

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERFERÊNCIA DE PRÁTICAS DE MANEJO NA
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE PRODUZIDO
EM PROPRIEDADES RURAIS FAMILIARES**

Fabiana Ferreira da Costa
Zootecnista

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL
Julho de 2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL**

**INTERFERÊNCIA DE PRÁTICAS DE MANEJO NA
QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE PRODUZIDO
EM PROPRIEDADES RURAIS FAMILIARES**

Fabiana Ferreira da Costa

Orientador: Profa. Dra. Maria Imaculada Fonseca

Co-orientador: Prof. Dr. Luiz Augusto do Amaral

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Zootecnia (Produção Animal).

JABOTICABAL – SÃO PAULO – BRASIL

Julho de 2006

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

FABIANA FERREIRA DA COSTA – nascida em Jaboticabal, SP, em 27 de setembro de 1979. Filha de Paulo Cesar da Costa e Jussara Ferreira da Costa. Zootecnista, formada em novembro de 2002 pela Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal (FCAV-UNESP). Em março de 2004 iniciou o curso de Mestrado em Zootecnia na FCAV-UNESP, concluindo-o em julho de 2006.

*"Todo homem tem direito de duvidar de sua tarefa, e de abandoná-la de vez
em quando;
a única coisa que não pode fazer é esquecê-la. Quem não duvida de si mesmo, é
indigno -
porque confia cegamente na sua capacidade, e peca por orgulho. Bendito seja
todo aquele
que passa por momentos de indecisão."*

(Paulo Coelho)

OFEREÇO

A Deus, que está acima de todas as coisas ou pessoas em minha vida, que ilumina e me concedeu o privilégio da existência.

Aos meus pais, Paulo e Jussara, pelo fato de sempre terem ficado ao meu lado e terem me ajudado a chegar até aqui. Não tenho palavras para agradecer-los!!!! Só digo: AMO VOCÊS!

À minha avó Herminia, pois sem ela, muito do que sou hoje não o seria. Te amo vizinha!

Às minhas irmãs Paula e Manuela, que sempre me deram força pra seguir em frente e me ajudaram muito em tudo que precisei!!!!

Nos momentos de maior incerteza e solidão, nada como a família para dar o conforto e a segurança que precisamos para seguir em frente!!!!

DEDICO

Ao meu esposo, Heber, por saber exatamente o que fazer para me dar todo carinho e apoio nos momentos mais difíceis. Por estar sempre presente e disposto. Pelo companheirismo, amizade e amor. Por saber como transformar momentos de angústia em momentos de paz, na certeza de que posso contar com seu abrigo. Por tudo que vivemos e ainda vamos viver nessa vida!!!!

Gordo, Te Amo!

À minha filha, Ana Beatriz, que chegou recentemente para iluminar nossas vidas e foi a minha fortaleza no final desta caminhada.

AGRADEÇO

À Profa. Dra. Maria Imaculada Fonseca

Amiga, orientadora e exemplo no qual me esmero.

Por toda atenção, paciência, companheirismo e colaboração.

Por acreditar em meu potencial. Te adoro!!!

Ao Prof. Amaral que me acolheu desde cedo junto ao Laboratório e que me

deu oportunidade de aprender muito do que sou hoje e me ensinou a enxergar as situações

de maneiras diversas. Obrigada padrinho!!!!

“Só desperta a paixão de aprender quem tem a paixão de ensinar”

(Anônimo).

AGRADECIMENTOS

*Agradeço, primeiramente, a DEUS, por sempre me iluminar e me dar forças
pra superar todos os obstáculos e chegar até onde hoje eu cheguei!*

*À Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias UNESP/Jaboticabal, pela
oportunidade de realizar meu mestrado.*

*Ao programa de bolsas de estudo do CNPq, pelo auxílio financeiro concedido
durante o curso de pós-graduação.*

Ao Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira, pelo incentivo, participação e colaboração nas correções e sugestões feitas nas bancas de defesa do projeto, qualificação e defesa da dissertação de mestrado. Obrigada Professor!

À Profa. Dra. Nayá Carla Marchi de Rezedo Lago integrante da banca de defesa, pela disponibilidade, atenção e valiosas e oportunas contribuições.

À Profa. Dra. Maria da Glória Buzinaro, pela participação, amizade e colaboração nas correções e sugestões feitas na banca de qualificação.

Ao Prof. Dr. Manoel Antonio Monteiro de Almeida, pela participação e colaboração nas correções feitas na banca de defesa do projeto.

Ao Prof. Dr. Iucir Abrão Nascif Júnior, da Universidade de Franca – Unifran, pela colaboração na defesa.

Aos meus amigos da faculdade, do curso de pós graduação (JU SANTOS, SIMARA, MARA E EXPEDITA) e do Laboratório de Digestão Anaeróbia da FCAV. Obrigada pela dedicação e atenção de vocês!

Aos meus irmãos de coração, Fernanda e Elton, pela inestimável ajuda na realização do trabalho e colaboração nas análises estatísticas. Pela amizade, apoio, solidariedade e convivência harmoniosa nesta vida.

À Rosana, secretária do Departamento de Economia Rural, pelo apoio e solidariedade nos momentos de desespero.

À Prefeitura do Município de Guariba - SP, em particular ao Dema e ao Márcio Contarim, pela ajuda inestimável durante o transcorrer do projeto.

Aos estagiários do Projeto Nosso Leite, sem os quais seria muito difícil a realização deste trabalho.

Ao SEBRAE, em particular Minha amiga Érica pelas nossas caminhadas e buscas das propriedades no meio dos canaviais de Guariba (às quinta-feira).

Aos meus amigos da SAAEJ, em especial, o Daniel, meu chefe, pela amizade e compreensão nos momentos que precisei me afastar do trabalho e desabaixar minhas raivas.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente apoiaram a realização deste trabalho.

Meus sinceros e eternos agradecimentos

C837i Costa, Fabiana Ferreira da
Interferência de Práticas de Manejo na Qualidade Microbiológica
do Leite Produzido em Propriedades Rurais Familiares / Fabiana
Ferreira da Costa. – – Jaboticabal, 2006
xiii, 64 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2006
Orientador: Maria Imaculada Fonseca
Banca examinadora: Mauro Dal Secco de Oliveira, Naiá Carla
Marchi de Rezende Lago
Bibliografia

1. Qualidade do leite. 2. Higiene. 3 Propriedade familiar. I. Título.
II. Jaboticabal-Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

CDU 637.12

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação –
Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - UNESP, Câmpus de Jaboticabal.

SUMÁRIO	Página
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
RESUMO.....	v
SUMMARY.....	vi
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	4
3. REVISÃO DE LITEURATURA.....	5
3.1 A produção de leite e sua importância.....	5
3.2 Etapas críticas para a contaminação de leite.....	7
3.3 Microbiota comum do leite.....	10
3.3.1 Bactérias aeróbias mesófilas.....	11
3.3.2 Bactérias aeróbias psicrótróficas.....	12
3.3.3 O grupo coliforme.....	13
3.4 Procedimentos de higienização.....	15
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
4.1 Área de estudo.....	18
4.2 Colheita das amostras.....	19
4.2.1. Amostras de água.....	20
4.2.2. Amostras dos utensílios de ordenha.....	21
4.2.3. Amostras da mão do ordenhador.....	21
4.3 Análises Laboratoriais.....	22
4.3.1. Determinação dos Números Mais Prováveis de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de água.....	22
4.3.2. Quantificação dos microrganismos mesófilos pelo método de “POUR PLATE” nas amostras de água.....	23
4.3.3. Determinação dos Números Mais Prováveis de coliformes totais e termotolerantes pelo método dos tubos múltiplos nas amostras da solução de transporte de suabes.	23
4.3.4. Quantificação dos microrganismos mesófilos pelo método de “POUR PLATE” nas amostras da solução de transporte de suabes.....	24
4.4 Colheita das amostras de leite.....	24
4.5 Análise Estatística.....	25
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26

5. CONCLUSÕES.....	44
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXO 1.....	59
ANEXO 2.....	62

LISTA DE TABELAS	Página
Tabela 1. Levantamento sanitário e de manejo das propriedades rurais.....	26
Tabela 2. Características das propriedades analisadas relacionadas com a água.....	30
Tabela 3. Números e porcentagens de amostras de água fora dos padrões para uso humano (Portaria 518 de 25/03/2004 do Ministério da Saúde), em três propriedades analisadas do município de Guariba –SP.....	31
Tabela 4. Média aritmética dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe dos utensílios de ordenha antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	33
Tabela 5. Média aritmética dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes fecais por 100mL de amostra de solução de transporte de suabe dos utensílios da ordenha antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	36
Tabela 6. Média aritmética da contagem de microrganismos mesófilos (UFC/100mL de amostra de solução de transporte de suabe) dos utensílios da ordenha antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	38
Tabela 7. Média aritmética dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais, coliformes termotolerantes e contagem de microrganismos mesófilos (UFC) por mL de amostra de leite em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	40

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do balde coletor de leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	34
Figura 2: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do latão acondicionador de leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	34
Figura 3: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe da mão do ordenhador antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	35
Figura 4: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do balde coletor de leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	36
Figura 5: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do latão acondicionador de leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	37
Figura 6: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe da mão do ordenhador antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.....	37

INTERFERÊNCIA DE PRÁTICAS DE MANEJO NA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE PRODUZIDO EM PROPRIEDADES RURAIS FAMILIARES

RESUMO: A qualidade microbiológica do leite depende de fatores como saúde do animal, produtor, assepsia do úbere, higienização dos equipamentos de ordenha, tanque resfriador e qualidade da água. Além disso, a higiene correta na sua cadeia produtiva tem papel relevante para obtenção de um produto final com qualidade higiênico-sanitário assegurada ao consumidor. Assim, o objetivo do presente trabalho foi detectar, prevenir e corrigir problemas nas fases de obtenção do leite que possam levar à contaminação microbiológica através da aplicação de procedimentos adequados de higienização. Para tanto, após prévio diagnóstico da realidade de cada propriedade, foram colhidas amostras de leite *in natura*, água e suabe de utensílios de ordenha, em três propriedades específicas situadas no município de Guariba/SP, em 2 etapas, anterior e posteriormente às mudanças de manejo de ordenha preconizadas como ideais. As amostras foram submetidas à contagem de microrganismos mesófilos, quantificação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes. Comparou-se as médias obtidas das 3 propriedades do município, a fim de verificar o grau de manejo e higiene adotados pelas propriedades. Todas as propriedades apresentaram deficiência no manejo sanitário e zootécnico, bem como no controle da qualidade da água sendo estes fatores determinantes na contaminação do leite cru. Para coliformes totais e termotolerantes não houve diferença significativa no manejo realizado e qualidade do leite cru. Porém a redução dos microrganismos mesófilos nos parâmetros avaliados foi verificada em todas as propriedades analisadas.

PALAVRAS-CHAVES: **Água, Qualidade do Leite, Higiene, Propriedade familiar e Ordenha**

INFERENCE OF PRACTICAL MANAGERMENTS IN MILK MICROBIOLOGIC QUALITY PRODUCED BY FAMILY FARMS

SUMMARY: The microbiological quality of milk depends on factors such as animal health and producer, udder cleanlinesses, milking equipments of higyene, cooler tank and water quality. Besides that, the correct hygiene in the productive chain of milk has important role to obtain a final product with hygienic and sanitary quality assured to the consumer. Thus, this present work intended to detect, prevent and correct problems in the stages that might take to microbiological contamination trough the establishment of proper procedures of hygiene. Regarding to that, after previous reality diagnosis of each property, samples of milk, water and milking utensils swab were collected in three specific properties sited in Guariba city, São Paulo state, before and after the management changes considered as ideals were made. The samples were submitted to mesófilos count, most probable number (MNP) of total and termotolerantes coliforms. Verify the degree of management and hygiene adopted by those properties. All of assets they presented dearth at the management sanitary and zootecnico, as well as at the controls from the brand from the water being these causes determinant to contamination milk raw. There was no significative difference in management and raw milk quality for termotolerantes and total coliforms. Therefore, the decrease in the mesofilos microorganisms in the parameters assessed was present in all the properties analyzed.

KEY-WORDS: Water, Milk quality, Hygiene, Family Property and Milking.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária de leite é uma atividade de grande relevância em diversas regiões brasileiras, principalmente no Sul e Sudeste, sendo um segmento que se destaca devido ao seu caráter de complementaridade à renda dos pequenos produtores rurais e também por ser, o leite, dentre os diversos alimentos consumidos no Brasil, um produto de alto valor nutritivo e fonte de proteínas essenciais para o crescimento e o desenvolvimento da criança, bem como para a manutenção de adultos por também ser fonte de energia, cálcio e fósforo.

É importante assinalar que o leite de vaca, depois do leite materno, é o alimento mais equilibrado e completo de que dispõe o ser humano (Blanc, citado por SANTOS et al., 2003). Portanto, em consequência de sua importância, o leite deve exercer sua função nutricional de uma forma segura, ou seja, isento de patógenos, além da preservação de suas características organolépticas. Dentre os microrganismos patógenos cita-se a *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Micobacterium tuberculosis* e *Brucella abortus*.

Como a indústria leiteira mundial está atravessando um período de intensas transformações em sua estrutura e pode-se identificar como grandes tendências à diminuição dos preços pagos ao produtor, a redução de subsídios, o aumento do módulo de produção e, principalmente, o aumento nas exigências de qualidade do leite, assim como maior preocupação dos consumidores com relação à segurança alimentar, a produção de leite no Brasil está passando por um processo de regulamentação, que contempla uma revisão dos padrões de qualidade e de fiscalização do produto.

Para tanto, foi criado pelo Governo Federal o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), que visa estabelecer novos padrões para a cadeia produtiva do leite, no que concerne à produção da matéria-prima e seu processamento, sendo composto de várias propostas, com destaque para aquelas que se referem ao aumento da amplitude e eficiência do sistema de inspeção e estabelecimento de limites no horário de recepção do leite cru refrigerado nos laticínios, como aponta Almeida (2001), bem com a substituição da coleta de leite em latões pelo transporte a granel de leite refrigerado; estabelecimento de sistema de controle de equipamentos e ingredientes utilizados nos laticínios; aumento da fiscalização e controle no trânsito interestadual de animais e produtos, conforme é ressaltado por Jank & Galan (2004).

No que concerne à qualidade do leite, o pagamento diferenciado da matéria-prima em função de suas características físicas, químicas, microbiológicas, bromatológicas e organolépticas tende a se ampliar e, dessa forma, o pagamento baseado na qualidade será um elemento de diferenciação dos sistemas de produção e que certamente, ditará a permanência ou não dos produtores na atividade já que, no Brasil, a produção de leite, via de regra não é especializada, sendo praticada principalmente por produtores que, em sua maioria não incorporam tecnologia ao processo produtivo e uma parcela considerável mantém vínculos com o comércio informal do leite. Além disso, grande parte dos produtores se dedica, além da produção de leite, a atividades como a criação e comercialização de animais mestiços e de corte.

Dentro do processo de obtenção do leite, a ordenha constitui a etapa de maior vulnerabilidade para a ocorrência de contaminações por sujidades, microrganismos e substâncias químicas que podem ser imediatamente incorporados ao produto *in natura*.

Considerando que, de acordo com Santos & Laranja da Fonseca (2001) e Silva et al., (1997), a carga microbiana inicial está diretamente associada à limpeza dos utensílios utilizados para retirada e transporte do leite, a higienização deficiente

dos baldes, latões e sistema de ordenha são apontados como os principais fatores responsáveis pelo aumento no número de microrganismos. Além disso, a superfície dos tetos representa uma importante fonte de contaminação do leite e a lavagem com água clorada a 150 ppm e desinfecção dos mesmos antes da ordenha contribui, significativamente, para redução de coliformes totais, microrganismos mesófilos e *Staphylococcus* sp e, conseqüentemente o controle de doenças (AMARAL et al., 2004).

Portanto, a qualidade da água utilizada para lavagem dos utensílios, equipamentos de ordenha e tetos dos animais é fundamental para evitar a contaminação do leite e veicular microrganismos para a glândula mamária.

Ressalta-se que, como uma das conseqüências mais graves da má higienização na cadeia produtiva de alimentos é a possível ocorrência de toxinfecções de origem alimentar, em toda a cadeia láctea, incluindo os produtos terminados, até a armazenagem e distribuição, procedimentos de limpeza e sanitização devem ser estabelecidos, visando prevenir e corrigir problemas que possam levar à contaminação microbiológica, física ou química do leite.

2. OBJETIVOS

A qualidade do leite pasteurizado tem sido questionada, e pesquisas têm mostrado uma alta percentagem de amostras fora dos padrões microbiológicos recomendados, tanto nas indústrias quanto no comércio varejista.

Tendo em vista o exposto e considerando a importância do leite, a presente pesquisa teve como objetivo:

1. Realizar o levantamento da situação sanitária de três propriedades rurais específicas do município de Guariba-SP, situado na região nordeste do Estado de São Paulo;
2. Proposição de alterações de manejo nos pontos considerados críticos na obtenção do leite cru, visando melhoria na qualidade final do produto a ser comercializado;
3. Realização de estudo comparativo (antes e após a utilização de medidas de prevenção) entre os veículos de contaminação microbiológica nas fases tecnológicas da produção de leite nas propriedades estudadas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3. 1. A produção de leite e sua importância

A pecuária leiteira no Brasil tem passado por mudanças importantes desde o início dos anos noventa, quando se iniciou o processo de desregulamentação do mercado e a abertura comercial. É dado como característica marcante da produção primária do leite no Brasil a predominância de produtores nada ou pouco especializados, produção sazonal, pequenos volumes por produtor (40-50 litros/dia) e a venda de animais mestiços e de corte, resultado de uma legislação ultrapassada quanto à qualidade do produto e ao tabelamento advindo da década de cinquenta. É por isso que a produção de leite no país apresenta uma heterogeneidade de situações, indo desde o produtor especializado (raças puras, alimentação e sanidade adequadas, economia de escala, etc.) até o produtor de rebanhos de corte, para o qual o leite é um subproduto do bezerro capaz de gerar uma pequena renda mensal (ALMEIDA, 2001).

Segundo o autor supra citado, a cadeia produtiva do leite aponta algumas mudanças para os próximos anos, até 2012. Em curto prazo haverá redução no número de produtores médios e grandes, principalmente aqueles que operam com custos elevados, escalas insuficientes e mão-de-obra assalariada. A maioria do leite produzido provirá de produtores familiares sendo dirigido ao mercado informal. E em longo prazo, a granelização e a revisão das normas de produção e qualidade final dos produtos lácteos culminará em um maior número de produtores especializados que substituirão um forte contingente de produtores não especializados. Estima-se que o processo deverá redundar no desaparecimento de pelo menos um terço dos atuais produtores de leite.

Dentro deste contexto, os produtores familiares, os quais se utilizam basicamente da mão-de-obra familiar, tem como principal atividade agrícola a pecuária de leite, além do milho, do feijão, da suinocultura, da criação de aves e bovinocultura de corte (GUANZIROLI & CARDIM, 2000).

Dentre as regiões brasileiras, de acordo com os dados do censo 95/96 (IBGE, 1996), a pecuária leiteira é expressiva no Sul e Sudeste, onde 61,6% e 44,1% dos produtores familiares, respectivamente, se dedicam a esta atividade.

No Brasil, de modo geral, o processo de obtenção do leite é realizado sob precárias condições higiênico-sanitárias que levam à altas contagens de microrganismos no produto, podendo constituir-se um risco à saúde animal e à saúde pública, principalmente quando consumido sem tratamento térmico adequado.

Tendo em vista a importância do leite sob os aspectos nutricionais, econômicos, sociais e de saúde pública, a qualidade desse produto tem merecido a atenção de inúmeros pesquisadores em todo o mundo.

Segundo Garcia et al. (2000), é inexistente uma barreira entre higiene e profilaxia, pois a higiene leiteira, ou seja, a produção de leite limpo e com baixa contaminação microbiana tem por objetivo oferecer um produto com bom valor nutricional, não comprometendo a saúde humana e a profilaxia é a ciência que trata dos meios de impedir a eclosão e a transmissão de doenças, portanto a higiene é a primeira medida a ser adotada ao se fazer profilaxia.

De acordo com Franco & Landgraf (1996) e Garcia et al. (2000), a contaminação do leite inicia-se na fazenda, durante ou após a ordenha, devido à ineficiência de higienização de utensílios, além de doenças do rebanho. Não se esquecendo que as dificuldades de transporte, falhas no processo de beneficiamento e a estocagem podem interferir diretamente sobre a qualidade do leite. Dessa forma, para que seja mantida a qualidade do leite é preciso produzi-lo, pasteurizá-lo e comercializá-lo de maneira correta, de acordo com os parâmetros técnicos estabelecidos pela legislação. Nos últimos anos, um número crescente de laticínios e

cooperativas vêm remunerando o produtor de leite de acordo com a qualidade da matéria-prima fornecida para a indústria.

Vale ressaltar que o comércio informal de leite é uma grande ameaça à saúde pública. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), dezesseis doenças bacterianas e sete viróticas são veiculadas pelo produto comercializado nessas condições, dentre elas, tuberculose e gastroenterites, conseqüentes da baixa qualidade do leite (AGNESE, 2002).

3. 2. Etapas críticas para a contaminação do leite

As etapas de ordenha e armazenamento do leite até que seja entregue na indústria são críticas para sua contaminação, que é extremamente variável. A grandeza e a diversidade da população contaminante variam consideravelmente e estão intimamente associadas à origem do leite (HARVEY & HILL, 1989; PELCZAR et al., 1996). Além disso, a qualidade do leite é dependente de vários fatores que vão do estado sanitário do rebanho, à limpeza dos equipamentos e utensílios destinados à obtenção do leite, higiene do local e qualidade da água utilizada na propriedade.

Para Ajzentel (1994), a ordenha, preferencialmente mecânica, deve ocorrer dentro dos mais criteriosos padrões sanitários porque, mesmo em condições ótimas, o leite apresentará uma carga microbiana que deve ser mantida constante, evitando a multiplicação da mesma no leite.

Entre as características relacionadas com a qualidade do leite, destaca-se a microbiológica. Por ser um excelente meio de cultura, o leite propicia a proliferação de microrganismos, contaminando-o a partir de três principais fontes: de dentro da glândula mamária do rebanho, da superfície exterior do úbere e tetos, e da superfície dos equipamentos de ordenha e tanques ou latões (BRAMLEY & MCKINNON, 1990). Por conseguinte, a saúde da glândula mamária, a higiene antes e durante a ordenha, o manejo e a eficácia nos procedimentos de limpeza e sanitização dos equipamentos de ordenha determinados pela qualidade da água utilizada são fatores que afetam

diretamente a contaminação microbiana do leite cru. A taxa de multiplicação de microrganismos, por sua vez, depende do binômio tempo-temperatura, ponto crítico e elemento de notável importância do sistema de transporte e armazenamento do produto.

Laranja da Fonseca & Santos (2000) citaram que 95% dos problemas com altas contagens de microrganismos mesófilos são originários de deficiências na lavagem e na sanitização de utensílios e sistema de ordenha e deficiências na higiene de ordenha, os quais estão associados a problemas de resfriamento e, raramente a vaca é fonte de problema.

Este fato é confirmado por Schocken-Iturrino et al. (1982) que realizando um estudo para verificar o efeito de diferentes medidas higiênico-sanitárias (1:ordenha manual sem cuidados higiênicos; 2:ordenha manual com prévia higienização do úbere; 3: ordenha manual com prévia higienização do úbere e mãos do ordenhador; e 4: ordenha manual com prévia higienização do úbere e mãos do ordenhador e local da ordenha), adotadas durante a ordenha, evidenciaram que à medida que se aumentam essas condições higiênicas, ocorre redução no número total de microrganismos/mL de leite, melhorando conseqüentemente a qualidade do produto.

Brito (2004), em estudo realizado em propriedades leiteiras com manejo de ordenha manual, verificou alta contagem total de bactérias (CTB=821.000 UFC/mL) em amostras de suabe dos baldes coletores do leite cru abertos que, ao serem cobertos e sanitizados, este valor foi reduzido para 99.000 UFC/mL. Quanto ao contato dos utensílios de ordenha com o leite (baldes, latões, filtro, equipamentos de ordenha, tanque refrigerador), importantes veículos de contaminação do leite, as amostragens indicaram uma redução da CTB de 190.000 UFC/mL para 3.600 UFC/mL ao serem sanitizados.

Segundo Oliveira et al. (1983), a obtenção do leite constitui a etapa de maior vulnerabilidade para a ocorrência de contaminações por sujeira, microrganismos e substâncias químicas, presentes no próprio local de ordenha, e que podem ser imediatamente incorporados ao produto *in natura*. Em propriedades onde o rebanho

leiteiro não possui número considerável para aquisição de ordenhadeira mecânica, a retirada do leite é manual e o acondicionamento é feito em latões específicos e higienizados nas usinas beneficiadoras. Nestes casos, pesquisas ressaltam a importância das mãos dos manipuladores, os ordenhadores, como veículos de contaminação e tornam evidente a necessidade de higiene e desinfecção das mãos para manipulação do alimento (CARDOSO et al., 1996), reduzindo assim, a contaminação do leite cru.

Outro fator que pode interferir na qualidade do leite é a má qualidade microbiológica da água utilizada nas propriedades rurais. Além disso, em muitos casos, a água é tida como uma das principais vias de transmissão de agentes causadores de doenças para animais domésticos, principalmente bovinos, suínos e aves, as quais, segundo Souza et al.(1983), representam fatores importantes à economia e à saúde pública, pois podem acarretar prejuízos econômicos, às vezes elevados, e muitos dos seus agentes casuais podem ser transmitidos ao homem.

Aguero et al. (1987), em estudo realizado no Chile, verificando a qualidade do leite e da água utilizada nas propriedades leiteiras, observaram que o leite produzido em propriedades com melhor qualidade da água apresentou um maior tempo de descoloração na prova da redutase, prova essa que reflete a quantidade de microrganismos presentes no leite, com diferença significativa ($p < 0,01$) quando comparadas com as provas realizadas no leite das propriedades com água de pior qualidade.

Lunder & Breenne (1996), em estudo realizado sobre a qualidade de leite cru produzido na Noruega, afirmam que a contagem bacteriana da água utilizada na produção de leite tem grande influência na contagem bacteriana do leite. Assim, deve-se dar importância para a qualidade da água a ser utilizada na higienização de equipamentos e do úbere dos animais, durante o processo de produção de leite, uma vez que ela pode se constituir numa fonte de microrganismos, que em contato com o leite, rico em nutrientes, pode ter seu número aumentado de maneira significativa diminuindo a qualidade do produto. Nesse sentido é que de acordo com Willers et al.

(1999), nos Estados Unidos, e Brasil (2002), segundo normas de produção do leite pasteurizado, a água utilizada na produção de leite deve ter características de potabilidade.

Amaral et al. (1995), analisando amostras de água utilizada na produção de leite em 10 propriedades rurais, situadas na região Nordeste do Estado de São Paulo, verificaram que 90,0% das amostras estavam fora dos padrões microbiológicos de potabilidade.

Segundo Lopes & Stamford (1997), o aumento significativo nos números de microrganismos durante a estocagem do leite pasteurizado tem como causas a presença de coliformes termotolerantes nas amostras de água usada na limpeza dos tanques e a temperatura inadequada na estocagem do leite. Tal fato demonstra a íntima relação entre a qualidade bacteriológica da água com a do leite.

Dentre os vários fatores que podem contribuir para a contaminação das águas subterrâneas, se destaca a ubiquidade de determinados microrganismos, especialmente daqueles pertencentes ao grupo dos coliformes e aos gêneros *Staphylococcus* e *Pseudomonas* (SCHUKKEN et al. 1991). Estes mesmos autores verificaram um aumento do risco de ocorrência de mastite quando a água utilizada na produção do leite não sofre qualquer processo de tratamento.

3. 3. Microbiota comum do leite

Quando o leite é proveniente de animais sadios e obtido em condições higiênicas adequadas, o número de microrganismos é baixo, sendo predominantes *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*, além de lactobacilos saprófitas do úbere e canais galactóforos (JAY, 1996). Os vírus, fungos e leveduras apesar de serem potencialmente importantes em algumas situações, têm uma participação reduzida.

Segundo Laranja da Fonseca & Santos (2000), as bactérias podem ser classificadas segundo a faixa de temperatura ótima para seu desenvolvimento e

multiplicação, sendo que as principais categorias presentes no leite são as bactérias psicrotróficas, capazes de se desenvolverem em baixas temperaturas ($<7^{\circ}\text{C}$) e as mesófilas (20 a 40°C). Quanto as bactérias termófilas, definidas como aquelas cuja temperatura ótima de crescimento situa-se entre 55 e 65°C , como máximo, para algumas espécies, podendo atingir entre 75 e 90°C e o mínimo em torno de 35°C , estão normalmente presentes no leite cru em baixas percentagens.

3. 3. 1. Bactérias aeróbias mesófilas

Os mesófilos incluem um grupo de microrganismos capazes de se multiplicarem numa faixa de temperatura entre 20 e 45°C , tendo uma temperatura ótima de crescimento a 32°C e, portanto, encontrando nas temperaturas ambientes de países de clima tropical, condições ótimas para o seu metabolismo (FRANCO & LANDGRAF, 1996; PRATA, 2001).

Esse grupo é muito importante, por incluir a maioria dos contaminantes do leite, tanto deterioradores como patógenos. É considerado um bom indicador de qualidade microbiológica, sendo a contagem microbiana em placa realizada para se avaliar as condições higiênicas na qual o produto foi processado (JAY, 1996; TEIXEIRA et al., 2000).

Os microrganismos mesófilos, em termos gerais, predominam em situações em que não há condições básicas de higiene bem como na ausência de refrigeração adequada do leite. Em tais circunstâncias, bactérias como *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* e algumas enterobactérias atuam intensamente na fermentação da lactose, produzindo ácido láctico e gerando, conseqüentemente, a acidez do leite, que é um dos maiores problemas detectados nas usinas beneficiadoras do produto.

3. 3. 2. Bactérias aeróbias psicrotróficas

O termo psicrotrófico tem confundido os microbiologistas desde o começo do século XX, sendo utilizados outros termos como: psicrofílos, psicrofílos facultativos, tolerantes ao frio ou psicrotolerantes (BRITO & BRITO, 2001).

Segundo os autores supra citados, de acordo com as normas da International Dairy Federation, os psicrotróficos foram definidos como sendo os microrganismos que podem desenvolver à 7°C ou menos, independente da temperatura ótima de crescimento, sendo extremamente importantes em produtos conservados ou armazenados em condições de refrigeração por períodos longos (1 a 4 semanas). O problema torna-se ainda mais sério quando se considera que o uso intensivo da refrigeração, desde a fazenda até a residência do consumidor, pode provocar uma gradativa seleção para esse grupo. Vale ressaltar ainda que tais microrganismos não atuam na prova da redutase, análise realizada nos laticínios.

Tem-se observado que um grande número de espécies, consideradas restritamente mesófilas, já estão sendo incluídas também entre os psicrotróficos (SILVEIRA, 1998; SANTANA, 2001).

Os microrganismos psicrotróficos estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, no solo, nas plantas e nos animais e o leite em contato com essas fontes pode ser contaminado (THOMAS & THOMAS, 1973).

A grande maioria dessas bactérias é destruída na pasteurização, entretanto, os microrganismos psicrotróficos termodúricos por serem capazes de resistirem a temperaturas similares àsquelas do processo de pasteurização (72-75°C). Além de alterarem o leite, produzem enzimas lipolíticas e proteolíticas termorresistentes (SANTOS & LARANJA da FONSECA, 2001).

Uma ampla gama de problemas de qualidade está associada à ação das proteases e lipases de origem microbiana como: alteração de sabor e odor do leite, perda da consistência na formação do coágulo para fabricação de queijo e gelatinização do leite longa vida (COUSIN, 1982).

Os microrganismos psicrotróficos encontrados no leite são em sua maioria Gram-negativos, provenientes do meio ambiente e equipamentos de ordenha, mas, os Gram-positivos também estão presentes, porém em menor quantidade.

Os psicrotróficos Gram-positivos mais freqüentes no leite cru resfriado pertencem aos gêneros *Micrococcus*, *Bacillus* e *Arthrobacter*. Mesmo quando presentes em pequenas quantidades no leite podem causar alterações decorrentes de multiplicação com degradação de seus componentes. Apesar de serem facilmente destruídos pela pasteurização, exceto os *Bacillus* que são esporulados, suas enzimas proteolíticas e lipolíticas são termorresistentes e promovem alterações físicas e organolépticas no leite e seus derivados mesmo após o tratamento térmico (SANTANA, 2001; PRATA, 2001; SANTOS, 1999; ANDRADE et al., 1998).

O gênero *Pseudomonas* é o mais importante dentre os psicrotróficos, pois sob más condições de refrigeração predomina rapidamente sobre a microbiota do leite cru e pasteurizado (MUIR, citado por ROQUE et al. (2003)).

Em um estudo de freqüência de psicrotróficos em leite e ambiente de ordenha observou-se que em leite cru, 81,62% dos mesófilos são microrganismos com comportamento psicrotrófico, dos quais 63,35% são proteolíticos e 64,14% são lipolíticos. Em outra pesquisa, foi observado que alguns gêneros de coliformes são considerados psicrotróficos, representando 10-20% da microbiota isolada de leite cru estocado entre 5- 7°C (BRAMLEY & MCKINNON, 1990; SANTOS, 1999).

3. 3. 3. O grupo coliforme

Apesar dos coliformes estarem muito difundidos, podendo ser detectados em vários tipos de alimentos, não indicam, necessariamente, uma contaminação de origem fecal, no sentido de envolver contato direto ou indireto com fezes. A presença destes microrganismos em leites crus é freqüentemente atribuída às práticas precárias de higiene durante a ordenha e nas etapas subseqüentes de processamento do produto (MORENO et al., 1999).

Por isso, é importante a realização de testes para organismos coliformes em leite que, de acordo com Oliveira & Caruso (1996), têm a finalidade de avaliar as condições sanitárias de produção, determinar presença de infecções do úbere causada por certas espécies deste grupo e também avaliar a eficiência da pasteurização, já que o grupo de microrganismos coliformes totais e termotolerantes é considerado indicador das condições higiênicas da produção e beneficiamento do leite pasteurizado.

Os coliformes totais foram os primeiros organismos utilizados como indicadores da qualidade de fontes de água de bebida e alimentos. São bacilos Gram negativos, não esporulados, aeróbios facultativos, oxidase negativos, capazes de crescer na presença de sais biliares e que fermentam a lactose à temperatura de 35-37°C, com a produção do aldeído, ácido e gás, num período de 48 horas. Fazem parte deste grupo principalmente as espécies dos gêneros: *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella* e a *Escherichia coli*. Entretanto, a presença não indica necessariamente poluição de origem fecal, já que este grupo de microrganismos pode ser encontrado no meio ambiente, devido a sua contaminação pelas fezes. Assim, os coliformes totais indicam principalmente má qualidade higiênica da água ou alimento (SACK, 1975; RYDER, 1976; PICKERING et al. 1978; VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992; SIQUEIRA, 1995; SILVA et al., 1997).

A utilização do grupo coliforme como indicador das condições higiênico-sanitárias em alimentos, é prática estabelecida há muitos anos porque, dos agentes bacterianos, eles são internacionalmente considerados microrganismos indicadores da segurança microbiológica de alimentos (PRATA, 2001; VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992).

Os coliformes termotolerantes também são coliformes totais conhecidos como coliformes termotolerantes e de ocorrência não necessariamente às fezes do homem e animais homeotermos. Sua presença na água ou leite evidencia o risco da presença de organismos patogênicos de origem fecal. Estes microrganismos têm a capacidade de fermentar a lactose à temperatura de 44,5°C ou 45,5°C (+/- 0,2°C) com a produção

de aldeídos, ácido e gás. Fazem parte deste grupo principalmente a *Escherichia coli* e algumas espécies de *Klebsiella* e *Enterobacter*. A identificação de *Escherichia coli* em água de bebida e alimentos representa a confirmação de contaminação recente destes produtos por fezes e a possível presença de bactérias patogênicas, vírus entéricos ou parasitas intestinais (SACK, 1975; RYDER, 1976; PICKERING et al. 1978; VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992).

Os coliformes termotolerantes são os indicadores mais fidedígnos, e quanto maior o nível de contaminação, maior a correlação entre os coliformes fecais e *Salmonella* sp e outros microrganismos enteropatogênicos. Segundo Moriñigo et al. (1990), os microrganismos patogênicos de origem fecal, como as salmonelas, são detectados em baixos números em amostras de água, sendo de difícil detecção e aparecem de forma intermitente. Por essas razões, o nível de poluição fecal em amostras de água é avaliado com a utilização de outros microrganismos, entre eles coliformes totais e coliformes termotolerantes (APHA, 1992).

3. 4. Procedimentos de higienização

Os microrganismos necessitam fixar-se na natureza e nos sistemas alimentares em superfícies sólidas devido à presença de nutrientes, os quais são essenciais para sua multiplicação e viabilidade. Inicialmente aderem-se às superfícies e, posteriormente, começam as atividades de multiplicação e desenvolvimento celular, formando as colônias de células. Neste contexto, a formação de polímeros orgânicos é indispensável para colonização dos microrganismos (Allison e Sutherland citado por KUMAR & ANAND, 1998). Essa massa celular ativa e as substâncias extracelulares liberadas, em associação às superfícies sólidas, é conhecida como “biofilme” (Bakke et al., citado por KUMAR & ANAND, 1998).

Os “biofilmes” têm sido considerados importantes na higiene alimentar, por serem a causa de problemas microbiológicos em diversas áreas, como nas indústrias de processamento de alimentos, laticínios, indústrias manufaturadoras de produtos

biodegradáveis, entre outras (JOHNSTON & JONES, 1995). O processo dinâmico da sua formação é consequência da habilidade dos microrganismos em fixarem-se e desenvolverem-se nos alimentos e nos locais de contato com eles. A composição dos “biofilmes” pode ser heterogênea devido à colonização de diferentes microrganismos (KUMAR & ANAND, 1998).

Os procedimentos higiênico-sanitários dispensados durante a obtenção e a manutenção do leite, até sua entrada no beneficiamento, determinarão o tipo e a quantidade dos contaminantes. A saúde do rebanho leiteiro, as boas práticas durante a ordenha e a conservação do leite são fundamentais para evitar a multiplicação dos microrganismos responsáveis por sua deterioração. Esses cuidados são essenciais para a fabricação de bons produtos e derivados, já a qualidade desses depende, em primeiro lugar, da boa qualidade do leite utilizado como matéria-prima (Gehriger, citado por PRATA 1984). Quando a carga microbiana inicial do leite é elevada, os processos de beneficiamento e industrialização geralmente não são eficientes para destruição de microrganismos deterioradores, até mesmo patogênicos.

Paro (2000), em estudo analisando os pontos críticos para controle da qualidade microbiológica de leite tipo B em uma micro-usina na região de Ribeirão Preto-SP, detectou que 50% das amostras de leite cru armazenado em tanque de expansão estavam fora dos padrões legais. Vale ressaltar que a contagem permitida de microrganismos mesófilos, pelo Ministério da Agricultura, descritas na Instrução Normativa Nº 51 (18/09/2002), em leite Tipo B *in natura* é de no máximo $5,0 \times 10^5$ UFC/mL.

Esforços para garantir a qualidade e a segurança do leite têm sido recomendados. Programas como as boas práticas de fabricação (BPF) e o APPCC (análise de perigos e pontos críticos de controle) vêm sendo implementados na produção de alimentos (BRITO, 2004), apesar das dificuldades para sua implementação em fazendas leiteiras (HEGGUM, 2001). Entretanto, exemplos do seu emprego visando à melhoria da produção ou ao controle de doenças, como a mastite,

são encontrados na literatura (CULLOR, 2001; Heuchel et al., 1999 citados por BRITO & BRITO, 2001).

As normas para implementação do sistema APPCC são definidas no *Codex Alimentarius* (FAO, 1999), composto por 12 passos, sendo um deles a elaboração de fluxogramas, específicos para cada caso, que contribuem para melhorar o controle das técnicas utilizadas no manejo dos animais e equipamentos, e permitem identificar potenciais problemas, assim como a necessidade de treinamentos (BRITO et al., 2004).

Visando prevenir e corrigir os problemas que possam levar à contaminação do produto a ser comercializado, procedimentos de higiene e sanitização devem ser estabelecidos e aplicados às usinas e mini-usinas de beneficiamento, fábricas de laticínios, entre outras indústrias de alimentos (HIGIENIZAÇÃO, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4. 1. Área de estudo

As propriedades foram selecionadas após um estudo exploratório para avaliação preliminar, dentre aquelas integrantes do Convênio entre a FCAV/UNESP e a Prefeitura Municipal de Guariba denominado “Projeto Nosso Leite”. Foram escolhidas três propriedades para a realização do presente trabalho por atenderem algumas exigências pré-determinadas que caracterizem a necessidade de intervenção: ausência de assistência técnica; baixa produção e produtividade; mão de obra familiar; ordenha manual; deficiência na extração e no armazenamento do leite.

Quanto à definição do número de propriedades, foi considerado o fato da necessidade de acompanhamento sistemático para coleta de dados de acordo com os objetivos pretendidos, o que seria prejudicado com um número maior que três.

Durante o segundo semestre de 2004, foram aplicados dois questionários, sendo um para realizar o levantamento da situação sanitária das propriedades (Anexo 1) e outro para verificação da importância e qualidade da água utilizada nelas (Anexo 2).

As propriedades rurais estudadas foram classificadas como propriedade familiar, porque a mão-de-obra presente era basicamente de membros pertencentes à família.

O rebanho era composto por animais cruzados, ou seja, cruzamento entre taurinos e zebuínos, com produção média de 5 litros de leite/vaca/dia. A média de animais no rebanho era de 55 animais, com cerca de 20 vacas em lactação, 1 touro e o restante de vacas secas e bezerros.

O pequeno número de animais na maioria das propriedades e a pequena produção de leite revelaram a característica secundária da produção leiteira como geradora de rendimento na maioria das propriedades, sendo o cultivo da cana-de-açúcar a principal atividade econômica da região.

A nutrição animal, apesar de ser importante na problemática produtiva, tanto no que se refere à disponibilidade e conversibilidade de alimentos como a sua interação com as infecções e a imunidade, não tinha a devida atenção dos produtores que a fornecia de maneira deficiente, negligenciando uma dieta balanceada, especialmente quanto à utilização de volumosos de boa qualidade. É importante salientar que o principal volumoso fornecido aos animais era a cana-de-açúcar.

No período de maio a outubro de 2005, foram realizadas colheitas das amostras de água e solução de transporte de suabes dos utensílios de ordenha e mãos do ordenhador.

4. 2. Colheita das amostras

Durante as visitas foram realizadas colheitas de amostras de leite, água solução de transporte de suabe de utensílios de ordenha e mão do ordenhador com o intuito de indicar os principais pontos responsáveis pela contaminação microbiana do leite e a transferência de orientações de técnicas corretas de produção e obtenção do produto.

Propondo desenvolver uma comparação entre o manejo zootécnico atual existente em cada propriedade rural e o considerado ideal para obtenção de leite de alta qualidade microbiológica, em cada colheita eram executadas medidas de higienização de acordo com protocolo pré-determinado.

As práticas de manejo e higiene de ordenha propostas no protocolo eram: lavagem das mãos do ordenhador com detergente neutro e enxágüe do detergente e de resíduos com água potável e lavagem dos utensílios de ordenha, balde coletor, e

dos latões de acondicionamento do leite cru com detergente neutro e esponja de aço e posterior enxágüe do detergente e de resíduos com água potável.

Foram realizadas 5 (cinco) colheitas em cada propriedade rural, antes e depois da higienização proposta no protocolo. O intervalo entre as colheitas foi de sete dias.

Em cada colheita, nas propriedades, obtiveram-se:

- amostra de água utilizada no manejo da ordenha;
- amostra de solução de transporte de suabe da mão do ordenhador;
- amostra de solução de transporte de suabe da mão do ordenhador após sua higienização;
- amostra de solução de transporte de suabe da superfície interna do balde coletor de leite cru;
- amostra de solução de transporte de suabe da superfície interna do balde coletor de leite cru após sua higienização;
- amostra de solução de transporte de suabe da superfície interna do latão de acondicionamento do leite cru;
- amostra de solução de transporte de suabe da superfície interna do latão de acondicionamento do leite cru após sua higienização;
- amostra de leite cru.

4. 2. 1. Amostras de água (APHA, 1992)

Foram colhidas 15 amostras de água utilizada no manejo de ordenha do poço localizado nas mesmas, em frascos esterilizados com capacidade para 500 mL e preenchidos em 2/3 de seu volume. As amostras, todas oriundas de poços profundos, foram colhidas após escoamento da água por 3 minutos da torneira ligada diretamente ao poço, tomando-se cuidados para que a colheita se realizasse de maneira asséptica.

Os frascos, depois de identificados, foram acondicionados em caixas de material isotérmico contendo cubos de gelo.

As análises foram realizadas no Laboratório do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal - UNESP.

4. 2. 2. Amostras dos utensílios de ordenha

As amostras foram colhidas com um suabe passado na face interna do balde coletor e do latão de acondicionamento do leite cru antes e após a higienização descrita no protocolo. Das colheitas nas três propriedades obtiveram-se 60 amostras, sendo 30 de baldes coletores e 30 de latões acondicionadores.

Os suabes eram passados em toda superfície interna e movimentados de forma circular, totalizando quatro voltas.

Imediatamente após a colheita, os suabes foram colocados em tubos contendo 5 mL de água peptonada 0,1%.

Todas as amostras colhidas foram levadas ao laboratório em caixas de material isotérmico contendo cubos de gelo, sendo processadas logo após sua colheita.

As análises determinaram os números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes e quantificaram os microrganismos mesófilos e estas foram realizadas no Laboratório de Digestão Anaeróbia do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal - UNESP.

4. 2. 3. Amostras da mão do ordenhador

A área da mão do ordenhador para a colheita compreendeu as superfícies da palma da mão (entre palma e dorso), a partir da região dos punhos. Os suabes eram passados de forma angular, firme e com movimentos giratórios, desde a parte inferior da palma (linha dos punhos) até a extremidade dos dedos e voltando ao punho, sendo

este procedimento repetido três vezes. Das colheitas nas três propriedades obtiveram-se 30 amostras.

Todas as amostras colhidas foram levadas ao laboratório em caixas de material isotérmico contendo cubos de gelo, sendo processadas logo após sua colheita.

As análises determinaram os números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes e quantificaram os microrganismos mesófilos e estas foram realizadas no Laboratório de Digestão Anaeróbia do Departamento de Engenharia Rural da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal - UNESP.

4. 3. Análises Laboratoriais

4. 3. 1. Determinações dos Números Mais Prováveis de coliformes totais e termotolerantes nas amostras de água (APHA, 1992)

Para a diluição das amostras de água utilizada para o manejo de ordenha, a mesma para o consumo humano foram adicionados 10mL da amostra em 90mL de água peptonada a 0,1%, obtendo-se a diluição 10^{-1} . Em seguida transferiu-se 10 mL dessa primeira diluição em 90 mL do diluente obtendo-se a diluição 10^{-2} e assim sucessivamente até 10^{-10} .

A seguir, 10 mL da amostra pura e de suas diluições decimais foram transferidos para 10 tubos contendo 10 mL de Lauril Sulfato Tryptose (LST), concentração dupla, e tubos de fermentação de Durham, e incubados por 48 horas a 35°C. Os tubos positivos apresentaram a turvação e formação de gás. Alíquotas de 100 µL dos tubos positivos no Caldo LST foram transferidas para tubos contendo Caldo Bile Verde Brilhante (BVB) e tubos de fermentação e incubados por até 48 horas a 35°C para confirmação de coliformes totais e para tubos contendo Caldo EC e incubados a 44,5°C por 24 horas para confirmação de coliformes termotolerantes. A

partir do número de tubos positivos, no Caldo BVB e EC, e utilizando uma tabela de Número Mais Provável (para 10 tubos) foram obtidos o NMP de coliformes totais e fecais por 100 mL de água.

4. 3. 2. Quantificação dos microrganismos mesófilos pelo método de “POUR PLATE” nas amostras de água (APHA, 1992).

Das diluições 10^{-1} e 10^{-2} das amostras de solução de suabe, em duplicata, foram transferidos 1mL para placas de Petri esterilizadas e a seguir, de maneira asséptica, foram vertidos 15-20 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), fundido e resfriado. Após a homogeneização e solidificação, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após a incubação foram contadas as placas contendo entre 30 a 300 colônias e o número encontrado multiplicado pelo fator de diluição, fornecendo o número de microrganismos mesófilos por mL da solução de suabe.

4. 3. 3. Determinação dos Números Mais Prováveis de coliformes totais e coliformes fecais pelo método dos tubos múltiplos nas amostras da solução de transporte de suabes (APHA, 1991; ICMSF, 2000).

As amostras da solução de transporte de suabes foram homogeneizadas através de agitação, por 1 minuto, invertendo o tubo em ângulo de 45°.

O preparo das diluições decimais das amostras da solução de suabe foi realizado adicionando-se 1 mL da solução de suabe em 9 mL do diluente (água peptonada a 0,1% estéril), obtendo-se a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, foram preparadas da mesma maneira, as diluições subseqüentes, até a diluição 10^{-3} .

A partir da amostra ou suas diluições, foram inoculados com 1 mL, respectivamente, 3 baterias de 3 tubos de caldo lauril sulfato triptose com tubo de Durham invertido. Após a inoculação, estes tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48

horas e considerados positivos aqueles que revelaram a presença de desenvolvimento bacteriano, ou seja, turvação do meio e produção de gás.

A determinação do NMP de coliformes totais e coliformes termotolerantes seguiu a mesma metodologia descrita para as amostras de água, utilizando Tabela de NMP de três séries de três tubos.

4. 3. 4. Quantificação dos microrganismos mesófilos pelo método de “POUR PLATE” nas amostras da solução de transporte de suabes (APHA, 1991).

Das diluições 10^{-1} e 10^{-2} das amostras de solução de suabe, em duplicata, foram transferidos 1mL para placas de Petri esterilizadas e a seguir, de maneira asséptica, foram vertidos 15-20 mL de Ágar Padrão para Contagem (PCA), fundido e resfriado. Após a homogenização e solidificação, as placas foram incubadas a 35°C por 48 horas. Após a incubação foram contadas as placas contendo entre 25 a 250 colônias e o número encontrado multiplicado pelo fator de diluição, fornecendo o número de microrganismos mesófilos por mL da solução de suabe.

4. 4. Colheita das amostras de leite

Cinco amostras de leite cru armazenado em latões foram colhidas em cada uma das propriedades rurais, utilizando-se frascos estéreis com capacidade para 250 mL. Elas foram levadas ao laboratório em caixas de material isotérmico contendo cubos de gelo, sendo processadas logo após sua colheita.

As análises de leite foram realizadas no Laboratório do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Câmpus de Jaboticabal - UNESP.

Essas amostras foram submetidas à análise microbiológica seguindo-se metodologia preconizada pelo Manual do Laboratório Nacional de Referência Animal – LANARA (BRASIL 1981).

O preparo das diluições decimais das amostras de leite foi realizado adicionando-se 1 mL de leite em 9 mL do diluente (água peptonada a 0,1% estéril), obtendo-se a diluição 10^{-1} . A partir desta diluição, foram preparadas da mesma maneira, as diluições subsequentes até 10^{-6} .

A partir das diluições 10^0 , 10^{-1} e 10^{-2} , foram inoculados com 1 mL, respectivamente, 3 baterias de 3 tubos de caldo lauril sulfato triptose com tubo de Durham invertido. Após a inoculação, estes tubos foram incubados a 35°C por 24 a 48 horas e considerados positivos aqueles que revelaram a presença de desenvolvimento bacteriano, ou seja, turvação do meio e produção de gás.

A determinação do NMP de coliformes totais e coliformes termotolerantes seguiu-se a mesma metodologia descrita para as amostras de água, utilizando Tabela de NMP de três séries de três tubos.

Para quantificação dos microrganismos mesófilos utilizou-se a contagem padrão em placas com incubação a 35 ± 1 °C/48 h pelo método de "POUR PLATE", em Ágar Padrão para Contagem (PCA), com duas repetições nas diluições 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} . Após o período de incubação contaram-se as placas que apresentaram crescimento no intervalo de no mínimo 25 e máximo 250 colônias por placa.

4. 5. Análise Estatística

A avaliação dos resultados das análises microbiológicas foi feita pelo teste de Tukey, para probabilidade de 0,05, pelo programa MINITAB®, com o intuito de realizar a análise comparativa entre as médias obtidas das 3 propriedades rurais do município, a fim de verificar o grau de manejo e higiene adotados pelos proprietários dos distintos municípios.

5. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Considerando que, a qualidade do leite também é influenciada, dentre outros fatores, pela sanidade e manejo animal e também pela qualidade da água utilizada na atividade leiteira, foi realizado um levantamento de forma a caracterizar o tipo de propriedade em que foi desenvolvido o trabalho e com isto possibilitar o entendimento dos resultados microbiológicos obtidos.

Quanto às medidas sanitárias e de manejo, utilizadas para a realização do levantamento nas propriedades rurais estudadas, através da Tabela 1 percebe-se que, não eram realizadas de forma adequada, tornando as condições higiênicas extremamente deficitárias.

Tabela 1: Levantamento sanitário e de manejo das propriedades rurais.

<i>Práticas</i>	<i>Produtores</i>		
	A	B	C
• Prevenção e controle da mastite			
Utilização de caneca de fundo preto	Não	Não	Não
Teste CMT	Sim	Não	Não
Realização de pré e pós-dipping	Não	Não	Não
• Controle de ectoparasitos			
Carrapatos	Sim	Sim	Sim
Mosca-do-chifre	Não	Não	Não
Bernes	Sim	Sim	Sim
• Controle de endoparasitos			
Exame de fezes	Sim	Não	Não
Vermifugação	Sim	Sim	Sim
• Testes para controle de enfermidades:			
Leptospirose	Não	Não	Não
Brucelose	Sim	Não	Não
Tuberculose	Não	Não	Não
Mamite	Sim	Sim	Sim

Tabela 1: Continuação....

<i>Práticas</i>	<i>Produtores</i>		
	A	B	C
• Aplicação de vacinas			
Aftosa	Sim	Sim	Sim
Carbúnculo	Não	Não	Não
Brucelose	Sim	Não	Não
Raiva	Não	Não	Não
• Produtos utilizados na higienização dos tetos			
Apenas água	Sim	Não	Não
Água e iodo	Não	Não	Não
Água clorada	Não	Não	Não
• Número de ordenhas diárias			
Uma	Sim	Sim	Sim
Duas	Não	Não	Não
• Tipo de ordenha:			
Manual	Sim	Sim	Sim
Mecânica	Não	Não	Não
• Local da ordenha			
Curral	Sim	Sim	Sim
Estábulo	Não	Não	Não
Sala de ordenha	Não	Não	Não
• Frequência de limpeza do local de ordenha:			
Diariamente	Sim	Não	Não
Esporadicamente	Não	Sim	Sim
Não faz			
• Tipo de limpeza do local da ordenha			
Apenas raspa as fezes	Sim	Sim	Sim
Raspa e joga água	Não	Não	Não
Lava com água e desinfetante	Não	Não	Não
• Realiza Controle leiteiro:			
Sim	Sim	Não	Não
Não			
• Cuidados com os bezerros recém-nascidos			
Administração de colostro	Sim	Não	Não
Cura de umbigo	Sim	Sim	Sim
Utilização de bezerreiros.	Sim	Sim	Sim
• Produtos utilizados na cura de umbigo			
Apenas iodo	Sim	Sim	Sim
Iodo e repelente	Não	Não	Não
• Ocorrência de diarreias			
Freqüentemente	Não	Sim	Sim
Raramente	Não	Não	Não
Ausente	Sim	Não	Não

Dentre elas, destaca-se que o controle de mamite era deficiente, refletindo a ignorância (ou descaso) dos produtores com relação aos prejuízos advindos desta doença tanto para a saúde humana pela ingestão de leite contaminado por bactérias potencialmente patogênicas ou com resíduos de antibióticos, quanto para a rentabilidade da atividade, devido ao alto custo do tratamento, descarte do leite contaminado, baixo valor comercial das vacas que perderam quartos mamários, etc.

No que diz respeito à vacinação contra febre aftosa, esta era feita por todos, por ser prática considerada obrigatória para a comercialização do leite e seus derivados. Quanto à vacinação contra brucelose, ela era realizada apenas por um deles, evidenciando que os outros não estavam conscientizados dos problemas advindos desta doença, principalmente no aspecto de saúde pública, uma vez que se trata de uma zoonose, ou seja, pode ser transmitida ao homem. A prática de vacinação contra carbúnculo e raiva não era utilizada pelos produtores por serem doenças de ocorrência rara na região. Apesar de não haver uma constância em termos de vacinações nas três propriedades, vale lembrar que em qualquer atividade pecuária nunca se deve descartar um esquema de vacinação bem orientado, pois tanto a saúde animal quanto a humana, depende de métodos de profilaxia eficientes. Como do ponto de vista de saúde pública, o leite ocupa lugar de destaque e a venda de leite e produtos derivados direto do produtor ao consumidor, expõe a população ao risco de doenças como a tuberculose e brucelose, bem como as enterites.

Todos os produtores controlaram os ectoparasitos de maior incidência na região estudada e, apesar de não realizarem exame de fezes (importante para determinar o tipo de endoparasito), fazem a vermifugação sistemática do rebanho.

O controle leiteiro, ou seja, o registro da produção de leite era utilizado por apenas um dos três produtores e realizado quinzenalmente, por a considerá-lo importante para definir, principalmente quais vacas irão para o descarte, enquanto que os outros consideraram que tal prática demanda tempo e/ou pessoal qualificado e não produz retorno imediato.

Apesar de comprovado o aumento da ordem de 20 a 30% na produção de leite com a introdução da segunda ordenha, esta não era realizada em nenhuma das propriedades. As justificativas para este procedimento foi a preferência em deixar o leite para o bezerro, já que a baixa produção à tarde que não justificava o trabalho despendido.

Quanto às outras medidas de manejo apresentadas, percebe-se que os produtores caracterizavam-se por adotarem em maior ou menor grau várias delas, mas que, provavelmente não eram suficientes e, conseqüentemente, eficientes para assegurar a sanidade do rebanho. Tal quadro deveu-se, possivelmente, pelo descaso por parte dos produtores em relação às recomendações técnicas.

Além disso, verificou-se a ausência de alguns procedimentos como a lavagem e secagem adequada dos tetos antes e após da ordenha (pré e pós-dipping). Tais procedimentos são adotados na maioria dos rebanhos de países de pecuária leiteira desenvolvida, o que contribui para controle de infecções e qualidade do rebanho e do produto final (BRITO et al., 2004). Inclusive, o pré-dipping é obrigatório pela Instrução Normativa nº 51.

Com relação à água, a Tabela 2 mostra o desconhecimento dos proprietários sobre o assunto. Por exemplo, a água utilizada para higienização dos utensílios de ordenha, a mesma do consumo humano, era oriunda de poços artesianos profundos, com simples proteção, tais como tampa e calçada ao redor. A ausência de fatores de proteção expõe as fontes à contaminação, principalmente por águas de escoamento superficial que podem adentrar diretamente à fonte ou pelo processo de infiltração no solo. Segundo Kravitz et al. (1999) citado por Amaral (2001) a proteção das fontes de abastecimento pode preservar a qualidade da água no meio rural onde a desinfecção não é realizada.

Pode-se verificar, ainda, que, nenhuma propriedade realizava a limpeza e desinfecção periódica dos reservatórios (Tabela 2). Este comportamento é preocupante, principalmente pela ausência de tratamento das águas consumidas nas propriedades.

Tabela 2: Características das propriedades analisadas relacionadas com a água

<i>Práticas</i>	<i>Produtores</i>		
	A	B	C
Fonte de água para consumo humano	Poço Profundo	Poço Profundo	Poço Profundo
Forma de retirada da água da fonte	Bomba	Bomba	Bomba
Fonte de água para consumo animal	Poço Profundo	Poço Profundo	Rio e Poço Profundo
Proteção da Fonte de Água	Desvio de água de chuva, Calçada ao redor e Tampa	Calçada ao redor e Tampa	Calçada ao redor e Tampa
O que acha da qualidade da água da sua propriedade	Ótima	Boa	Boa
A água pode transmitir alguma doença para os homens?	Não	Não	Não
Tipo de doença	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
A água pode transmitir alguma doença para os animais?	Não	Não	Não
Tipo de doença	Não	Não	Não
Tipo de higienização realizada pelo ordenhador antes da ordenha	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
Tipo de higienização realizada pelo ordenhador entre as ordenhas	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
Você acha que a qualidade da água pode influenciar a qualidade do leite?	Não	Não	Não
Faz tratamento da água?	Não	Não	Não
Usa filtro domiciliar	Sim	Sim	Sim
Faz algum tratamento para água de consumo humano?	Não	Não	Não
Quantas vezes ao ano faz lavagem e desinfecção do reservatório de água?	Nenhuma	Nenhuma	Nenhuma
Fez análise da qualidade da água nos últimos dois anos?	Não	Não	Não

Os fatos relatados acima refletem bem o aspecto concretista do ser humano no meio rural, o que dificulta seu entendimento de algo que não possa passar pelos sentidos físicos, como a presença de bactérias na água, por exemplo, principalmente naquelas com características estéticas, como as subterrâneas, por serem límpidas e

de bom aspecto. Isso com certeza funciona também como barreira negativa para que possam vincular a água das fontes existentes nas propriedades com a má qualidade microbiológica e com o risco de transmissão de alguma doença, fato esse bastante evidenciado nas respostas dadas pelos moradores sobre a qualidade da água nas propriedades estudadas.

DAKER (1970) ressalta que a água utilizada na dessedentação animal deve ter as mesmas condições de potabilidade da água destinada ao consumo humano e deve se dar a mesma importância à qualidade da água fornecida aos animais, a que se dá para instalações, alimentação e manejo, para que se tenha uma produção animal de qualidade.

A TABELA 3 mostra a porcentagem de amostras de água utilizada no manejo de ordenha das três propriedades rurais do município de Guariba-SP analisadas que não atenderam aos padrões de potabilidade para uso humano, de acordo com a Portaria 518 de 25/03/2004 do Ministério da Saúde, que aceita como padrão microbiológico ausência de coliformes totais e termotolerantes e valores menores que 500UFC/mL para microrganismos mesófilos. Vale ressaltar que essa água era a mesma usada para o consumo humano.

Tabela 3: Números e porcentagens de amostras de água que estão em desacordo com os padrões de potabilidade para uso humano (Portaria 518 de 25/03/2004 do Ministério da Saúde), em três propriedades analisadas do município de Guariba –SP.

Água	Coliformes Totais		Coliformes Fecais		Mesófilos	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Uso Humano	5/5	100,0	5/5	100,0	5/5	100,0

Tais achados, além de corroborarem com a afirmação de Schukken et al. (1991), sugerem também que a água oriunda de lençóis subterrâneos empregada no processo de obtenção do leite pode representar risco potencial tanto para a qualidade microbiológica do leite como para a saúde da vaca. Assim sendo, o risco à saúde do consumidor do leite é eminente.

Diversos autores também verificaram altas porcentagens de amostras de água utilizada na lavagem de equipamentos de ordenha fora dos padrões de potabilidade. Amaral et al. (1995) verificaram que 90% das amostras de água usada na produção de leite em 10 propriedades rurais, situadas na região Nordeste do Estado de São Paulo, estavam em desacordo com a legislação. Sworobuck et al. (1987) em estudo realizado nos Estados Unidos, verificaram que 66,5% das fontes de água subterrânea estavam fora dos padrões de potabilidade, enquanto que Romano (2002) encontrou 90,0% das amostras de água utilizadas como fonte de abastecimento em estábulos leiteiros nos mesmos padrões.

Observa-se, portanto, que a contaminação de águas subterrâneas parece ser um fato comum, e muito importante, pois pode ser um grande fator de contaminação microbiológica do leite, bem como veiculador de enfermidades para os indivíduos expostos. A esse respeito, Robinson (1987) afirma que a água utilizada no úbere, quando intensamente contaminada por coliformes, pode ser responsabilizada por surtos de mastites, causada por esses microrganismos e conseqüentemente levando a um aumento da contaminação do leite.

Amaral (2001) citando Daker (1970) e Dyskta (1970) ressaltam que a água utilizada na dessedentação animal deve ter as mesmas condições de potabilidade da água destinada ao consumo humano, fato esse ratificado por Romano (2002) que afirma a necessidade de se dar a mesma importância à qualidade da água fornecida aos animais, a que se dá para instalações, alimentação e manejo, para que se tenha uma produção animal de qualidade.

Vale aqui a ressalva de que a ausência de juízo de valor dos residentes nas propriedades estudadas sobre o risco que representa para a saúde humana, o

consumo de uma água sem tratamento e sem o conhecimento de sua qualidade funciona com certeza como barreira negativa sobre a importância de se fornecer aos animais uma água com boa qualidade. Acredita-se que agregando esse valor às pessoas haverá com certeza a extrapolação da preocupação em se fornecer uma água de boa qualidade tanto para os homens quanto para aos animais.

Na TABELA 4 estão expressos os valores das médias aritméticas dos números mais prováveis de coliformes totais das amostras da solução de transporte de suabe dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador antes e depois da higiene adotada a 5% de significância. Verifica-se que não houve diferença significativa entre o antes e o depois da higienização do balde coletor de leite cru em nenhuma das propriedades. Porém as médias obtidas entre as duas etapas foram reduzidas expressivamente, como demonstradas nas FIGURAS 1, 2 e 3. Para a higienização do latão e da mão do ordenhador, a diferença foi significativa apenas nas propriedades C e A, respectivamente. Quando se compara o manejo entre as propriedades rurais verifica-se que não houve diferenças significativas (colunas), fato que pode ser justificado pelo alto coeficiente de variação.

Tabela 4: Média aritmética dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Prop.	Balde		Latão		Mão do ordenhador	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
A	368,40 Aa	47,20 Aa	341,20 Aa	73,60 Aa	91,80 Ba	36,20 Aa
B	308,00 Aa	55,80 Aa	3206,00 Aa	273,00 Aa	50,00 Aa	30,00 Aa
C	682,40 Aa	112,40 Aa	6716,00 Ba	558,00 Aa	72,60 Aa	30,00 Aa

Prop.= Propriedade rural

A – B: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas (linhas) diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p > 0,05$);

a: Médias seguidas de letras minúsculas iguais (colunas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

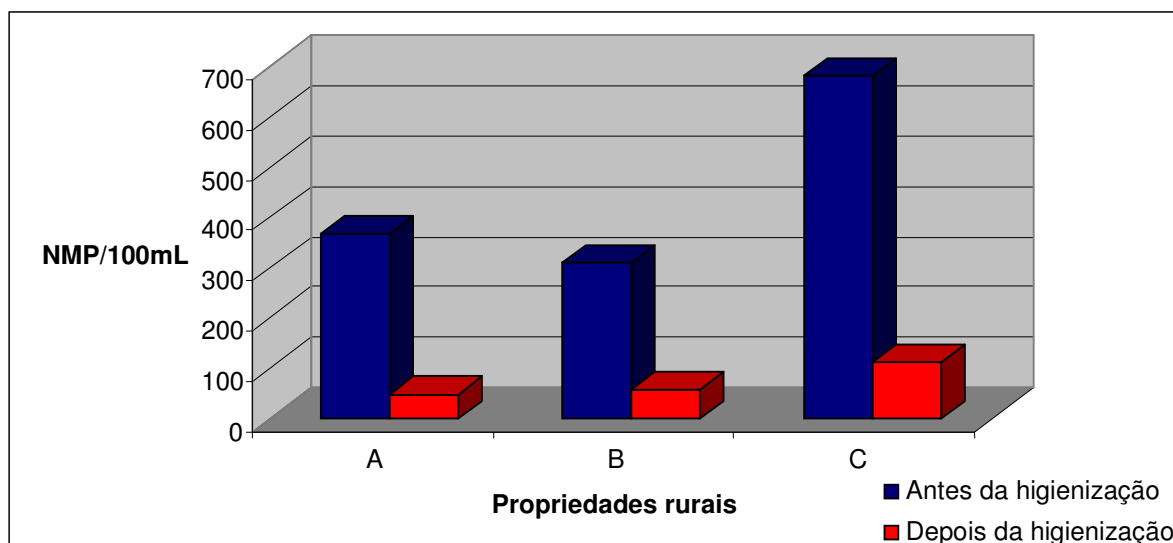


Figura 1: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do balde coletor de leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Fonte: Tabela 4.

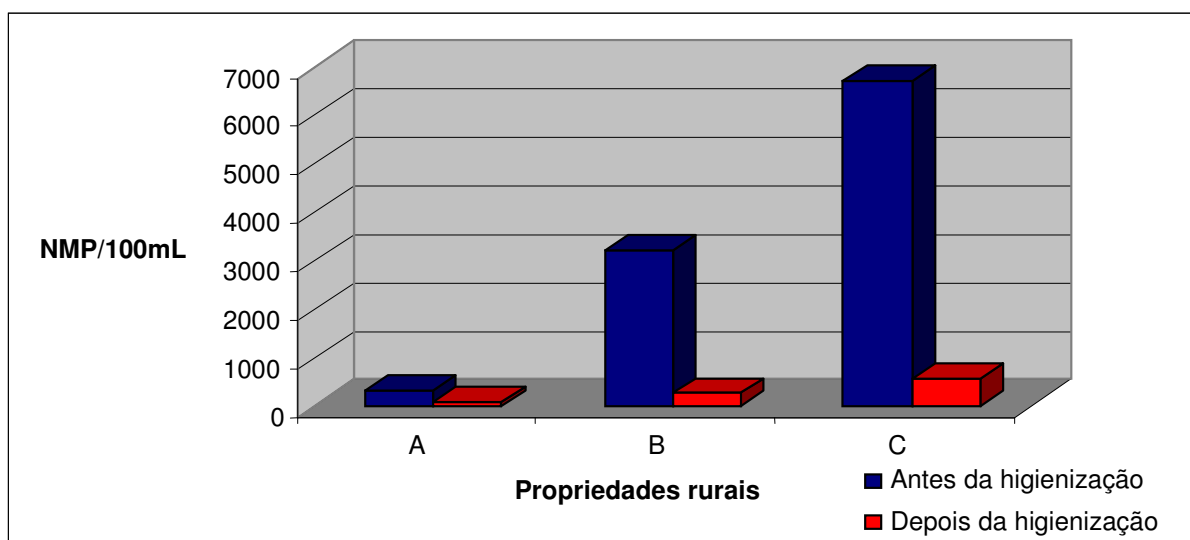


Figura 2: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do latão de acondicionamento do leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Fonte: Tabela 4.

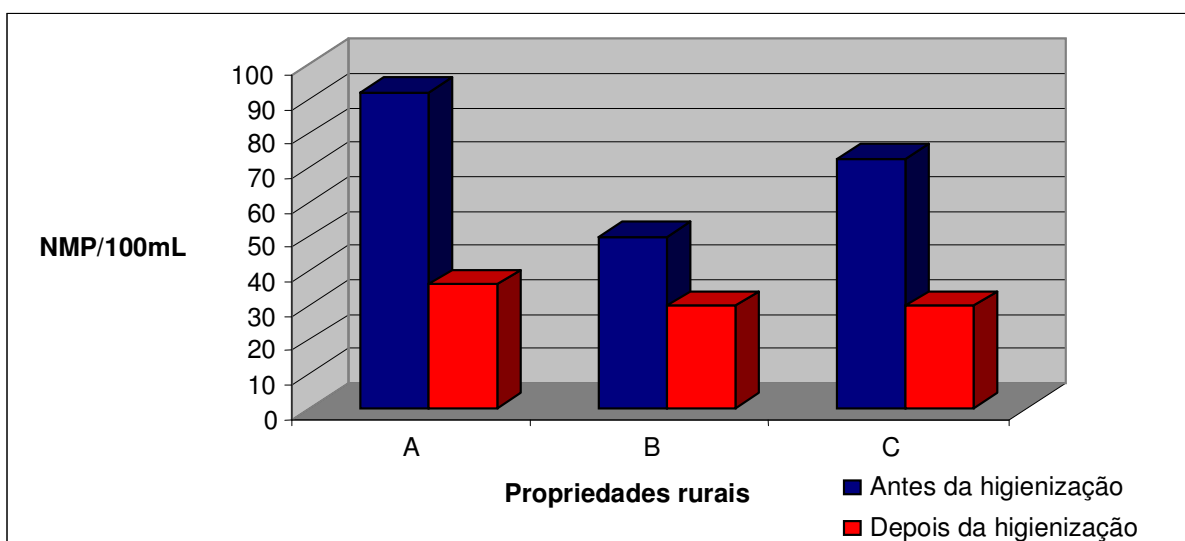


Figura 3: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe da mão do ordenhador antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Fonte: Tabela 4.

Os valores das médias aritméticas dos números mais prováveis de coliformes termotolerantes das amostras da solução de transporte de suabe dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador antes e depois da higiene encontram-se na TABELA 5. Pode-se verificar que as médias não diferiram entre si. Entretanto, como observado para o NMP de coliformes totais, as médias diminuíram expressivamente (FIGURAS 4, 5 e 6), evidenciando a melhora na qualidade microbiológica dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador após a higienização. Na propriedade B houve redução de 87% e 60% na contaminação do latão de acondicionamento e balde coletor do leite cru, respectivamente, após a higienização. Ao se comparar as propriedades rurais avaliadas (colunas), observa-se que não houve diferença significativa ao nível de significância de 0,05, isto mostra que o manejo empregado nas referidas propriedades era semelhante.

Tabela 5: Média aritmética dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Prop.	Balde		Latão		Mão do ordenhador	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
A	42,20 Aa	31,20 Aa	110,00 Aa	30,00 Aa	42,20 Aa	30,00 Aa
B	129,80 Aa	52,00 Aa	244,80 Aa	33,60 Aa	49,00 Aa	30,00 Aa
C	38,80 Aa	30,00 Aa	53,20 Aa	31,20 Aa	30,00 Aa	30,00 Aa

Prop.= Propriedade rural

A: Médias seguidas de letras maiúsculas iguais (linhas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$);

a: Médias seguidas de letras minúsculas iguais (colunas) não diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

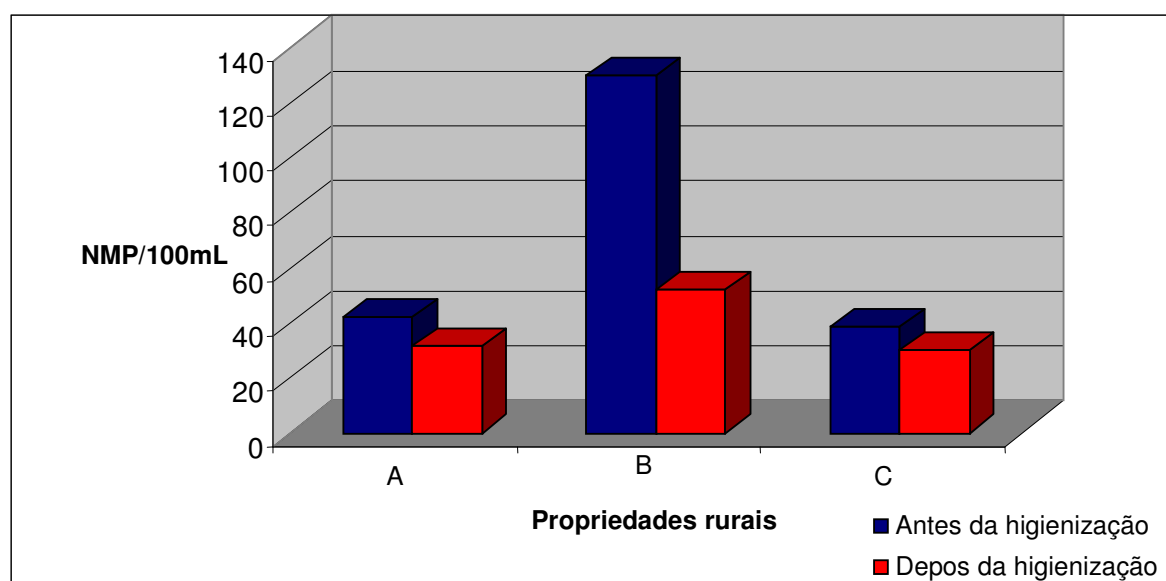


Figura 4: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do balde coletor de leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Fonte: Tabela 5.

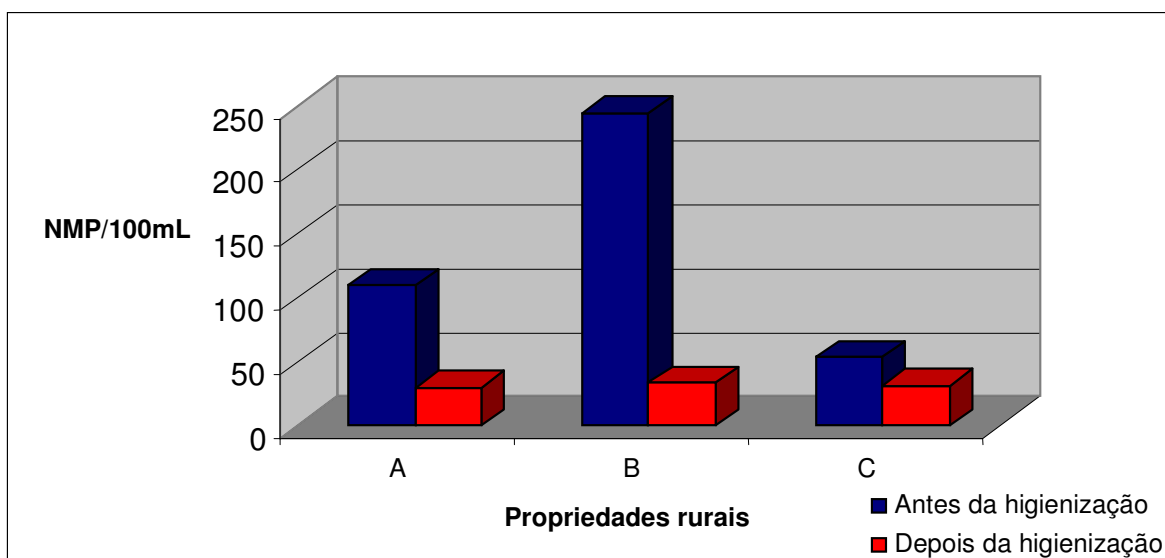


Figura 5: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe do latão de acondicionamento do leite cru antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Fonte: Tabela 5.

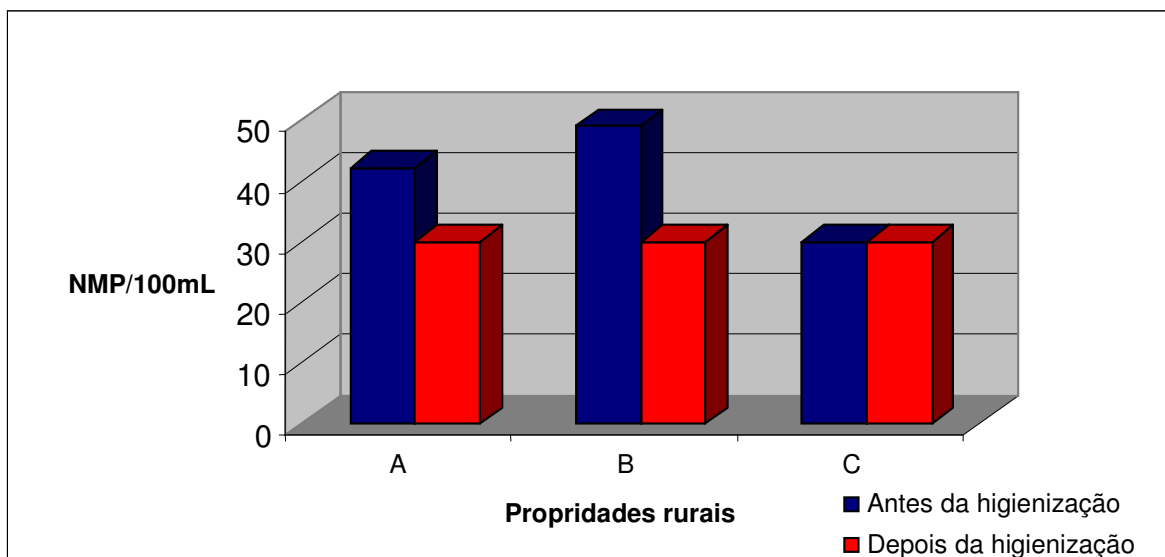


Figura 6: Valores médios dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes termotolerantes por 100mL de amostra da solução de transporte de suabe da mão do orenhador antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Fonte: Tabela 5.

A TABELA 6 mostra os valores das médias aritméticas das contagens de microrganismos mesófilos nas amostras da solução de transporte do suabe dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador nas duas etapas de colheita. Na coluna, observa-se que as médias diferiram entre si antes da higienização em todas as propriedades rurais estudadas. Para as médias das mãos dos ordenhadores não houve diferença entre as propriedades A e B. Ao se comparar as propriedades antes e após a higienização (linha), verifica-se que houve diferença significativa em todas as propriedades. Neste caso, há diferença no manejo porque, na propriedade C a contaminação é maior.

O fato das contagens bacterianas terem sido relativamente altas pode ser atribuído ao estado sanitário do rebanho, bem como a ausência de medidas higiênicas simples, tanto dos utensílios de ordenha quanto das mãos do ordenhador.

Tabela 6: Média aritmética da contagem de microrganismos mesófilos (UFC/100 mL de amostra da solução de transporte de suabe) dos utensílios de ordenha antes e depois da higienização em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Prop.	Balde		Latão		Mão	
	Antes	Depois	Antes	Depois	Antes	Depois
A	1,19x10 ⁶ Ac	2,48x10 ⁵ Ba	2,80x10 ⁶ Ac	3,41x10 ⁵ Bb	4,23x10 ⁵ Ab	4,19x10 ³ Bb
B	3,27x10 ⁷ Aa	4,88x10 ⁵ Ba	3,77x10 ⁷ Ab	6,26x10 ⁶ Ba	2,60x10 ⁵ Ab	3,91x10 ⁴ Ba
C	1,61x10 ⁷ Ab	4,16x10 ⁵ Ba	6,45x10 ⁷ Aa	3,91x10 ⁶ Ba	2,43x10 ⁶ Aa	6,24x10 ⁴ Ba

Prop.= Propriedade rural

A – B: Médias seguidas de letras maiúsculas distintas (linhas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p > 0,05);

a – c: Médias seguidas de letras minúsculas distintas (colunas) diferem significativamente pelo teste de Tukey (p > 0,05);

A análise dos resultados apresentados nas TABELAS 4, 5 e 6 evidencia que à medida que é implantado um protocolo de higienização de ordenha, há uma diminuição do número de microrganismos por mL de amostra da solução de transporte

de suabe nos utensílios de ordenha bem como nas mãos do ordenhador, melhorando conseqüentemente a qualidade do leite, o que está de acordo com Schocken-Iturrino et al. (1982) que obtiveram redução de até 50% na contagem de microrganismos quando as medidas de higienização eram realizadas de forma sistemática.

Brito et al. (2004) analisaram o efeito da sanitização dos utensílios de ordenha que entram em contato com o leite (baldes, latões, equipamentos de ordenha e tanques de resfriamento) e verificaram a redução da contagem de microrganismo de $1,9 \times 10^5$ UFC/mL para $3,6 \times 10^3$ UFC/mL de amostra quando tais utensílios eram sanitizados, se assemelhando ao encontrado neste estudo onde houve redução de 90% da contaminação do balde coletor por microrganismos mesófilos/mL de amostra de solução de transporte de suabe. Santos & Laranja da Fonseca (2001) encontraram índices de contaminação de $2,2 \times 10^6$ UFC/mL quando avaliaram amostras de máquinas de ordenha, sem citar as condições de higiene empregadas na higienização dos equipamentos.

A avaliação da contaminação das mãos dos ordenhadores mostrou diferença significativa entre o antes e depois da higienização para contagem de microrganismos mesófilos, apesar de não ocorrer o mesmo para o NMP de coliformes totais e termotolerantes, exceto na propriedade A para coliformes totais, conforme observado nas TABELAS 4, 5 e 6. Confirmando os resultados encontrados no presente trabalho, Fagundes et al. (2006) verificaram redução de $6,26 \times 10^3$ UFC/mL para $4,36 \times 10^3$ UFC/mL de amostra quando as mãos dos ordenhadores eram higienizadas corretamente, em estudo realizado em propriedades leiteiras com distintos manejos de ordenha em Pelotas-RS, evidenciando a necessidade de práticas higiênicas corretas, independente do leite produzido. Portanto, o ordenhador é um fator relacionado à manutenção da higiene e controle da microbiota dos utensílios e equipamentos de ordenha, devendo estar atento não somente aos procedimentos adequados de limpeza como também à higienização pessoal e dos animais em produção (PECININ, 2003).

No que concerne à qualidade microbiológica do leite cru, a TABELA 7, expressa a situação das referidas propriedades. Para o NMP de coliformes totais e termotolerantes as médias não foram significativas ($p > 0,05$), como demonstradas para amostras de suabe de utensílios de ordenha em decorrência do elevado coeficiente de variação, apesar do valor numérico ter grande variação. Para as médias das contagens de microrganismos mesófilos, análise obrigatória de acordo com a Instrução Normativa nº51, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2002), houve diferença significativa entre as propriedades. Todas as amostras apresentam-se em desacordo com os padrões microbiológicos exigidos pela Normativa para propriedades produtoras do leite cru refrigerado (máximo de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de leite). Os valores médios para coliformes totais e termotolerantes nas propriedades A, B e C ficaram entre 1,85 e 22,81, e 0,30 e 0,54 NMP/mL de amostra, respectivamente. Para as médias de microrganismos mesófilos as médias ficaram entre $1,65$ e $4,76 \times 10^6$ UFC/ml de leite.

Tabela 7: Média aritmética dos Números Mais Prováveis (NMP) de coliformes totais, coliformes termotolerantes e contagem de microrganismos mesófilos (UFC) por mL de amostra de leite cru em três propriedades rurais do município de Guariba-SP.

Propriedade	NMP/ml	NMP/ml	UFC/ml
A	5,78 a	0,43 a	$1,65 \times 10^6$ b
B	22,81 a	0,54 a	$3,02 \times 10^6$ a
C	1,85 a	0,30 a	$4,76 \times 10^6$ a

a-b: Médias seguidas de letras distintas diferem significativamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Os resultados referentes à qualidade do leite inseridos nas tabelas acima são condizentes aos valores das amostras de solução de suabe e as características relacionadas ao manejo e à sanidade do rebanho das propriedades rurais estudadas. O leite da propriedade A foi o que apresentou melhor qualidade quando se observa a contagem de microrganismos mesófilos ($1,65 \times 10^6$ UFC/mL de leite). Isto pode ser

justificado não somente pela melhor assiduidade ao protocolo de higienização, como mostra os dados da TABELA 6 (redução de $1,19 \times 10^6$, $2,80 \times 10^6$ e $4,23 \times 10^5$ para $2,48 \times 10^5$, $2,48 \times 10^5$ e $4,19 \times 10^3$ UFC/mL de amostra de solução de suabe do balde coletor, latão e mão do ordenhador, respectivamente) quanto ao melhor manejo zootécnico e sanitário e controle da qualidade da água. Para o NMP de coliformes totais/mL de leite, a propriedade C apresenta melhor qualidade microbiológica do leite cru, fato que pode ser explicado tanto pela competitividade com os microrganismos mesófilos, os quais inibem o crescimento das bactérias coliformes, como por apresentar redução significativa da contaminação microbiológica do latão de acondicionamento do leite cru após higienização (TABELA 4).

Diversos autores encontraram altas contagens de microrganismos mesófilos em amostras de leite cru. Santos et al. (2003) em trabalho realizado em Belo Horizonte/MG, verificaram contagens superiores a $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de leite, fato ratificado por Schmitt et al (2003), que verificou no Rio Grande do Sul que 40% das amostras analisada apresentavam contagens de microrganismos mesófilos acima de $5,0 \times 10^5$ UFC/mL.

Tkacz et al. (2005), em estudo em Santa Catarina com produtores rurais verificou que os produtores com pequeno volume de produção de leite tiveram valores médios altos para contagem de mesófilos ($1,4 \times 10^7$ UFC/mL), coliformes totais ($2,0 \times 10^3$ NMP/ML) e termotolerantes ($6,9 \times 10^2$ NMP/mL), indicando menor higiene na obtenção do produto. Ao comparar tais resultados com os do presente estudo, percebe-se que os valores aqui encontrados foram menores, indicando que as propriedades, embora não apresentassem qualidade higiênica de ordenha adequada, tinham um manejo mais eficiente.

Bradini et al. (1996) analisaram 60 amostras de leite cru comercializado clandestinamente no município de Botucatu e de São Manuel-SP. As médias das contagens de microrganismos mesófilos foram de $9,8 \times 10^7$ UFC/mL, NMP de coliformes totais acima de 5/mL e 18,3% das amostras contaminadas por bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes termotolerantes. No trabalho de Queiroz (1995),

o valor médio encontrado para microrganismos mesófilos foi de $9,6 \times 10^7$ UFC/mL, 81,7% das amostras com NMP de coliformes totais superior a 5/mL e 65,0% contaminadas por coliformes termotolerantes.

Ao determinar a contaminação de 125 amostras de leite cru em 10 municípios de Santa Catarina, Santos & Bergmann (2003 a e b) obtiveram médias para o NMP de coliformes totais de $1,1 \times 10^5$ /mL e valores de microrganismos mesófilos acima de $1,0 \times 10^7$ UFC/mL. Tais valores suplantaram os obtidos neste experimento, indicando que a segurança de um produto é sua característica mais importante e este não pode oferecer qualquer risco ao consumidor.

Considerando que o equipamento de ordenha é uma fonte importante de contaminação do leite e os procedimentos de limpeza e higienização, podem influenciar diretamente no índice de contaminação microbiana do leite, Santos & Laranja da Fonseca, (2001) relataram que, os microrganismos podem aderir nas superfícies dos equipamentos e utensílios de ordenha e resistir à lavagem e higienização, indicando que o nível tecnológico utilizado na ordenha não implica, necessariamente, em um leite com melhor qualidade microbiológica e sim em mais um item a ser considerado como possível agente de contaminação bacteriana.

Guerreiro et al. (2005) em estudo comparando a qualidade microbiológica do leite em função de técnicas profiláticas no manejo de ordenha, destacaram o resultado de contaminação relativamente alto de $3,50 \times 10^6$ UFC/mL de leite nas propriedades com ordenha mecânica, enquanto na propriedade com uso de ordenha manual apresentou índice de contaminação bem inferior, ao redor de $3,0 \times 10^5$. Tellez (2002) citado por Reis et al. (2005), ao comparar vacas ordenhadas manual e mecanicamente, também observou contagens mais baixas no leite obtido manualmente, $5,2 \times 10^3$ UFC/mL para $7,3 \times 10^3$ UFC/mL no leite oriundo de ordenha mecânica. Apesar da ordenha nas propriedades rurais estudadas neste trabalho ser manual os valores obtidos para contagem de microrganismos mesófilos foram maiores, evidenciando o descuido dos produtores com o manejo de ordenha e sua higienização.

Taverna (2004) citando Galton et al. (1984), verificou que a higienização dos tetos na ordenha tem influência na contaminação final do leite. Altas contagens de mesófilos ($1,7 \times 10^4$ UFC/mL) e coliformes totais ($3,5 \times 10^4$ NMP/mL) no leite foram encontradas quando não havia lavagem, valores estes reduzidos para $2,2 \times 10^2$ UFC/mL e $2,9 \times 10^2$ NMP/mL quando os tetos eram lavados, higienizados e secos antes da ordenha.

Brito et al. (2004) em estudo em várias propriedades leiteiras da Região Sudeste indicaram que os procedimentos de higienização das salas de ordenha, utensílios e equipamentos são realizados de forma inadequada ou ignorados em várias propriedades. Essas falhas podem explicar, em parte, as altas contagens de bactérias encontradas em muitos rebanhos e a reduzida vida de prateleira do leite e derivados lácteos, além de influenciar a saúde da vaca em lactação.

Partindo do pressuposto de que a higienização dos utensílios de ordenha devem seguir rigorosamente um protocolo, os resultados obtidos neste trabalho não foram os esperados (comparação entre o antes e depois da higienização), principalmente para os valores de coliformes, devido à falta de assiduidade dos produtores ao protocolo, bem como ao manejo sanitário, zootécnico e qualidade da água, conforme demonstram os resultados das TABELAS 1 e 2.

Outro fator a se considerar é que a alta contaminação por microrganismos mesófilos, indicador também de má higienização, inibe o desenvolvimento das bactérias coliformes. Tal fato foi constatado, uma vez que, a contagem de mesófilos antes dos procedimentos de higienização preconizados era acima dos valores considerados normais e, após a higienização houve redução considerável desta contagem, demonstrando que a higienização é eficaz na redução da contagem de mesófilos.

Ressalta-se que, o controle higiênico-sanitário dos rebanhos e da ordenha, incluindo, principalmente, a água potável a ser utilizada nos procedimentos de higienização é fundamental para garantir a composição ideal do leite e reduzir o risco de transmissão de agentes de doenças à população consumidora.

6. CONCLUSÕES

Tendo em vista os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que:

1. As três propriedades rurais estudadas apresentaram deficiência no manejo sanitário e zootécnico, bem como no controle da qualidade da água sendo estes fatores determinantes na contaminação do leite cru. Entretanto, ao se comparar os resultados entre as propriedades, constata-se que a denominada Propriedade A foi a que apresentou melhores condições de manejo zootécnico e sanitário, conseqüentemente melhor qualidade microbiológica do leite.

2. Todas as propriedades apresentaram 100% das amostras de leite cru com altos valores para microrganismos mesófilos, acima de $1,0 \times 10^{-6}$ UFC/mL preconizado para o leite cru refrigerado descrito na Instrução Normativa 51. Isto sugere que o controle higiênico-sanitário da ordenha é fundamental para garantir a composição ideal do leite, visto que tais microrganismos são os principais causadores de deterioração do produto final.

3. Apesar da obrigatoriedade em seguir um protocolo para a higienização dos utensílios de ordenha e mão do ordenhador, os resultados obtidos neste trabalho ao se comparar o antes e depois da realização deste, não foram os esperados para os valores de coliformes, devido à falta de assiduidade dos produtores a ele, bem como ao manejo sanitário, zootécnico e qualidade da água. Porém para a contaminação por microrganismos mesófilos houve uma redução significativa. Tal fato indica a

necessidade de controle higiênico-sanitário do rebanho e da ordenha, pois ambos interferem na qualidade microbiológica do leite.

4. Os altos valores de contaminação microbiana do leite cru sugerem que, para a obtenção de leite com baixo teor de contaminantes é necessário a adoção de medidas higiênico-sanitárias em toda linha de produção, especialmente naquelas que ocorrem dentro da propriedade, indo desde os primeiros cuidados com o rebanho até o término da ordenha porque são importantes pontos de contaminação microbiana do produto.

5. As propriedades estudadas não adotam as principais práticas de manejo higiênico-sanitário e controle da qualidade da água consideradas imprescindíveis para a produção de leite, podendo colocar em risco tanto sua qualidade para o processamento quanto a saúde do consumidor. Tal quadro parece refletir a situação da grande maioria das propriedades rurais familiares do País, indicando a necessidade de um trabalho de Extensão Rural que tenha como objetivo a conscientização da importância da adoção de medidas que possibilitem a melhoria da qualidade do produto final, bem como o acompanhamento e adequação do seu sistema produtivo, com reflexos em sua lucratividade.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGNESE, A. P. Avaliação físico-química do leite cru comercializado no município de Soropédica-RJ. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 91, p. 58-61, 2002.

AGUERO, E. H.; PEDRAZA, G. C.; GODOY, O. S. Calidad higienica del agua y su relacion con el contenido microbiano de la leche. **Agricultura Técnica**, v. 47, n. 2, p. 136-141, 1987.

ALMEIDA, E. F. L. de. Aspectos sociais de produção de leite no Brasil. In: MADALENA, F. E.; MATOS, L. L.; HOLANDA Jr., E. V. (Ed.). **Produção de leite e Sociedade**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001. cap. 9, p. 117-124.

AMARAL, L.A. A água como fator de risco para saúde humana e saúde animal em propriedades leiteiras situadas na região nordeste do Estado de São Paulo. Jaboticabal, 2001. Tese (Livre-Docência)- Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 133f.

AMARAL, L. A. et al. Características microbiológicas da água utilizada no processo de obtenção do leite. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 2/3, p. 85-88, 1995.

AMARAL, L. A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; NADER FILHO, A. Qualidade higênico-sanitária da água utilizada na indústria de alimentos de origem animal. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 76, p. 73-76, 2000.

AMARAL, L. A. et al. Avaliação da eficiência da desinfecção de teteiras e dos tetos no processo de ordenha mecânica de vacas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 4, p.173-177, 2004.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for the examination of, water and wastewater**. 18th. ed. Washington, 1992.

APHA. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3th ed. Washington, 2001. 676p.

ANDRADE, N. J.; AJAO, D. B.; ZOTTOLA, E. A. Growth and adherence on stainless steel by *Enterococcus faecium* cells. **Journal of Food Protection**, v. 61, n. 11, p. 1454-1458, 1998.

AJZENTAL, A. Caminhos do leite: da ordenha ao consumidor. **Leite e Derivados**. v. 3, n. 18, p. 29-40, 1994.

BARUFALDI, R. et al. 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 da Saúde Pública**, São Paulo, v. 18, p. 367-374, 1984.

BRADINI, K. B. et al. Risco à saúde representado pelo consumo de leite cru comercializado clandestinamente. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 30, n.6, p. 549-552, 1996.

BRAMLEY, A. J.; MCKINNON, C. H. The microbiology of raw milk. **Dairy Microbiology**, p. 163-207, 1990. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 03 março 2004.

BRAMLEY, A. J. et al. The effect of udder infection on the bacterial flora of the bulk milk of ten dairy herds. **Journal Applied Bacteriology**, p. 257-317, 1984. Disponível em: <<http://www.milkpoint.com.br>>. Acesso em: 3 mar. 2004.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA REGULAMENTO DE INSPEÇÃO INDUSTRIAL E SANITÁRIA DE PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL (RIISPOA). Brasília, 1997.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002. Brasília, DF. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, de 20/09/2002, seção 1, p.13-22.

BRASIL . MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria 518 de 25/03/2004 : Normas e padrões de potabilidade da água de consumo humano**. Brasília, DF. Publicada no DO nº 59 - de 26/03/2004, Seção 1, pág. 266.

BRASIL, Ministério da Agricultura. Laboratório Nacional de Referência Animal. Métodos analíticos e oficiais para controle de produtos de origem animal e seus ingredientes: métodos microbiológicos. Brasília: LANARA, 1981 b, v.I, p.irreg.

BRITO, J. R. F. PNQL: Como surgiu e o que mudou depois dele. EMBRAPA Gado de leite, Juiz de Fora, 2004. Disponível em: <
<http://www.milkpoint.com.br/cbql2004/Download/PDFs/Dia%2013-092004/Renaldi.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2005.

BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F. Qualidade do leite. In: MADALENA, F. E.; MATOS, L. L.; HOLANDA Jr., E. V. (Ed.). **Produção de leite e Sociedade**. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2001. cap. 3, p. 61-74.

BRITO, J. R. F. et al. Adoção de boas práticas agropecuárias em propriedades leiteiras da Região Sudeste do Brasil como um passo para a produção de leite seguro. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 32, n. 2, p. 125-131, 2004.

BORGES, M. S. et al. Comparison of the quality of two types of milk at two sources in the Belo Horizonte, Brazil market. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 41, p. 739-742, 1978.

CARDOSO, R. C. V. et al. Avaliação da eficiência de agentes sanificantes para mãos de manipuladores de alimentos em serviços de refeição coletiva. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 41, p. 17-20, 1996.

COUSIN, M. A. Presence and activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 45, p. 172-207, 1982.

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

CULLOR, J.S. HACCP em fazendas leiteiras: uma nova ferramenta para melhorar a qualidade do leite. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 5., 2001, Belo Horizonte, MG. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2001. p. 109-114.

DAKER, A. **A água na Agricultura : Captação, Elevação e Melhora da Qualidade**. 2. ed. Rio de Janeiro: Freitas Barbosa, 1970, 379 p.

ENEROTH, A.; AHRNÉ, S.; MOLIN, G. Contamination of milk Gram-negative spoilage bacteria during filling of retail containers. **International Journal of Food**

Microbiology, v. 57, p. 99-106, 2000. Disponível em: <<http://www.elsevier.nl/locate/ijfoodmicro>>. Acesso em: 11 nov.2002.

ENEROTH, A. et al. Critical contamination sites in the production line of pasteurized milk, with reference to the psychrotrophic spoilage flora. **International Dairy Journal**, v. 8, p. 829-834, 1998. Disponível em: <<http://www.elsevier.nl/locate/ijfoodmicro>>. Acesso em: 11 nov.2002.

FAGUNDES, C. M. et al. Presença de *Pseudomonas* spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 2, p.568-572, 2006.

FAO. Codex Alimentarius Commission/WHO. Proposed draft code of hygienic practice for milk and milk products (at step 3 of the procedure). In: **Proceedings of the Joint FAO/WHO Standards Programme**. Codex Committee on Food Hygiene. Washington,1999. v. 32. 13 p.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.

GARCIA, C. A. et al. Influência do ozônio sobre a microbiota do leite "in natura". **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 70, p. 36-50, 2000.

GUANZIROLI, C. E.; CARDIM, E. S. **Novo retrato da agricultura familiar. O Brasil redescoberto**. Projeto de Cooperação Técnica INCRA/FAO, Brasília, 2000.

GUERREIRO, P. K. et al. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v. 29, n. 1, p.216-222, 2005.

GOMES, F.P. **Curso de Estatística Experimental**. Piracicaba, USP/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 404 p. 1966.

HAJDENWURCEL, J. R.; BRANDÃO, S. C. C.; LERAYER, A. L. S. **Nova legislação comentada de produtos lácteos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 2002. 327p.

HAYES, P. R. Food Microbiology and hygiene. **2 ed.** New York: Chapman and Hall, 1995. 516p.

HARVEY, W. C.; HILL, H. **Leche: production y control**. Madrid: Academia, 1989. 595p.

HEGGUM, C. Trends in hygiene management – the dairy sector example. **Food Control**, v. 12, p. 241-246, 2001. Disponível em: <<http://www.elsevier.nl/locate/ijfoodmicro>>. Acesso em: 11 nov.2002.

HIGIENIZAÇÃO na indústria de laticínios. Disponível em: <<http://www.qualimilk.hpg.ig.com.br>>. Acesso em: 7 nov. 2002.

ICMSF – INTERNATIONAL COMMITTEE ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOOD. **Microorganisms in Food. I** – Their significance and methods of enumeration. 2nd ed. Toronto: University Press, 2000. 439p.

IBGE. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA . **Censo Agropecuário** 1995-1996, Brasil, 1996. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil/tabela1brasil.shtm>>. Acesso em: 7 nov. 2002.

JANK, M.S; GALAN, V.B. Competitividade do sistema agroindustrial do leite. In: FARINA, E.M.M.Q. & ZYLBERSTAJN, Décio. **Competitividade no Agribusiness Brasileiro**. Disponível em: <<http://www.Fea.usp.br/Fia/pensa/pensa12.html>>. Acesso em: 15 jan. 2004.

JAY, J. M. Modern food microbiology. 5 ed. New York: Chapman and Hall, 1996. 661p.

KUMAR, C. G.; ANAND, S. K. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 42, p. 9-27, 1998. Disponível em: <<http://www.elsevier.nl/locate/ijfoodmicro>>. Acesso em: 11 nov. 2002.

LARANJA da FONSECA, L. F. Pagamento por qualidade: situação atual e perspectivas para o Brasil. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO INTENSIVA DE LEITE, 5., 2001, Belo Horizonte, MG. **Anais...** São Paulo: Instituto Fernando Costa, 2001. p. 17-29.

LARANJA da FONSECA, L.F.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite**. São Paulo: Ed. Lemos.2000, cap. 14, p. 151-161.

LOPES, A. C. D.; STAMFORD, T. L. M. Critical points in the pasteurized milk processing fluxuogram. **Archivos Latinoamericanos Nutricion**, Guatemala, v. 47, n. 4, p. 367-371, 1997.

LUNDER, T.; BREENNE, E. Factors in the farm pollution production affection bacterial content in raw milk. SYMPOSIUM ON BACTERIOLOGICAL QUALITY OF RAW MILK, 1996, Wolfpassing, **Proceedings**, p.103-107.

MORENO, I. et. al. Qualidade de leites pasteurizados produzidos no Estado de São Paulo. **Indústria de Laticínios**, n. 13, p. 56-61, 1999.

MORIÑIGO, M. A. et. al. Relationships between *Salmonella* sp. and indicator microorganisms in polluted natural waters. **Water Research**, v. 24, n. 1, p. 117-120, 1990.

NADER FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Avaliação das características microbiológicas do leite tipo B em diferentes pontos do fluxograma de beneficiamento. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 43, n. 259, p. 13-17, 1988.

NADER FILHO, A. et al. Bacterial analysis of comercial pasteurized type C milk distributed in town of Jaboticabal-SP (Brazil). **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 2, n. 2, p. 263-268, 1986.

OLIVEIRA, J. S.; BORGES, S. F. Qualidade do leite pasteurizado. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 2, n. 3, p. 113-116, 1983.

OLIVEIRA, A. J.; CARUSO, J. G. B. Leite: obtenção e qualidade do produto fluido e derivados. In: **Controle de qualidade do leite**. Piracicaba: FEALQ, 1996. cap. 3, p. 27-43.

OLIVEIRA, C. A. F. de. Aspectos relacionados à produção, que influenciam a qualidade do leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 62, p. 10-16, 1999.

PARO, F. M. Análise de pontos críticos para o controle da qualidade microbiológica de leite tipo B em micro-usina na região de Ribeirão Preto-SP, 2000. 64f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2000.

PECININ, L. C. A. Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais, 2003. 70f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas, Belo Horizonte, 2003.

PELCZAR, M.; REID, R.; CHAN, E. C. S. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1996. 2v.

PICKERING, L. K. et al. Prospective study of enteropathogens in children with diarrhea in Houston and Mexico. **Journal Pediatrics**, St. Louis, v.93, p.383-388, 1978.

PRATA, L. F. Aplicação do método de contagem microscópica no controle microbiológico do leite cru. Campinas, 1984. 85f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1984.

PRATA, L. F. Solução ou problema? Uma análise da situação. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 54, p. 10-15, 1997.

PRATA, L. F. **Fundamentos de Ciência do Leite**. São Paulo. Funep – Unesp, 2001, 287p.

QUEIROZ, J.C. Avaliação sanitária do leite cru distribuído nos Municípios de Juquitiba e Itapecerica da Serra, São Paulo, 1990-1992. 201f Tese (Doutorado) – Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 1995.

REIS, G. L. et al. Efeito do tipo de ordenha sobre a saúde do úbere e a qualidade do leite. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte:FEPMVZ, 2005. v. 48, p-6-14.

ROBINSON, R. K. **Microbiologia Lactológica**. Zaragoza: Acribia, p. 230, 1987.

ROQUE, R. A. et. al. Quantificação de microrganismos psicotróficos em leites pasteurizados tipos B e C, comercializados na cidade de São Paulo, SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 112, p. 59-68, 2003.

ROMANO, A. P. M. Avaliação da importância da água utilizada na produção de leite como via de transmissão de *Staphylococcus* ssp. 2002. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.

ROSSI JÚNIOR, O. D. et al. Análises das condições físico-químicas e bacteriológicas do leite oferecido ao comércio de Jaboticabal/SP. **Revista Instituto Lactício Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 220, n. 37, p. 15-29, 1982.

RYDER, R. W. Enterotoxigenic *Escherichia coli* and reovirus-like agent in rural Bangladesh. **Lancet**, Boston, v. 1, p. 659-663, 1976.

SACK, R.B. Human diarrheal disease caused by enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Annual Review Microbiology**, Palo Alto, v. 29, p. 333-353, 1975.

SANTANA, E. H. W. Microrganismos psicotróficos em leite. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 88, p. 27-33, 2001.

SANTOS, D.; BERGMANN, G. P. Influência da temperatura durante o transporte sobre a qualidade microbiológica do leite cru. Parte I – Mesófilos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 69-74, 2003a.

SANTOS, D.; BERGMANN, G. P. Influência da temperatura durante o transporte sobre a qualidade microbiológica do leite cru. Parte II – Coliformes Totais. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 80-84, 2003b.

SANTOS, E. S. Psicrótrócos: conseqüências de sua presença em leites e queijos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 33, n. 2, p. 129-138, 1999.

SANTOS, E. M. P. et al. Enumeração de microbiota psicotrófica, mesofílica e proteolítica deteriorante do leite cru granelizado e pasteurizado na região de Belo Horizonte – MG. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104, p. 175-176, 2003.

SANTOS, L.C. et al. Bactérias coliformes totais e coliformes de origem fecal nas águas usadas na dessedentação de animais. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, p. 112-122, 1983.

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

SILVA, M. H. Efeito do resfriamento e estocagem sobre alguns grupos de microrganismos e propriedades físico-químicas do leite. 1991. 104f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1991.

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

SILVEIRA, I. A. A influência dos microrganismos psicotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado. Uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 55, p. 21-26, 1998.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA, CTAA, 1995. 159p.

SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. et al. Efeito de várias medidas higiênico – sanitárias durante a ordenha na contagem microbiana do leite. **Revista Instituto Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 219, n. 37, p. 13-15, 1982.

SCHMITT, A. et al. Contagens de mesófilos e de psicotróficos em leite cru de diferentes regiões do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 104-105, p. 180-184, 2003.

SCHUKKEN, Y. H. et al. Risk factors for clinical mastitis in herds with low bulk milk somatic cell count. 2-Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. **Journal Dairy Science**, v. 74, p. 826-832, 1991.

SOUZA, L. C. et al. Bactérias coliformes totais e coliformes de origem fecal em águas usadas na dessedentação de animais. **Revista de Saúde Pública**, v. 17, p. 112-22, 1983.

SWOROBUK, J. E., LAW, C. B., BISSONETTE, G. K. Assessment of the bacteriological quality of rural groundwater supplies in Northern west Virginia. **Water, air, and Soil Pollution**, v. 36, p. 136-70, 1987.

TAVERNA, M. Tecnologia de ordenha e qualidade do leite. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do leite, 1., 2004, Passo Fundo, RS. **Anais...** Passo Fundo, 2005. p.146-177.

TEIXEIRA, A. M.; MASSAGUER, P. R.; FERREIRA, E. C.; TOSELLO, R. M. Agilizando a contagem de bactérias em leite cru brasileiro. **Indústria de Laticínios**, v. 4, n. 25, p. 46-49, 2000.

TKACZ, L. M. et al. Níveis microbiológicos e físico-químicos do leite *in natura* de produtores no Estado de Santa Catarina. In: Congresso Brasileiro de Qualidade do leite, 1., 2005, Passo Fundo, RS. **Anais...** Passo Fundo, 2005. CD-ROOM.

THOMAS, S. B.; THOMAS, B. F. Psychotropic bacteria in refrigerated bulk-collected raw milk. **Dairy Industries**, v. 38, p. 20-22, 1973.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of Methods for Microbiology of Foods**. 3 ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.

WENDPAD, L. L; ROSA, O. O.; LIMA, M. G. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo “C” comercializado em Cuiabá–MT. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 47, p. 34-37, 1997.

WILLERS, H.C.; KARAMANLIS, X.N.; SCHULTE, D.D. Potential of closed water systems on dairy farms. **Water Science and Technology**, v. 39, n. 5, p. 113-119, 1999.

ANEXO 1**QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES**

Nome do Proprietário –

Nome da propriedade -

Localização –

Como faz a prevenção e controle da mastite

() Utilização de caneca de fundo preto () Teste CMT

() Realização de pré e pós-dipping () Não faz

Quais os produtos utiliza na higienização dos tetos

() Nenhum () Apenas água () Água e iodo

() Água clorada () Outros

Quais os cuidados com os bezerros recém-nascidos

() Administração de colostro () Cura de umbigo () Utilização de
bezerreiros

Ao nascimento como é feito o curativo no umbigo dos bezerros:

() corta e desinfeta; () só desinfeta; () não faz nada.

Quais produtos utiliza na cura de umbigo

() Nenhum () Apenas iodo () Iodo e repelente

Qual a frequência de ocorrência de diarreias

() Frequentemente () Raramente () Ausente

Ocorreu alguma doença no rebanho nos últimos seis meses?

Se afirmativo: Quais?

Que frequência?

Controle sanitário:

Especificação	Sim ou Não	Frequência
Bernes		
Carrapatos		
Moscas		
Mosca-do-chifre		
Morcegos		
Ratos		

Testes para controle de enfermidades:

Especificação	Sim ou Não	Frequência
Leptospirose		
Brucelose		
Tuberculose		
Mamite		

Aplicação de Vacinas e Vermífugos (nº. de doses/animal/ano) e Realização de Exames de Fezes (vezes/ano)

Categorias	Aftosa	Mangueira	Brucelose	Paratifo	Raiva	Vermífugo	E. fezes
Reprodutores							
Vacas lactantes							
Vacas falhadas							
Novilhas gestantes							
Novilhas não gestantes							
Bezerros							
Bezerras							
Machos desmamados							

Numero de ordenhas: Nas secas: () 1 () 2
 Nas águas: () 1 () 2

Local da ordenha: () Curral () Estábulo () Sala de ordenha

Tipo de aleitamento: () Natural () Artificial

Tipo de bezerreiro: () Individual () Coletivo () Não possui

Realiza Controle leiteiro () Sim () Não

Freqüência de limpeza das instalações

() Diariamente () Esporadicamente () Não faz

ANEXO 2**QUESTIONÁRIO QUALIDADE DA ÁGUA****Nome do Proprietário -****Nome da Propriedade -****Localização -**

Qual a fonte de água para consumo humano

☐ Mina☐ Poço Raso☐ Poço Artesiano Profundo

Com faz a retirada da água da fonte

☐ Através de Bomba☐ Balde

Qual a fonte de água para consumo animal

☐ Mina☐ Represa☐ Poço Raso☐ Rio☐ Poço

Artesiano

Como protege a Fonte de Água

☐ Calçada ao redor☐ Tampa☐ Parede acima do solo☐ Ponto mais alto do terreno☐ Revestimento Interno☐ Desvio de água de chuva

O que acha da qualidade da água da sua propriedade

☐ Ótima☐ Regular☐ Boa☐ Ruim

O senhor acredita que a água pode transmitir alguma doença para o homem?

☐ Sim ☐ Não

Em caso afirmativo: Quais doenças?

A água pode transmitir alguma doença para os animais?

☐ Sim. ☐ Não

Em caso afirmativo: Quais doenças?

Tipo de higienização realizada pelo ordenhador antes da ordenha

- ☐ Nenhuma
- ☐ Lava as mãos apenas com água
- ☐ Lava as mãos com água e sabão

Tipo de higienização realizada pelo ordenhador entre as ordenhas

- ☐ Nenhuma
- ☐ Lava as mãos apenas com água
- ☐ Lava as mãos com água e sabão

O senhor acha que a qualidade da água pode influenciar a qualidade do leite?

☐ Sim ☐ Não

Faz tratamento da água?

☐ Sim. ☐ Não

Em caso afirmativo: Que tipo de tratamento?

Usa filtro domiciliar

☐ Sim ☐ Não

Faz algum tratamento para água de consumo humano?

() Sim

() Não

Faz lavagem e desinfecção do reservatório de água?

() Sim

() Não

Em caso afirmativo: Quantas vezes ao ano?

Já analisou a qualidade da água alguma vez?

() Sim

() Não