vai ser depositado em silos de armazenamento, onde é refrigerado até o momento do tratamento térmico ou processamento.

Segundo Abreu (2004), o sistema de transporte de leite no Brasil está sofrendo grandes transformações, devido à implantação de coleta a granel. No que diz respeito ao transporte no sistema tradicional de latões, o leite deve ser entregue na plataforma de recepção o mais rápido possível, os caminhões devem ser protegidos com toldo para evitar incidência de raios solares nos latões, se possível os latões devem estar completamente cheios durante o transporte para evitar formação de manteiga, devido à agitação da gordura do leite, causando diminuição do teor de gordura do leite. O sistema de coleta do leite a granel possui várias vantagens, como menor custo de transporte e mão de obra, menor perda de leite pela acidez, pode-se fazer a coleta em dias alternados, a ordenha pode

ser feita em horas mais convenientes. Mas a maior vantagem é a obrigatoriedade do resfriamento do leite após a ordenha.

No momento do transporte e durante ele, a taxa de bactérias aumentará muito, e virão outras bactérias procedentes das paredes das cisternas transportadoras. Se a temperatura em que se realiza o transporte não for muito baixa, multiplicam-se principalmente as bactérias lácticas, os coliformes e outras mesófilas, mas se for baixa (inferior a 8 até 10°C) proliferam as psicrotróficas (PEREDA, 2005).

Nos programas sanitários para leite de consumo, um dos fatores fundamentais para melhorar a qualidade do leite é o resfriamento na própria fazenda. Na indústria de laticínios, onde grandes volumes de leite ficam armazenados a temperatura de refrigeração por longos períodos, as bactérias psicrotróficas podem desenvolver-se causando mudanças indesejáveis no leite e nos seus derivados. A presença desses microrganismos indica a baixa qualidade do leite e insatisfatórias condições sanitárias no processamento (RAVANIS e LEWIS, 1995). Mesmo sob refrigeração o leite pode ser facilmente deteriorado, servindo para a proliferação de grande número de bactérias. Algumas conseguem dobrar sua população a cada 20 a 30 minutos e, por isso, o leite deve ser manuseado corretamente desde o momento da ordenha até chegar à indústria de laticínios e ao consumidor final (MA et al, 2000).

O resfriamento do leite trás inúmeros benefícios, mantendo sua qualidade. Mas o produtor tem que estar consciente que o resfriamento não melhora a qualidade apenas vai impedir ou retardar a deterioração do leite. Se o leite com alta contagem bacteriana for resfriado, isso irá apenas impedir ou diminuir o aumento dessa contagem (SILVA, 2000).

Existem também bactérias pseudomonas, principalmente *P. fluorescens, Achromobacter, Acinetobacter, Bacillus, Clostridiu, Alcaligenes, Flavobacterium,* são os principais psicrotróficas contaminantes do leite (GOMES, 1996). Eles produzem as enzimas proteases e lípases, causando prejuízos à qualidade do leite apesar deles não acidificarem o leite, por não utilizar a lactose como principal fonte de energia (ZALL e CHAN, 1981). Apesar dessas bactérias serem destruídas

pelo processo de pasteurização, elas possuem enzimas termos-resistentes que estão ativas mesmo a temperaturas elevadas, tendo suas atividades mantidas após a pasteurização do leite. Para diminuir a presença dessas bactérias psicrotróficas no leite, a produção, manipulação, conservação do leite devem ser de forma adequada, pois os problemas que essas enzimas causam no leite dependem de sua concentração (DOWNEY, 1980).

A enzima que ocorre com maior freqüência e concentração no leite é a *Pseudomonas fluorescens*. Se ultrapassar a 10^6 unidades formadoras de colônias (UFC/ml), número fácil de ser atingido, se as condições de produção do leite não estão dentro das regras, podem causar prejuízos econômicos e na qualidade dos produtos (GOMES, 1996).

As proteases atuam sobre a proteína do leite diminuindo o rendimento do leite em queijos, causando sabor amargo no leite e seus produtos, e geleificando o leite esterilizado (longa vida). São elas que causam maiores prejuízos (ABREU, 2004).

Os fatores como: resfriamento imediato de um leite de vacas sadias, ordenhado e manipulado de forma higiênica, a manutenção dessa temperatura na armazenagem, no transporte e distribuição, e boas práticas de distribuição vão garantir a qualidade do leite (SILVA, 2003).

Segundo Pereda (2005), o leite pasteurizado é o leite natural, integral, desnatado ou semi-desnatado, que foi submetido a um processo de destruição dos microrganismos patogênicos não-esporulados e que reduz significativamente a microbiota banal, sem que modifique a natureza físico-química e suas característica nutritivas e sensoriais. Os métodos de pasteurização são: pasteurização HTST (high temperature, short time), que é realizada em fluxo contínuo com trocadores de calor entre 72 e 78°C durante 15 segundos. E a pasteurização LHT (low temperature holding) ou baixa pasteurização. É utilizada para pequenos volumes de leite (100 a 500 litros), a uma temperatura de 62 a 65°C por 30 minutos.

No tratamento térmico do leite, tempo e temperatura devem ser observados, pois ao aumentar a temperatura de processamento, diminui-se o

tempo de permanência dessa temperatura para se alcançar os objetivos desejados. Entretanto, ao aumentar a temperatura, mesmo com durações tão breves, mudanças indesejáveis no produto começam a aparecer na cor, no sabor e na aparência, interferindo na aceitabilidade do produto pelo consumidor. (PRATA, 2001b).

De acordo com Silva (2000), a pasteurização é um tratamento térmico relativamente suave (temperaturas geralmente inferiores a 100° C), que é utilizado para prolongar a vida útil dos alimentos durante vários dias ou vários meses. Este método, que conserva os alimentos por inativação de suas enzimas e destruição dos microrganismos termossensíveis (por exemplo: bactérias não esporuladas, leveduras e mofos), provoca mudanças mínimas no valor nutritivo e nas características sensoriais do alimento em questão.

Segundo Behmer (1984), as "temperaturas e tempos" dos diversos processos de aquecimento do leite foram organizados para serem suficientes para a destruição da *Coxiella burnetti,* é um dos germes patogênicos um dos mais resistentes, sem, contudo modificar os componentes do leite.

Com relação ao tempo e a temperatura a ser utilizado, o processo pode ser realizado de duas maneiras: a pasteurização lenta a baixas temperaturas, denominado LTLT (Low Temperature Long Time) processo realizado em temperaturas próximas de 63° C por 30 minutos e a pasteurização rápida a altas temperaturas, esse processo é denominado HTST (High Temperature Short Time) realizado a 72° C por 15 segundos (SILVA, 2000; VARNAM & SUTHERLAND, 1995). A pasteurização lenta é um processo de pouca utilização industrial, contínua sendo empregada a nível laboratorial e pelos pequenos produtores rurais, na pasteurização do leite, mas a pasteurização rápida tem sido largamente utilizada nas grandes indústrias, principalmente nas que operam com grandes volumes como as usinas de laticínios. Essa operação é realizada em trocadores de calor de placas ou de tubos, sob alta pressão e resfriamento, logo depois do tratamento térmico, sendo que, toda a operação é realizada no mesmo equipamento. Imediatamente após a pasteurização, o produto deve ser acondicionado em embalagens apropriadas, de acordo com o produto e com o

mercado a que se destina, para evitar a sua recontaminação. Como a pasteurização não elimina todos os microrganismos presentes, o alimento deve ser mantido sob refrigeração, até sua utilização final. O leite pasteurizado, conservado em refrigerador, conserva-se por uma semana ou mais, tendo alterações, produzindo sabor e cheiro estranho e demonstram acumulação de produtos catabólicos de bactérias psicrófilas. Ao ser pasteurizado o leite, é exposto a uma temperatura de 62,8°C por 30 minutos; mas *Bacillus stearothermiphilus* cresce a 65°C, neste caso o processo de pasteurização atua como método de incubação de microrganismos termófilos. O crescimento e metabolismo deste desenvolvem com grande intensidade e quando os tanques de pasteurização funcionam várias horas sem submetê-los a um tratamento eficaz para destruir os microrganismos é possível que a população de termófilas aumente até o ponto de coagular o leite durante o processo de pasteurização (SILVA, 2000).

Na indústria láctea considera como bactérias termos-resistentes aquelas que sobrevivem à pasteurização em número suficiente, mas não crescem à temperatura em que se realiza este processo. Estes microrganismos trazem dificuldades, pois, não morrendo pelo processo de pasteurização contamina os utensílios e caso não haja uma limpeza eficiente destes vasilhames, o leite que passar por eles é novamente contaminado. (PEREDA, 2005).

No conceito de Kirchof (1994), o leite tem um rico meio de cultivo de bactérias, e nem em condições totalmente assépticas de laboratório se poderia ordenhar sem contaminação do leite. Os microrganismos desempenham um importante papel com relação à qualidade e conservação do leite e seus derivados, o conhecimento mais detalhado desses grupos ou gêneros de microrganismos envolvidos beneficamente, como aqueles responsáveis por fermentações que são indispensáveis na fabricação de vários produtos, ou de forma maléfica, causando defeitos e deteriorações das mais diversas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas assepticamente de leiteiros, no período de maio e junho de 2006, amostras aleatórias de leites "informais" entregues nas residências, através de motocicletas e, também, amostras de leite pasteurizadas e esterilizadas vendidos nos estabelecimentos comerciais de Pontes e Lacerda - MT. Após a coleta, as amostras foram transportadas em caixas térmicas, posteriormente refrigeradas, mantendo-se nessas condições até o momento de serem realizadas as análises no laboratório. A temperatura do leite foi medida no momento da coleta.

A análise realizada foi a de determinação do Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Fecais, de acordo com a metodologia proposta por Silva et al (1997). Foi feita a prova presuntiva, usando-se para cada amostra nove tubos de Durhan invertidos, contendo 9ml em cada tubo de caldo lactosado. A prova presuntiva foi feita da seguinte maneira: transferiu-se 1ml da amostra para 3 tubos de caldo lactosado, agitando para a retirada de bolhas de ar, ficando assim, 3 tubos com diluição 1:10. Desses tubos de 1:10 transferiu-se 1ml de cada para outros 3 tubos, agitando para a retirada de bolhas de ar, ficando assim, 3 tubos com diluição 1:100. Desses tubos de 1:100, transferiu-se novamente 1ml para outros 3 tubos, agitando para a retirada de bolhas de ar, ficando assim, com diluição 1:1000.

Foram considerados positivos os tubos que evidenciaram a presença de gás após 24-48 horas em banho-maria a 45 °C, havendo a possibilidade de haver a presença de coliformes fecais.

Após a prova presuntiva, foi feita a prova confirmatória, usando a placa de Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), que após ser semeada deveriam crescer colônias de coliformes, comprovando a presença dos mesmos. O EMB é um meio específico para o crescimento de coliformes fecais.

Na prova de identificação, foi usado o meio EPM – MILI (baseado no método de Rugai), que é uma prova bioquímica, que permite a identificação das espécies.

O procedimento desta técnica consiste em picar a colônia isolada suspeita com uma alça de platina, introduzir a seguir no tubo de Rugai de modo que perfure a camada de separação até atingir o fundo do tubo, voltar e semear em estrias na superfície inclinada do meio; tampar o tubo com seu próprio tampão e incubar por 18 – 24 horas a temperatura de 35 – 37°C. Após esse período procedeu-se à identificação comparando o resultado obtido com a tabela de identificação das bactérias.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram observados resultados positivos de todas as amostras de leite cru analisadas para a presença de coliformes, porém as amostras do leite pasteurizado e do leite esterilizado apresentaram contagens de microrganismos abaixo de 300.000 unidade formadoras de colônias por ml (UFC/ml), valor este estabelecido como sendo o limite máximo permitido pelos padrões do Ministério da Saúde, para o leite pasteurizado tipo C.

Os resultados que expressam ausência ou presença de microrganismos, encontrados nas análises microbiológicas, feitas em laboratório particular, estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 Presença (P) ou Ausência (A) de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF) e, identificação de microrganismos mesófilos (M) e temperatura obtida no momento da coleta, em amostras de leite de vaca comercializadas no município de Pontes e Lacerda/MT, no período de maio a junho de 2006.

Amostras	Temperatura (°C)	CT	CF	M
1	35°C	P	P	Enterobacter
2	30°C	P	P	Enterobacter
3	30°C	P	P	Enterobacter
4	35°C	P	P	*Edwardsiella* sp
5	37°C	P	P	Enterobacter
6	28°C	P	P	*E. coli*
Pasteurizado	4°C	A	A	-
Esterilizado	T° ambiente	A	A	-

De todas as amostras analisadas de leite cru, no presente estudo, 100% apresentou resultados positivos para contaminação por CT, enquanto que Badini et al (1996), verificou que 83,3% das amostras de leite cru, comercializadas nos municípios de Botucatu (SP) e São Manuel (SP) apresentaram CT e 18,3%

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

apresentaram CF. Apesar de elevados valores de coliformes encontrados no presente trabalho, esses resultados eram esperados, pois além do leite não sofrer qualquer tipo de tratamento térmico, alguns destes produtos estavam sendo mantidos a temperatura ambiente por um longo período de tempo, desde a sua obtenção até a chegada ao domicílio do consumidor.

Zocche et al (2002), realizaram um trabalho semelhante no Paraná, onde foram analisadas amostras de três marcas comerciais diferentes de leites pasteurizados, sendo que foi encontrado CT em 100% das amostras do leite tipo B e do tipo C, entretanto foram encontradas baixas contagens de CF de acordo com o estabelecido pela legislação. Richards et al (1998) explica que existe a possibilidade de recontaminação do leite após a pasteurização se houver má higiene de utensílios e equipamentos e condições inadequadas de sanidade dos manipuladores. Gonçalves e Franco (1998), em estudo realizado em Niterói, RJ detectaram que cerca de 26,66% das amostras analisadas, estavam contaminadas por CF, sendo que metade, dessas amostras analisadas, estava fora dos padrões estabelecido pela legislação.

Junior et al (2000), analisando duas marcas de leite tipo "C", na cidade de João Pessoa, PB, encontraram um total de 34,38% e 6,25% fora dos padrões para coliformes. Porém, Beloti et al, (1996a), na cidade de Londrina, PR, analisando leite tipo "C" detectou que cerca de 17,5% das amostras estavam fora dos padrões para CF, e Nader Filho et al, (1997b), analisando leite tipo "integral" no estado de São Paulo, encontraram 5% das amostras fora dos padrões estabelecidos para CF.

Segundo Leite, et al (2002), em seu trabalho realizado na cidade de Salvador, BA, das 20 amostras analisadas, 13 (65%) apresentaram contaminações por CT, sendo que 11 (55%) encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação. E quanto aos CF, foram detectadas 7 amostras (35%) com contaminações inaceitáveis segundo a legislação vigente. No trabalho realizado por Dezen & Santos (1988), observaram que das 88 amostras de leite pasteurizado, tipo "C", analisadas no Estado de Sergipe, 74,24% encontravam-se em desacordo com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde. Gonçalves

& Franco (1998), Rio de Janeiro, RJ, ao analisarem este produto obtiveram elevado percentual de amostras contaminadas cerca de (63%). Martins & Albuquerque (1999), na cidade de Fortaleza-CE, encontraram valores semelhantes (60%) de contaminação. Hoffmann et al (1999), na cidade de São José do Rio Preto, SP, também encontraram resultados semelhantes, 57% das amostras apresentavam contaminações acima dos padrões mínimos estabelecidos pela legislação vigente.

A grande maioria dos microrganismos contaminantes do leite encontrado pelas análises pertence à família das *Enterobacteriaceae*, sendo que muitos normalmente não apresentam patogenicidade ao homem, contudo muitas vezes são oportunistas e podem oferecer grande risco à saúde pública. Dentre as bactérias identificadas no presente trabalho, foram encontradas as espécies *Enterobacter aerogenes, Escherichia coli,* e a *Edwardsiella*. Esta última cresce em temperatura entre 20 e 35°C, podendo ser considerado um microrganismo patogênico, causador de transtornos digestivos a quem vier consumir esse leite.

Segundo Ávila et al, 1996, em trabalho realizado, constatou-se que dos 30 isolados bacterianos analisados, 14 (46,68%) foram identificados como *Enterobacter spp.*, e 4 (13,33%) como *E. Colli.*

Numa pesquisa realizada por Catão et al, 2001, as amostras de leite de todos os produtores apresentaram elevada incidência de CT, CF e E. Coli, evidenciando alta contaminação da matéria prima. Já Baruffaldi, et al, 1984, detectaram 17,5% de contaminação com *E. Coli* nas amostras analisadas.

Esses resultados mostram que provavelmente houve total falta de higiene na manipulação, envase e transporte do leite, sendo, portanto, fonte de doenças transmitidas por alimentos.

6 Considerações Finais

Com base nos resultados discutidos, conclui-se que o leite informal consumido na cidade de Pontes e Lacerda, não é um produto adequado para o consumo da população, sendo que as amostras de todos os fornecedores encontraram-se fora dos padrões da legislação com relação às analises físico-químico. É evidente que problemas sanitários têm ocorrido na obtenção, tratamento e conservação do leite. Além disso, as condições sanitárias são insatisfatórias devido à contaminação (número muito elevado, fora dos padrões para leite tipo C) com bactérias de origem fecal. A partir desses resultados torna-se importante a implementação de ações que possam identificar falhas no processo de obtenção do produto e maior rigor na fiscalização pelos órgãos competentes. Devendo ser implantados programas de qualidade que garantam um controle efetivo das condições higiênico-sanitárias das indústrias durante todo o processo até a distribuição e comercialização, para obtenção de um produto de melhor qualidade para a população. Mas enquanto consumidores menos esclarecidos continuarem adquirindo leites clandestinos, eles conseqüentemente obterão um produto de péssima qualidade como podemos observar através dos resultados das análises dos leites, e os órgãos competentes não terão condição de fiscalizar esse comércio, que já é uma cultura antiga, que está presente ao longo dos anos. Além das condições péssimas de ordenha desses leites, muitas vezes sem qualquer norma de higiene, o problema se agrava com as embalagens usadas para acondicionar esses leites, que são comercializados nas ruas, sem refrigeração, em ambientes livre, expostos a poeiras, algumas vezes chuvas e temperaturas elevadas.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. R. **Qualidade e Processamento do Leite**. Lavras, MG: UFLA/FAEPE, 2004.

ANTUNES, L. A. F; OLIVEIRA, J. S. de. Qualidade microbiológica de leite cru. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, MG. v. 41, n. 244, p. 20-24, 1986.

ATHIÊ, F. **Gado Leiteiro – Uma proposta adequada de manejo.** 4ª ed. São Paulo: Nobel, 1988.

ÁVILA, C. R.; GALLO, C.R. Pesquisa de *Salmonella spp*. Em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo "minas frescal" comercializados no município de Piracicaba - SP. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, SP. 1996.

BADINE, K. B; NADER FILHO, A; AMARAL, L. U; GERMANO, P. M. L. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo. v. 30, n. 6, dez. 1996.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do Leite**. 13º ed. São Paulo: Ed. Nobel, 1984. 320p.

BELOTE, V; BARROS, M. A. L; FREIRE, R. L; MARTINS, L. G. G; NERO, L. A; OLIVEIRA, A. E. S. Aspectos Microbiológicos do Leite Pasteurizado Tipo C Consumido na Cidade de Londrina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA 24. 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Sociedade Goiânia de Veterinária, 1996A p. 206.

BARUFFALDI, R.; PENNA, T. C. V.; MACHOSHVILI, I. A.; ABE, L. E. Condições higiênico-sanitárias do leite pasteurizado tipo"B" vendido na cidade de São Paulo, SP (Brasil), no período de fevereiro a agosto de 1982. **Revista Saúde pública,** vol. 18. n. 5. São Paulo, 1984.

BLACK, J. G. **Microbiologia – Fundamentos e Perspectivas.** Tradução de Eiler Fritsch Toros. 4. ed. Guanabara, RJ: Koogan, 2002.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de produtos de Origem Animal. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – R.I.I.S.P.O.A.** Aprovado pelo decreto n 30691 de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto 2244 de 04/06/1997. Brasília-DF. 1997.

BRITO, J. R. F.; CALDEIRA, G. A. V.; VERNEQUE, R. S. et al. Sensibilidade e especificidade do "Califórnia Mastites Testis" como recurso diagnostico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 17, n. 2, p. 49-53, 1997.

CARDOZO, R. M. Avaliação de testes para diagnóstico de mastites subclínicas em bovino de leite. **Revista UNIMAR**, v. 18, n. 3, p. 627-636, 1996.

CARVALHO, E. P. **Microbiologia de Alimentos e Legislação.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2004. 167p.

CATÃO, M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria spp.* Coliformes totais e fecais e *E. Coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no estado da Paraíba (Brasil). **Ciência e Tecnologia Alimentar** V. 21, n. 3. Campinas, SP, 2001.

COUSIN, M. A., BRAMLEY, A. J. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. **Dairy microbiology**. New York: Applied Science, 1981. v. 1, p. 119-163.

DEZEN, S; SANTOS M. N. G. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo "C" comercializado no estado de Sergipe. **Anais...** 16 Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos; 1998. p.129-32.

DOWNEY, W. K. Review of the progress of dairy science: flavour impairment from pre and post-manufacture lipolysis in milk and dairy products. **Journal Dairy Research**, Cambridge, v. 47, p. 237-252, 1980.

FARINA, et al. Leite informal – uma nova versão do problema. **Revista Balde Branco**, São Paulo, n. 434, ano XXXVI, p. 48-51, dez. de 2001.

FONSECA, L. F. L. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. **In:** SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE, 1., 1998, Curitiba, PR.

FONSECA, L. F. L.; PEREIRA , C. C.; CARVALHO, M. P. Qualidade microbiológica do leite. **In**. SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 4., 1999, Caxambu. São Paulo: Instituto Fernando Costa, 1999. p. 36-43.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. São Paulo: Lemos Editorial, 2000. 175 p.

FORTES, G. Leite espera ano de equilíbrio. **Anuário DBO,** São Paulo, n 304 p 38 – 40, Março 2006.

FRANCO, G. **Tabela de composição química de alimentos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Athenen, 1992.

FRANCO, R. M., et al. Avaliação da qualidade higiênica-sanitária de leite e derivados. **Revista Higiene alimentar**, São Paulo, vol. 14, n 68/69, p. 70-77, 2000.

GAVA, A. J. **Princípios de Tecnologia de Alimentos**. São Paulo: Nobel, 1984.

GOMES, M. I. F. V. **Contribuição ao estudo da atividade proteolítica residual sobre a estabilidade protéica do leite esterilizado "Longa-vida"**. Campinas: UNICAMP, 1996. 108p.

GONÇALVES, R. M. S; FRANCO, R. M. Determinação da Carga Microbiana em Leite Pasteurizado tipos "B" e "C", Comercializados na Cidade do Rio de Janeiro, Rj. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 53, p. 61-65, 1998.

HARRIS Jr., B. & BACHAMAN, K.C. **Nutritional and management factors affecting solid-nonfat, acidity and freezing point of milk.** Gainesville, Institute of Food and Agricultural Sciences, 1988. (Flórida Cooperative Extension Service, DS25).

HOFFMANN, N. F. L; GARCIA-CRUZ C. H; Vinturim, T. M; FAZIO, M. L. S. Microbiologia do leite pasteurizado tipo "C", comercializado na cidade de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**. 1999; 13 (65): 51-54.

HOFFMAN, N. F. L. Microbiologia do leite pasteurizado tipo C, comercializado na região de São José do Rio Preto – SP. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, vol.13, n°65, p.51-54, 2000.

JUNIOR, A. F. S. L; TORRANO, A. D. M; GELLI, D. S. Qualidade Microbiológica do Leite tipo "C" Pasteurizado, Comercializado em João Pessoa, Paraíba. **Revista Higiene Alimentar,** São Paulo, v. 14, n. 74, p. 45-49, 2000.

KIRCHOF, Breno. **Exploração Leiteira para Produtores.** Guaíba RS: Ed Agropecuária, 1994.

KITCHEN, B.J. Review of dairy science; bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal of Dairy Research**, 48: 167, 1981.

LARANJA, L. F.; MACHADO, P. F. Ocorrência de mastite bovina em fazendas produtoras de leite B no Estado de São Paulo. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 51, n. 3, p. 578-585, 1994.

MA, Y. et al. Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 83, p. 264-274, 2000.

MACHADO, P. F.; PEREIRA, A. R.; SARRÍES, G. A. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo sua contagem de células somáticas. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 29, n. 6, 1883-1886, 2000.

MARTINS, S. C. S; ALBUQUERQUE L. M. B. Qualidade do leite pasteurizado tipo "C", comercializado no município de Fortaleza. Bactérias multiresistentes a antibióticos. **Revista Higiene Alimentar**. 1999; 13 (59): 39-42.

MICHAEL, J. P. J.; CHANS, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia – Conceitos e Aplicações.** 2. ed. São Paulo: Peason Makron Books, 1997.

NADER FILHO, A; AMARAL, L. A; JUNIOR, O. D. R; SCHOCKEN, D. L. Características Microbiológicas do leite pasteurizado tipo "integral", processado por alguns mini e micro-usinas de beneficiamento do Estado de São Paulo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 50, p. 21-23, 1997b.

NEDER, R. N. **Microbiologia Manual de Laboratório**. São Paulo: Nobel, 1992.

PASCHOA, M. F. A importância de se ferver o leite pasteurizado tipo "C" antes do consumo. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo 1997; 11 (52): 24-8.

PEREDA, J. A. O.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; PERALES, L. H.; CORTECERO, M. D. S. **Tecnologia de Alimentos - Alimentos de Origem Animal.** Vol. 2. Tradução de Fátima Murad. Porto Alegre: Artmed, 2005.

PETIM-BATISTA, M. F. S. **Células somáticas em fêmeas bovinas leiteiras portuguesas – perspectivas da sua alteração quantitativas.** Vila Real, PO: UTAD, 1996. 108p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – UTAD, 1996.

PRATA, L. F. Leite UHT In: **Fundamentos de Ciência do Leite.** Jaboticabal: Funep - UNESP (Ed.). p. 189-208. 2001.

QUEIROZ, J. C. **Avaliação sanitária do leite cru, distribuído nos Municípios de Juquitiba e Itapecerica da Serra, São Paulo, 1990–1992.** Tese de Doutorado – faculdade de Saúde Pública da USP. 1995.

RAVANIS, S., LEWIS, M. J. **Observations on the effect of raw milk quality on the keeping quality of pasteurized milk. Letters in Applied Microbiology.** London, v.20, n.3, p.164-167, 1995.

RENEAU, J.K. & PACKARD, V.S. Monitoring mastitis, milk quality and economic losses in dairy fields. **Daire, Food and Environmental Sanitation**, 11: p. 4-11, 1991.

RICHARDS, N. S. P. S; SILVA, M. E; EXENBERGER, J. B. V. Avaliação da Qualidade e Identidade do Leite tipo B Comercializado em Recife. **In:**

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA XXI. Foz do Iguaçu. p. 366. 2001.

RIBEIRO-FURTINE, L. L; ABREU, L. R. Utilização de APPCC na indústria de alimentos. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 30, n. 2, p. 358-363, 2006.

ROBINSON, R. K. **Microbiologia lactológica**. Zaragoza, Acribia,. v. 1. 1987.

SANTOS, M. V. Efeito da mastite sobre a qualidade do leite e dos derivados lácteos. **In.** CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2002, Ribeirão Preto, SP.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Importância e efeitos de bactérias psicrotróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 13-19, 2001.

SCHULTZ, L.H. Somatic cell in milk-physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. **Journal of Food Protection** 40: 125, 1997.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2000. 325p.

SILVA, N., JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Ed. Varela, 1997. 295p.

SILVA, J. A. **Tópicos da tecnologia dos alimentos.** São Paulo: Livraria Varela, 2000. 325p.

SILVA, L. S. **Biossegurança na atividade leiteira**. Guaíba, RS: Agropecuária, 2003.

SOUZA, A. V.; SOUZA, C. F. A.; SOUZA, R. M.; RIBEIRO, R. M. P.; OLIVEIRA, A. L. A importância da tuberculose bovina como zoonose. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo. v. 13, n. 59 p. 22-27, 1999.

TETRA PACK. O consumo do leite informal no Brasil. Disponível em: < http://www.casadoleite.com.br/canais/tenice>. Acesso em: 29 de maio de 2006.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O. F.; ANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia**. 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. **Leche e productos lácteos: Tecnologia, química y microbiologia.** Zaragoza: Acribia, 1995. 476p.

VASCONCELLOS, P. M. B. **Guia prático para o fazendeiro.** São Paulo: Nobel, 1983.

VASCONCELLOS, P. M. B. **Guia Prático Para o Inseminador e Ordenhador.** São Paulo: Nobel, 1990.

VIALTA, A; MORENO, I; VALLE, J. L. E. Boas Práticas de Fabricação, Higienização e Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle na Indústria de Laticínios: 1 – Requeijão. 2002. Disponível em: <http://www.qualittas.com.br/documentos/appcc_requeijao.pdf>. Acesso em 29 jun. 2006

WOLMES, C.W.; WILSO, G. F. **Milk Production Fron Pasture - Produção de Leite à Pasto**. Campinas SP: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1990.

ZALL, R. R. CHAN, J. H. Heting and storing milk on dairy farms before pasteurization in milk plants. **Journal of Dairy Science**, Baltimore, v. 64, n. 7, p. 1540-1544, July, 1981.

ZOCCHE, F.; BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V. C.; PARANHOS, J. K.; ROSA, S. T. M.; RAYMUNDO, N. K. **Qualidade microbiológica e físico-química do leite pasteurizado produzido na região oeste do Paraná.** Archives of Veterinary Science. v. 7. n. 2. p. 59-67. 2002.

ANEXOS

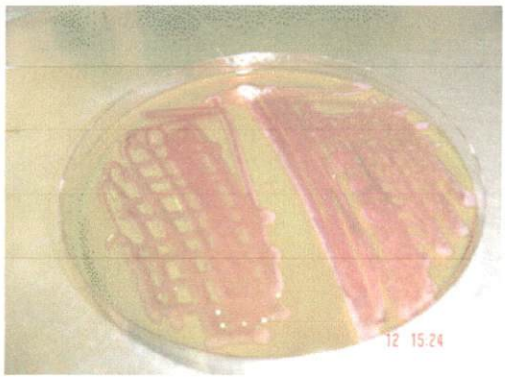

Fig. 1 Crescimento de colônias de microrganismos em meio de cultura EMB

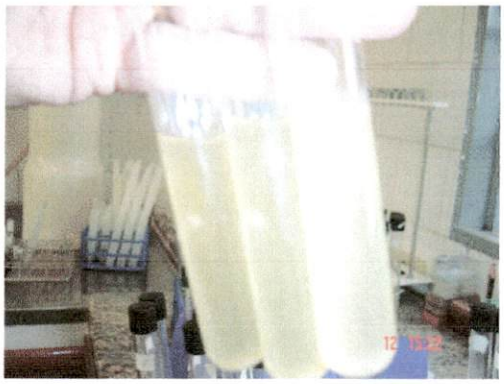

Fig. 2 Formação de gases em meio de cultura caldo lactosado, provocado por coliformes fecais

Fig. 3 Tubos de Duhran utilizados na análise de Coliformes

Fig. 4 Prova de identificação, usado o meio EPM – MILI (baseado no método Rugai)