

GENALDO MARTINS DE ALMEIDA

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU REFRIGERADO,
NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO DO OESTE – RONDÔNIA-BRASIL**

**BRASÍLIA/DF
2010**

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA – UNB
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

GENALDO MARTINS DE ALMEIDA

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU REFRIGERADO
NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO DO OESTE – RONDÔNIA-BRASIL**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência da Saúde.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Wilma Maria Coelho Araújo

**BRASÍLIA/DF
2010**

Almeida, Genaldo Martins de

Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia-Brasil/Genaldo Martins de Almeida.

Tese de Doutorado/Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília. Brasília, 2010.

Área de concentração – Ciência e Tecnologia de Alimentos

Orientadora – Prof^a. Dr^a. Wilma Maria Coelho Araújo.

1. Leite cru refrigerado
 2. Qualidade higiênico-sanitária
 3. Instrução Normativa 51
 4. Saúde
-

GENALDO MARTINS DE ALMEIDA

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU REFRIGERADO
NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO DO OESTE – RONDÔNIA-BRASIL**

Tese apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciência da Saúde

Aprovada em: 16/07/2010

BANCA EXAMINADORA

Profª Drª Wilma Maria Coelho Araújo
(Presidente – Universidade de Brasília)

Profª Drª Adriana Régia Marques de Souza
(Membro Externo – Universidade Federal de Goiás)

Profª Drª Marileusa Dosolina Chiarello
(Membro Externo – Universidade Católica de Brasília)

Profª Drª Karin Eleonora Oliveira Sávio
(Membro externo – Universidade de Brasília)

Profª Drª Livia de Lacerda de Oliveira Pineli
(Membro Externo – Universidade de Brasília)

Profª Drª Teresa Helena Macedo da Costa
(Membro Interno Suplente – Universidade de Brasília)

**BRASÍLIA/DF
2010**

Dedico este...

A Deus, primeiramente, por estar ao meu lado em todos os momentos de minha vida e ainda pela oportunidade de concluir este trabalho.

Aos meus pais, Linduarte e Maria José (in memoriam), pelo exemplo de dedicação e perseverança que sempre me foi dado ao longo da vida.

À minha esposa, Masé e aos meus filhos Genaldo Jr, Fernando e Geovani, esperando conseguir repassar-lhes a importância de vencer desafios.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Saúde – Universidade de Brasília.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Wilma Maria Coelho Araújo, pela dedicação, companheirismo e motivação para conclusão deste trabalho.

À Emater-RO, pelo incentivo e apoio que me foram dados durante todo a pesquisa.

Ao Laboratório Veterinário da Universidade Luterana do Brasil (Ulbra) Ji-Paraná - Rondônia, e a Prof^a Ma. Cristina Bergman Zaffari Grecelle.

Aos extensionistas da Emater-RO, município de Ouro Preto do Oeste, Rondônia.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde pela socialização de seus conhecimentos e dedicação.

Aos colegas Adilson Miranda de Almeida, Aécio Alves Pereira, Helena Meika e a Maria Bernadete Junkes pela amizade e contribuições oportunizadas no decorrer deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Carlos Alberto Bezerra Tomaz, pela suas orientações.

Por fim, a todos aqueles que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização dessa pesquisa.

RESUMO

Em Rondônia o agronegócio é explorado por cerca de 95.000 propriedades rurais, das quais 83,79% (79.573) têm a bovinocultura como atividade principal. Cerca de 31% (3.444.751/11.012.991) das cabeças de gado são destinadas à produção leiteira. No ano de 2008, o estado de Rondônia foi responsável por 2,83%, da produção nacional, ocupando assim o 8º lugar nessa classificação. Dada a essa expressiva produção de leite, o objetivo dessa pesquisa foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado conforme orientação da IN-51 do MAPA, em 32 propriedades leiteiras do município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia, que possuem tanques individuais de refrigeração. O leite cru refrigerado foi coletado no período de abril a agosto de 2007, entre 8h e 12h e transportado ao Laboratório até às 13h30min. As amostras foram mantidas sob refrigeração até o momento das análises. As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), no município de Ji-Paraná – Rondônia, que dista 35km de Ouro Preto do Oeste. Foram feitas as análises microbiológicas para contagem padrão em placas, tendo-se como referência o limite de 10^6 UFC/mL para aeróbios mesófilos, critério estabelecido pela legislação. Para identificar a relação entre os dados obtidos e as condições higiênico-sanitárias das amostras pesquisadas aplicou-se um questionário com perguntas fechadas e semifechadas. Para avaliar a adequação à IN-51, as amostras foram agrupadas em duas classes: as que se encontravam dentro do padrão e as que estavam fora do padrão. O tratamento estatístico para os dados dos questionários das pesquisas de campo e das análises foram transcritos para planilha em Programa MS Excel Office XP, onde empregou-se estatística descritiva para caracterizar a amostra nas variáveis estudadas, utilizando-se a média geométrica, mediana, desvio padrão e percentual e posteriormente foram preparados através do programa BIOESTAT 5.0 e EPI-INFO 6,04 para a realização da análise estatística. As associações de interesse foram verificadas pelo cálculo do teste de qui-quadrado com intervalo de confiança de 95% e valor de $p \leq 0,05$. Verificou-se associações positivas nas propriedades em que o produtor que não faz controle de mastite estar fora dos padrões da IN-51 do MAPA é sete vezes maior do que aqueles que fazem o controle, mostrando valores estatisticamente significantes ($\chi^2 = 5,542$ e $p = 0,0186$). Verificou-se ainda associações positivas entre as condições do local de extração do leite com a qualidade do leite analisado, ou seja, as diferenças entre o número de produtores que se encontram dentro e fora dos valores preconizados pela IN-51 com relação às condições do local de extração são estatisticamente significantes ($\chi^2 = 19,4$ e $p = 0,0120$). O produtor que não faz a higienização dos tetos é 56% maior de não atingir a adequação, os que não utilizam água tratada possuem 45% de não se adequarem e ainda os que disseram apresentar algum tipo de problema com o fornecimento de energia tiveram suas chances aumentadas em 23% de não estarem dentro dos níveis estipulados pela IN-51. Os dados obtidos permitem concluir que 65,6% das propriedades pesquisadas estão de acordo com os padrões estipulados pela IN-51, enquanto 34,4% ainda precisam se adequar a esta.

Palavras-chaves: Leite Cru Refrigerado, Qualidade Higiênico-Sanitária, Instrução Normativa 51, Saúde.

ABSTRACT

In Rondônia the agribusiness is explored in about 95.000 farms whose 83,79% (79.573) has cattle culture as main activity. About 31% (3.444.751/11.012.991) of the cattle are for milk production. In 2008 the state of Rondônia was responsible for 2,83 of the national production, occupying (therefore) the 8° place in this classification. Due to this expressive milk production, the objective of this research was evaluate the hygienic sanitary quality of refrigerated raw milk as the orientation of IN-51 the MAPA, em 32 dairy farms on the city of Ouro Preto do Oeste – Rondônia, that have individual cooling tanks. The refrigerated raw milk was collected in the period of April to August of 2007, between 8am to 12am and transported to the laboratory until 1: 30pm. The samples were kept under refrigerator until the time of analysis. The microbiological analysis was performed on the laboratory of veterinary medicine course of Lutheran University of Brazil (ULBRA) in the city of Ji-Paraná – Rondônia , at a distance of 35km from Ouro Preto do Oeste. The microbiological analysis was made by the standard plate count, taking as reference the limit of 10^6 UFC/ml to aerobic mesophilic, criterion established by the laws. To identify the relationship between the data obtained and the hygienic sanitary conditions of the studied samples was applied a questionnaire with closed and semi closed questions. To evaluate the appropriateness to IN-51, the samples were grouped into two classes: those that were within the standard and those which were not. The statistical treatment to data from questionnaires of the field surveys and analysis was transcribed to spreadsheet in MS Excel Office XP, where it was used descriptive statistical to characterize the sample in the studied variables, using geometric mean, median, standard deviation, percentages and subsequently were prepared through the program BIOESTATISTC and EPI-INFO 6,04 to conduct the statistical analysis. The interest associations were verified by calculating the chi-square test with confidence interval of 95% and the p value $< 0,05$. It was found positive associations in the properties in which the producer does not control mastitis be out of patterns of IN-51 the MAPA, is seven times higher than those who do control, showing statistically significant figures ($\chi^2 = 5,542$ and $p=0,0186$). Is was found yet positive associations between the conditions of the place for extraction of the milk with the quality of the milk analyzed, then , the differences between the number of producers that are inside and outside the recommended values by IN-51 related to the conditions of the place of extraction are statistically significant ($\chi^2 = 10,9419$ e $p= 0,0120$). The producer who does not sanitize the teats has 56% higher chance of not reaching the appropriateness, those who do not use treated water have 45% chance of non suit and even those who said that had some problem with the power supply had their chances increased by 23% for not being within the stipulated levels by IN-51. The data obtained showed that 65,5% of properties surveyed are consistent with standards required by IN-51, while 34,4% still need to fit that one.

Key- words: refrigerated raw milk; hygienic sanitary quality; normative instruction 51; health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma dos componentes de uma cadeia agroalimentar do leite..	08
Figura 2: Evolução da produção de leite em Rondônia, 1990/2007.....	45
Figura 3: Mapa do município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia.....	48
Figura 4: Localização dos municípios de Ouro Preto do Oeste e Ji Paraná – Rondônia.....	51
Figura 5: Processo de análise do leite.....	52
Figura 6: Distribuição das propriedades quanto a quem faz a extração do leite. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	55
Figura 7: Distribuição dos proprietários quanto a quem fornece as informações recebidas sobre a qualidade microbiológica leite. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	57
Figura 8: Médias aritméticas mensais para a contagem bacteriana total (CBT), Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007. (x 1000 ufc/ml).....	57
Figura 9: Percentuais de produtores conformes e não-conformes com a IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	58
Figura 10: Percentuais de produtores conformes e não-conformes com a IN-51, com relação ao controle e prevenção de mastite e tuberculose. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	62
Figura 11: Classificação dos produtores como referência as classificação da Instrução Normativa – 51/2002 em relação ao volume dos tanques de resfriamento, Ouro Preto do Oeste - RO, 2007.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Composição média, em percentual, do leite.....	13
Tabela 2 . Composição média do leite bovino.....	13
Tabela 3: Composição e Requisitos físico-químicos e Microbiológicos do Leite Refrigerado.....	15
Tabela 4: Instrumentos legais relacionadas à segurança alimentar no Brasil no período de 1993 a 2004.....	39
Tabela 5: Parâmetros biológicos para leite cru refrigerado a serem atingidos em diferentes regiões do Brasil	42
Tabela 6: Cronograma de colheita de amostras de leite cru nas propriedades de Ouro Preto do Oeste durante os meses de abril a agosto de 2007 e numeração de produtores selecionados a cada período.....	49
Tabela 7: Características físicas das propriedades pesquisadas, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	53
Tabela 8: Características físicas dos currais das propriedades pesquisadas, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	54
Tabela 9: Características das propriedades pesquisadas, quanto ao manejo do rebanho. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	55
Tabela 10: Comparação das características do local de extração conforme IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	59
Tabela 11: Distribuição dos produtores que possuem água encanada no local de extração do leite conforme resultados da IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	60
Tabela 12: Distribuição dos produtores quanto às questões relacionadas ao rebanho conforme resultados da IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	61
Tabela 13: Distribuição dos produtores que fazem controle de mastite com referência à prevalência de índices acima do valor preconizado pela IN-51, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	62
Tabela 14: Distribuição dos produtores, quanto à higienização no processo de produção comparado aos padrões da IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007....	63
Tabela 15: Distribuição dos produtores que possuem problemas de acondicionamento do leite com referência à prevalência de índices acima do valor preconizado pela IN-51, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.....	64

LISTA DE ABREVIATURAS

APPCC - Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle

CBT - Contagem total de bactérias

CCS - Contagem de células somáticas

DFA/RO - Delegacia Federal de Agricultura em Rondônia

DP - Desvio padrão

EUA - Estados Unidos da América

FAO - Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação

ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods

IDARON - Agência de Defesa Sanitária e Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia

L - litro

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ML - mililitro

OMC - Organização Mundial de Comércio

OMS - Organização Mundial da Saúde

PNDA - Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílio

PNMQL - Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite

pH - Potencial hidrogênio iônico

R.I.I.S.P.O.A. - Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal

SEAPES - Secretaria de Estado da Agricultura

SIE - Serviço de Inspeção Estadual

SIF - Serviços de Inspeção Federal

SPS - Sanitary and Phytosanitary Agreement

SUS - Sistema Único de Saúde

ULBRA - Universidade Luterana do Brasil

UFC - Unidades Formadoras de Colônias

µg - Micrograma

UHT - Ultra Alta Temperatura

USDA - Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

WTO - World Trade Organization

χ^2 Qui- quadrado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. OBJETIVOS.....	05
2.1. Objetivo Geral.....	05
2.2. Objetivos Específicos.....	05
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	06
3.1. Cadeia Produtiva e Segurança Alimentar.....	06
3.2. Aspectos Nutricionais do Leite e Produtos Lácteos.....	09
3.3. Leite e Aspectos Relacionados à Qualidade.....	10
3.4. Garantia de Qualidade e Avaliação de risco.....	15
3.5. Qualidade do Leite Produzido no Brasil.....	21
3.6. Zoonoses e Infecções Transmitidas pelo Leite.....	22
3.6.1 Brucelose e tuberculose.....	23
3.6.2 Micro-organismos veiculados pelo leite.....	25
3.7. Legislação Atual para o Setor Lácteo.....	36
3.7.1 Instrução Normativa nº 51 (MAPA 2002).....	40
3.8 Cenário da Produção Leiteira do Estado de Rondônia.....	43
4. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
4.1 Tipo de Estudo.....	47
4.2 Área de Estudo, Universo Amostral e Coleta das Amostras.....	47
4.3 Análise dos Dados.....	50
4.4 Preparo das Amostras e Contagem de Bactérias Mesófilas Aeróbias	50
4. RESULTADOS.....	53
5. DISCUSSÃO.....	66

6. CONCLUSÃO.....	74
REFERENCIAS.....	77
ANEXOS.....	95
ANEXO 1.....	96
ANEXO 2.....	97
ANEXO 3.....	98
APENDICES.....	99
APENDICE 1 (Questionário de Campo).....	100
APENDICE 2 (Artigo Publicado).....	104

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de leite no mundo, ocupando o sexto lugar, com uma produção anual aproximada em torno de 26,1 bilhões de litros (1). Mas, o consumo de leite, *per capita*, é cerca de 123kg/habitante/ano, apesar de a partir de 2003, ter se verificado um aumento com taxas de 4,3% ao ano (2). Contudo, esses valores são inferiores aos recomendados pela FAO, 224kg/habitante/ano (3).

O leite e seus derivados desempenham papel fundamental na nutrição dos seres humanos. É um alimento rico em proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais e água. Sabe-se que um litro de leite, por dia, supre as necessidades protéicas de crianças com até seis anos de idade, mais de 60% das necessidades protéicas dos adolescentes e 50% das necessidades dos adultos. Em relação ao cálcio, o consumo de um litro de leite supre 100% da necessidade desse mineral (4).

Para os micro-organismos, o leite é um substrato ideal para a sua multiplicação. Tem todos os nutrientes essenciais ao desenvolvimento microbiano: carboidratos, proteínas, lipídios, minerais e vitaminas, além da água e do pH, favoráveis a sua multiplicação.

Os micro-organismos patógenos aos homens, que podem ser encontrados no leite, são provenientes de três fontes principais: úbere de animais doentes (mastite), ambiente (fezes, solo, cama, alimentos, equipamentos de ordenha) e manipuladores. Entre esses micro-organismos estão: *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *B. melitensis*, *B. suis*, *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Leptospira*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Coxiella burnetti*, *Campylobacter*, *Yersinia* e *Staphylococcus aureus* (5, 6).

Doenças causadas por alimentos contaminados ainda são uma das principais causas de morbidade em diversos países e, em certas circunstâncias, podem gerar sérias consequências (7). Essas enfermidades denominadas toxi-infecções

alimentares, são causadas pelo consumo de alimentos contaminados, representados principalmente pelas bactérias patogênicas (8).

Os países desenvolvidos enfrentam ainda um crescente aumento dessas doenças. Nos Estados Unidos (EUA), entre 1988 e 1992, cerca de 85% dos casos de toxi-infecções alimentares de etiologia conhecida foram causados por bactérias. Considerando todas as situações, inclusive as não relatadas, não tratadas e não diagnosticadas, estima-se que o número supera 80 milhões de casos por ano, e custam ao país entre 5 e 17 bilhões de dólares por ano, incluindo gastos com tratamento médico e ausência de doentes às atividades profissionais (9, 10, 11, 12, 13, 14, 15).

A conservação de alimentos em temperaturas inadequadas, o consumo de alimentos crus e a higiene precária são alguns dos fatores que mais contribuem para a ocorrência de surtos de doenças transmitidas por alimentos (13). Alimentos crus são potenciais fontes de patógenos e podem contaminar equipamentos e utensílios pelo simples contato, transformando-os em importantes fontes de contaminação de alimentos (9, 17).

O Programa Nacional da Qualidade do Leite (PNQL) objetiva promover a melhoria da qualidade do leite e derivados, garantir a saúde da população e aumentar a competitividade dos produtos lácteos em novos mercados. Ou seja, pretende estimular os produtores a provocar mudanças nos procedimentos de obtenção de leite para assim garantir à população o consumo de produtos seguros, nutritivos, saborosos e ampliar seus rendimentos.

Para tanto, o leite obtido deve ter qualidade físico-química, microbiológica, sensorial, nutricional e legal; nesse contexto, a higiene do animal, do ordenhador e das instalações são fundamentais. A produção de leite de qualidade beneficia os produtores à medida que se reduz a existência de doenças, resultando em maior produção de leite e custos menores (18).

A qualidade e a segurança alimentar do leite e seus derivados têm recebido grande atenção por parte das autoridades, indústrias, profissionais envolvidos, produtores e consumidores. A legislação brasileira que trata especificamente desse assunto passou por um recente processo de atualização, por intermédio da criação da Instrução Normativa n.º 51 (19), para acompanhar as necessidades impostas pelos riscos biológicos que podem ocorrer em todos os setores da cadeia produtiva.

No Estado de Rondônia, o conhecimento sobre a presença de perigos de natureza biológica em leite cru é incipiente em comparação ao leite produzido em regiões mais tradicionais na atividade no país. O conhecimento de quais são os principais patógenos relacionados ao leite e aos derivados, desde as etapas iniciais de produção, é de extrema importância para a saúde pública, uma vez que a partir desses dados é possível estabelecer políticas para o controle de possíveis enfermidades causadas por esses agentes.

Em Rondônia o agronegócio é explorado por cerca de 95 mil propriedades rurais, das quais 83,79% (79.573) têm a bovinocultura como atividade principal. Cerca de 31% (3.444.751/11.012.991) das cabeças de gado são destinadas à produção leiteira (20). No ano de 2008, o estado de Rondônia foi responsável por 2,83% da produção nacional, que gira em torno de 26.133.913.000 litros/ano, ocupando assim o 8º lugar nessa classificação (21). Esta matéria-prima abastece 58 indústrias lácteas, das quais 52 são submetidas aos Serviços de Inspeção Federal (SIF) e 06 aos Serviços de Inspeção Estadual (SIE), que comercializam 85% dos seus produtos para outros estados do país.

A bacia leiteira de Ouro Preto do Oeste do Estado de Rondônia, no elo da produção primária e transformação da matéria-prima é a segunda mais significativa do estado. Tem 252.912 mil animais com aptidão leiteira, o que corresponde a 7,34% do rebanho de 3.444.751 cabeças no estado e foi responsável pela produção de 9,59% (71.151.120/741.930.348 litros/ano) (22).

Entretanto, até o momento, não se conhece a qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado dessa região e seu possível reflexo sobre o agronegócio do leite

em Rondônia e o atendimento aos critérios de segurança alimentar. Nesse sentido, a importância dessa pesquisa se deve a aspectos de natureza econômica e de saúde pública.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia.

2.2. Objetivos Específicos

- Identificar a presença de bactérias aeróbias mesófilas em leite cru refrigerado (*in natura*) obtido pelos produtores de Ouro Preto do Oeste – Rondônia.
- Identificar a relação entre os dados obtidos e as condições higiênico-sanitárias das amostras pesquisadas tendo como referência a Instrução Normativa nº 51 (2002), do MAPA.
- Discutir e associar os dados obtidos com as condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos nas quais as amostras foram produzidas.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Cadeia Produtiva e Segurança Alimentar

A produção de alimentos seguros, saudáveis e nutritivos, em bases sustentáveis e competitivas é um dos fundamentos da segurança alimentar em qualquer segmento da cadeia produtiva. Segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) segurança alimentar é definida, como:

“uma situação na qual todas as pessoas, durante o tempo, possuam acesso físico, social e econômico a uma alimentação suficiente, segura e nutritiva, que atenda a suas necessidades dietárias e preferências alimentares para uma vida ativa e saudável” (23).

Posto de outra forma, a segurança alimentar reafirma o direito inquestionável de todo cidadão a uma alimentação de qualidade e em quantidade suficiente em todas as fases de sua vida (24).

Produzir leite em bases sustentáveis e competitivas é uma das condições para implementação de programas que visem à segurança alimentar da população brasileira. Como alimento, o leite deve ter as características de qualidade previstas na legislação.

Associando ao conceito de segurança alimentar está o de soberania alimentar, que compreende a autonomia alimentar dos países, a geração de emprego, a menor dependência das importações e flutuações de preços do mercado internacional, respeito aos hábitos alimentares e a preservação da cultura de um país (23).

A questão da segurança alimentar não é tarefa exclusiva do segmento da produção. Produzir matéria-prima de qualidade é apenas uma das etapas de um

processo que envolve toda a cadeia produtiva. O desafio é oferecer alimentos seguros, saudáveis e nutritivos à população e aos consumidores finais.

Ao se considerar como critério de classificação, o principal foco de atuação dos componentes da cadeia agroalimentar do leite, (produção, distribuição, consumo) pode-se, a princípio, delimitar algumas categorias de interação de mercados: a) o de fatores, representado pelos agentes econômicos (produtores e indústrias) que adquirem tecnologias, serviços, insumos, máquinas e equipamentos necessários à condução do processo produtivo; b) o de fornecedores de matéria-prima, formado pelos produtores de leite; c) o de compradores e processadores da matéria-prima, composto, em geral, pelas indústrias e cooperativas de laticínios; d) o de distribuidores e varejistas, constituído pelos canais de comercialização e distribuição do leite e seus derivados; e) o mercado consumidor de produtos *in natura* e processados, constituído pelos consumidores finais.

Em todos eles (Figura 1) há perigos químicos, físicos e biológicos derivados de fatores como higiene na obtenção da matéria-prima e na sua industrialização; presença de contaminantes e resíduos químicos e físicos; transporte, refrigeração e conservação inadequados; vida de prateleira limitada e outros associados (25, 26).

Essa categorização leva em conta, portanto, os componentes da cadeia produtiva, representada de forma simplificada na figura 1. Considera, particularmente, as indústrias e os fornecedores de insumos; os produtores de leite e as indústrias de laticínios, responsáveis pelo beneficiamento e processamento da matéria-prima; os distribuidores, atacadista e varejista; e, por fim, os consumidores, objetivo final de todo esse processo de transações que ocorre entre os segmentos da cadeia (27).

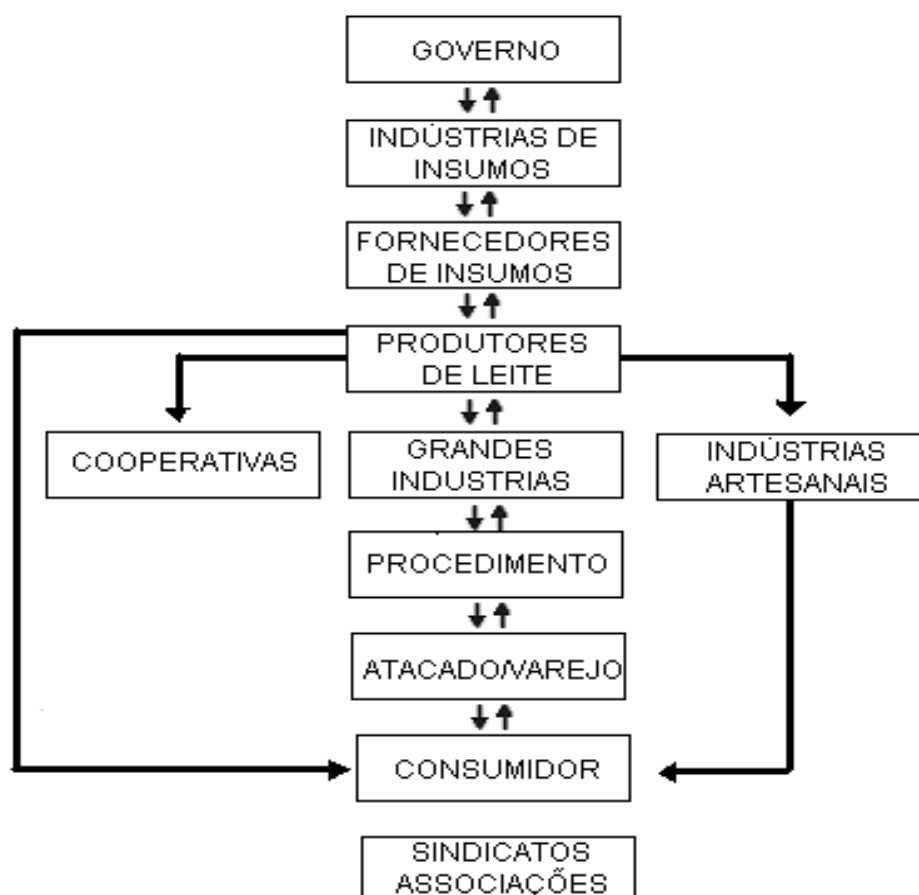


Figura 1: Componentes da cadeia agroalimentar do leite (27)

Todos esses componentes constituem o mercado formal, caracterizado pelo comércio direto do produtor com o consumidor doméstico ou fabricantes de produtos lácteos não-fiscalizados, principalmente queijos. Sua principal característica é a comercialização clandestina de leite cru, não-pasteurizado, e sem o controle efetivo dos órgãos federais e estaduais encarregados de sua fiscalização. O leite consumido nessas condições, basicamente, não tem assegurada a garantia de qualidade, assim como tem sido incluído também nessa categoria o leite UHT, (Ultra Alta Temperatura) (28).

A alimentação é um dos direitos humanos básicos, inerentes à dignidade e cabe ao Estado o combate à fome (29). Na Cúpula Mundial da Alimentação de 1996, o Brasil, entre outros, comprometeu-se a diminuir à metade a população que passa fome (23).

Contra-pondo-se ao pensamento de que a fome é uma percepção subjetiva e, portanto, uma condição não mensurável diretamente, devendo estudar-se mediante variáveis a ela correlacionadas (30), manifestado em simpósio em Berkeley, em 1987, dedicaram-se a compreender a fome a partir da experiência de quem a tinha vivenciado. Esses pesquisadores realizaram entrevistas com 32 mulheres em situação de pobreza e identificaram problemas da disponibilidade limitada ou incerta de alimentos, da pobreza da qualidade da dieta, as estratégias para manter um estoque suficiente e os sentimentos relacionados à situação.

Por segurança alimentar, entende-se o acesso por meios socialmente aceitáveis a uma dieta qualitativa e quantitativamente adequada às necessidades humanas individuais para que todos os membros do grupo familiar se mantenham saudáveis. O conceito de insegurança alimentar se estende desde a percepção de preocupação e angústia ante a incerteza de dispor regularmente de comida, até a vivência de fome por não ter o que comer em todo um dia, passando pela perda da qualidade nutritiva, incluindo a diminuição da diversidade da dieta e da quantidade de alimentos, sendo estas as estratégias para enfrentar essa adversidade (31).

Segurança alimentar, segundo a FAO/OMS, consiste na garantia do acesso continuado para todas as pessoas a quantidades suficientes de alimentos seguros que lhes assegurem uma dieta adequada; na obtenção e manutenção do bem-estar de saúde e de nutrição de todas as pessoas; na promoção de um processo de desenvolvimento em bases seguras do ponto de vista ambiental e socialmente sustentável, que contribua para uma melhoria na nutrição e na saúde, eliminando as epidemias e as mortes pela fome.

3.2. Aspectos nutricionais do leite e produtos lácteos

O leite é há muito tempo reconhecido por fornecer nutrientes para o adequado crescimento e desenvolvimento do ser humano. As pesquisas nos últimos 30 a 40 anos demonstram que o leite e os produtos lácteos podem auxiliar na redução dos

riscos de doenças crônicas. Evidências científicas demonstram que a ingestão adequada de cálcio e de outros nutrientes presentes nos produtos lácteos reduz o risco de osteoporose e conseqüentemente de outras enfermidades associadas ao cálcio.

Segundo dados do Serviço de Nutrição da Junta Leiteira do Canadá, o consumo de leite e produtos lácteos supre mais de 20% das necessidades de proteínas, cálcio, fósforo, vitamina A, riboflavina e niacina em adolescentes e adultos (32).

Estudos clínicos comprovaram que o consumo de produtos lácteos em níveis recomendados pode auxiliar na redução da pressão sanguínea de indivíduos com pressão normal ou elevada, contribuindo para evitar a hipertensão. Os resultados indicam que peptídeos específicos associados à caseína e proteínas do soro podem diminuir significativamente a pressão sanguínea. O *Dietary Guidelines for Americans* recomenda que os americanos aumentem o consumo de leite e produtos lácteos para três porções ao dia (33).

3.3. Leite e aspectos relacionados à qualidade

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (34), o leite pode ser definido sob o ponto de vista fisiológico como o produto de secreção das glândulas mamárias das fêmeas mamíferas, logo após o parto, com a finalidade de alimentar o recém-nascido na primeira fase de sua vida.

Sob o ponto de vista físico-químico, é uma emulsão natural perfeita, na qual os glóbulos de gordura estão mantidos em suspensão, em um líquido salino açucarado, graças à presença de substâncias proteicas e minerais em estado coloidal. Sob o ponto de vista higiênico, é o produto íntegro da ordenha total e sem interrupção de uma fêmea leiteira em bom estado de saúde, bem alimentada e sem

sofrer cansaço, isento de colostro, recolhido e manipulado em condições higiênicas (35).

De acordo com a Instrução Normativa (IN) nº 51 (19), entende-se por leite, sem especificar a espécie animal, o produto obtido da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas leiteiras sãs, bem alimentadas e em repouso. O leite de outros animais deve denominar-se segundo a espécie da qual proceda.

Segundo ainda a IN/51, leite cru refrigerado é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, refrigerado e mantido na temperatura máxima de 7°C, na propriedade rural/tanque comunitário, e à temperatura de 10°C no estabelecimento processador.

Por outro lado, leite pasteurizado é o leite fluido elaborado a partir do leite cru refrigerado na propriedade rural, que apresente as especificações de produção, de coleta e de qualidade dessa matéria-prima contidas em Regulamento Técnico próprio e que tenha sido transportado a granel até o estabelecimento processador.

O leite pasteurizado deve ser classificado quanto ao teor de gordura como integral, padronizado a 3% m/m (três por cento massa/massa), semidesnatado ou desnatado, e, quando destinado ao consumo humano direto na forma fluida, submetido a tratamento térmico na faixa de temperatura de 72°C a 75°C (setenta e dois a setenta e cinco graus Celsius) durante 15 a 20s (quinze a vinte segundos), em equipamento de pasteurização a placas, dotado de painel de controle com termo-registrador e termo-regulador automáticos, válvula automática de desvio de fluxo, termômetros e torneiras de prova, seguindo-se de resfriamento imediato em até temperatura igual ou inferior a 4°C (quatro graus Celsius) e envase em circuito fechado no menor prazo possível, sob condições que minimizem as contaminações. Imediatamente após a pasteurização, o produto assim processado deve apresentar teste negativo para fosfatase alcalina, teste positivo para peroxidase e coliformes

30/35°C (trinta/trinta e cinco graus Celsius) menor que 0,3 NMP/mL (zero vírgula três Número Mais Provável /mililitro) da amostra.

A qualidade do leite é definida por parâmetros físico-químicos e microbiológicos. A presença e os teores de proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determina a qualidade química, que, por sua vez, é influenciada pela alimentação, manejo, genética e raça do animal. Fatores ligados a cada animal, como o período de lactação, escore corporal ou situações de estresse também são importantes quanto a esse parâmetro (36).

A qualidade do leite é um tema de maior importância para produtores leiteiros do Brasil. Sabe-se que a principal razão do baixo consumo dos produtos lácteos produzidos é a desconfiança dos consumidores com respeito à qualidade.

Ao levar a matéria-prima a um centro processador ou industrial, o produtor tem o seu leite submetido a testes de avaliação, para verificar a sua qualidade. São efetuadas análises, conforme as normas vigentes, visando garantir produtos com o menor risco possível para a população. A qualidade do leite é definida pelos seguintes critérios. Com relação à composição química, a fração úmida é representada pela água enquanto a fração sólida está representada pelo extrato seco total e extrato seco desengordurado. O extrato seco total é composto pela gordura, açúcar, proteínas e sais minerais (36). Quanto maior esse componente no leite, maior será o rendimento dos produtos (Tabela 1).

O extrato seco desengordurado compreende todos os componentes, exceto a gordura. Por lei, o produtor não pode fazer a remessa dessa fração do leite para a indústria. Apenas as indústrias podem manejá-la, por meio de desnatadeiras, destinando à fabricação de leite em pó, leite condensado, doces, iogurtes e queijos magros. A gordura é o componente mais importante do leite para indústria e esse deve ser de, no mínimo, 3%. Na indústria, a gordura dá origem à manteiga, sendo o seu teor responsável pelo diferencial no preço do leite pago ao produtor.

A água é o maior componente do leite, em volume; há cerca de 88% de água no leite. Se, de alguma forma, água for adicionada ao leite, o peso do produto será alterado sensivelmente. Logo, isso constitui uma fraude. A densidade é a relação entre peso e volume. Assim, um litro de leite pesa de 1,028 a 1,033 gramas. Abaixo ou acima desse intervalo, o leite pode ter a sua qualidade comprometida e ser recusado pelas indústrias. Deve-se considerar que um leite com um alto teor de gordura, como por exemplo, acima de 4,5%, terá provavelmente uma densidade abaixo de 1,028 gramas. Para evitar fraudes por aguagem, a densidade do leite é medida, diariamente, na indústria. Os parâmetros físicos estão listados na tabela 2.

Tabela 1: Composição média, em percentual, do leite

Componentes Principais	Composição Média
Água	87,0%
Sólidos Totais	13,0%
Gorduras	3,9%
Proteínas	3,4%
Lactose	4,8%
Minerais	0,8%

Fonte: lacteabrasil, 2010 (37)

Tabela 2 . Composição percentual média do leite bovino

Componente	Composição (%)
Proteína Total	3,50
Caseínas	2,80
Proteínas do soro	0,67
Alfa-lactalbumina	0,13
Beta-lactoglobulina	0,34
Soro-albumina	0,04
Imunoglobulinas	0,07
Lactoferrina	Traços

Continua

Componente	Composição (%)
Lisozima	Traços
Nitrogenio não protéico	0,18
Carboidratos	4,90
Lactose	4,80
Oligossacarídeos	0,10
Lipídios	3,70
Triglicerídeos	3,60
Outros	0,10

Fonte: lacteabrasil, 2010 (37)

A composição do leite tabela 3, é muito variável, sendo que os principais fatores que interferem nessa variação são:

- raça: altera principalmente o teor de gordura e proteína;
- variação entre ordenhas: varia porcentagem da gordura;
- variação durante a ordenha: também afeta o teor de gordura;
- variação para os diferentes quartos do úbere: o úbere é dividido em quatro câmaras, a produção e a composição podem variar entre os quartos;
- variação de acordo com o período de lactação;
- influência das estações do ano;
- influência dos alimentos ingeridos pela vaca e seus níveis nutricionais;
- efeito da temperatura ambiente: entre -1 e 23°C, não há variação, mas fora desta faixa, podem haver influências; sanidade do animal;
- idade da vaca (37)

Tabela 3: Refrigerado Composição e Requisitos físico-químicos e Microbiológicos do Leite

Item de Composição	Requisito
Gordura (g/100 g)	Min. 3,0
Acidez, em g de ácido láctico/100 mL	0,14 a 0,18
Densidade Relativa, 15/15°C, g/mL	1,028 a 1,034
Índice Crioscópico máximo	0,530°H (-0,512°C)
Índice de Refração do Soro Cúprico a 20°C	Mín. 37° Zeiss
Sólidos Não-Gordurosos(g/100g):	Min. 8,4
Proteína Total (g/100 g)	Min. 2,9
Redutase (TRAM)	mín. 3:30h
Estabilidade ao Alizarol 72% (v/v)	Estável
Contagem Padrão em Placas (UFC/mL)	máx. 5x10 ⁵
Contagem de Células Somáticas(CS/mL):	máx. 6x10 ⁵

Fonte: Mapa IN-51, 2002 (19)

3.4. Garantia de Qualidade e Avaliação do Risco

Do ponto de vista do controle de qualidade, o leite e os derivados lácteos estão entre os alimentos mais bem monitorados, principalmente devido à importância que representam na alimentação humana e à sua natureza perecível. Os parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do leite fluido são praticamente os mesmos nos diversos países, havendo pequena variação entre os valores permitidos e/ou tipos de testes empregados.

De modo geral, são avaliadas características físico-químicas e organolépticas, como sabor e odor, e são definidos parâmetros microbiológicos para contagem de bactérias, ausência de micro-organismos patogênicos, contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos, pesticidas ou outras drogas (38).

O controle da qualidade tem início com a obtenção da matéria-prima, armazenamento, transporte até a plataforma de recepção da indústria. Nessa ocasião, algumas análises obrigatórias são feitas para avaliação da qualidade higiênico-sanitária do leite: acidez, prova do álcool-alizarol, prova de redutase do azul de metileno e contagem total de bactérias.

A presença de micro-organismos patogênicos nos alimentos é resultante de uma complexa interação de fatores que envolvem o patógeno em si e o alimento que irá veiculá-lo, que podem atuar para amplificar ou atenuar a contaminação e os níveis de multiplicação destes micro-organismos.

Entre estes fatores, pode-se citar o processamento, a distribuição, o consumo e a imunidade da população (11, 39, 40, 41, 42). Portanto, para garantir segurança microbiológica aos alimentos deve-se atuar em todas as fases, minimizando os níveis iniciais de contaminação, prevenindo ou limitando o potencial de multiplicação e eliminando os micro-organismos indesejáveis (40, 41, 43). Os micro-organismos patogênicos podem contaminar o leite em qualquer uma das etapas de produção, beneficiamento, distribuição e consumo. Práticas inadequadas de manejo na ordenha, higienização deficiente de equipamentos em sala de ordenha, armazenamento e conservação inadequada, higienização deficiente de equipamentos de beneficiamento, dentre outros fatores, podem tornar o leite susceptível à contaminação por patógenos, ou não. Ainda não devem ser desprezados os cuidados com a sanidade do rebanho, incluindo vacinações periódicas, controle de parasitas e doenças e alimentação (44).

Pasteurização ineficiente, conservação e transporte do produto final em condições inadequadas permitem a sobrevivência de patógenos, uma vez que as condições em que se obtém o leite permitem o desenvolvimento de um ambiente ideal para a multiplicação desses micro-organismos (14). Isso significa que qualquer patógeno presente no leite cru pode potencialmente contaminar o ambiente da linha de produção e processamento de leite e derivados (45).

A pasteurização, ou outro tratamento térmico, objetiva a destruição de todos os micro-organismos patogênicos e a presença destes no leite pasteurizado se constitui num indicativo de contaminação pós-pasteurização ou em falhas no processo (14, 46). Queijos frescos produzidos com leite não pasteurizado mantêm, ou até concentram a microbiota da matéria-prima, inclusive os possíveis patógenos (47).

O conhecimento do comportamento e fisiologia dos micro-organismos é importante no controle da multiplicação bacteriana em alimentos. Para que esse controle ocorra de forma ideal, é necessária uma sistemática compilação de dados relativos ao comportamento dos micro-organismos nos alimentos (41). Além disso, é necessária a educação dos manipuladores e dos consumidores quanto aos perigos e como evitá-los para que se obtenha sucesso na implantação de práticas higiênicas que possibilitem um melhor controle destes micro-organismos. Alimentos sempre representarão algum risco biológico, porém a indústria de alimentos possui como meta manter esse nível de risco em taxas mínimas garantindo a saúde do consumidor (48).

A partir de 1995, os riscos associados ao consumo de alimentos contendo micro-organismos prejudiciais à saúde humana passaram a ser analisados sob uma nova óptica, denominada avaliação de risco microbiológico (*Microbiological Risk Assessment - MRA*).

Esse novo conceito surgiu quando a Organização Mundial de Comércio (OMC) estabeleceu o Acordo Sanitário e Fitossanitário, conhecido internacionalmente como *World Trade Organization/Sanitary and Phytosanitary Agreement (WTO/SPS)*, (49).

Esse acordo especifica que a decisão sobre a segurança de um alimento para consumo humano e sobre sua adequação para o comércio internacional deve estar baseada em dados científicos e em uma avaliação de risco. A OMC baseia-se no *Codex Alimentarius* para definir o que é segurança de um alimento e para

especificar como a avaliação de risco deve ser realizada, uma vez que o *Codex Alimentarius* é o organismo internacional para a regulamentação e definição das exigências de qualidade e segurança (inocuidade) de alimentos (50; 51).

Segundo o *Codex Alimentarius*, a avaliação de risco (*risk assessment*) é apenas um dos componentes da chamada Análise de Risco (*risk analysis*), que é formada por mais dois componentes, a gestão de risco (*risk management*) e comunicação de risco (*risk communication*) (51, 52).

Para uma avaliação de risco, deve-se caracterizar claramente o que significa risco, que difere de perigo. De acordo com o *Codex Alimentarius*, perigo (*hazard*) é o agente que pode causar um efeito adverso à saúde; nesse caso, incluem-se os perigos biológicos, químicos e físicos. Por outro lado, risco corresponde à combinação entre a probabilidade de ocorrer um efeito adverso à saúde em consequência da existência de um perigo no alimento e a gravidade desse efeito adverso (49).

Dessa forma, para uma adequada avaliação de risco associado à ingestão de um alimento é necessário identificar e caracterizar o(s) perigo(s) presente(s) nesse alimento, bem como caracterizar o(s) *risco(s)*.

Caracterizados os riscos, é necessário gerenciá-los, o que pode ser feito por meio de adoção de ferramentas de segurança alimentar, Boas Práticas de Agricultura, Boas Práticas de Fabricação, Procedimentos Operacionais Padronizados e o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), ou ainda, programas de orientação da população possivelmente envolvida.

Fechando o ciclo, está a comunicação dos riscos, que compreende a troca de informações entre todos os envolvidos em uma análise de risco, ou seja, avaliadores de risco, gerenciadores de risco, industriais, importadores, consumidores, (39, 40, 42).

A identificação dos perigos é um conceito familiar na indústria de alimentos. Inicialmente é necessário determinar quais são os perigos existentes. Caso o objetivo da identificação seja um patógeno, dados epidemiológicos devem ser utilizados para identificar se a transmissão via alimentos é importante na etiologia da doença e quais alimentos são mais frequentemente implicados.

Caso o objetivo seja referente a um alimento específico, os dados epidemiológicos devem ser utilizados para determinar quais patógenos são, ou podem ser ou estar, associados ao produto. Porém, em ambos os casos, a chave da caracterização do risco é determinar a ocorrência e os níveis de contaminação dos micro-organismos patogênicos no alimento estudado (49).

O segundo passo da avaliação do risco é a estimativa da probabilidade que o micro-organismo patogênico caracterizado tem de ser ingerido pelo consumidor. Devido a isso, apenas a determinação da presença ou ausência do patógeno no alimento não é suficiente, uma vez que é necessária a estimativa da quantidade do micro-organismo que o consumidor pode ingerir. Para isso, três tipos de informações são importantes: quantidade do patógeno no alimento cru, o efeito do processamento na letalidade do patógeno e as formas de consumo (49).

É importante lembrar que a resposta que o organismo humano possui frente a diferentes quantidades de patógenos é variável, dependendo da sua virulência, da quantidade de micro-organismos ingerida, do estado imunológico do consumidor e das características próprias do alimento que podem influenciar no comportamento do consumidor (49).

A caracterização do risco é a interação entre as avaliações de exposição e de dose resposta, que permitem a estimativa da probabilidade dos consumidores estarem sujeitos à infecção, morbidade, mortalidade ou qualquer outra resposta biológica, frente ao risco inicialmente caracterizado (49).

Pelo exposto, para uma análise de risco são necessários dados confiáveis sobre o perigo potencial associado com o alimento, com as formas de controle do processo em todas as etapas da cadeia, desde a produção primária até o consumo, ou seja, do campo até a mesa do consumidor (53).

Além desses, são ainda necessários dados epidemiológicos sobre a ocorrência de doenças de origem ou de transmissão alimentar, gravidade, custos e dificuldades clínicas de tratamento (51). Visto que esses dados são de difícil obtenção, mesmo em países desenvolvidos, recorrem-se a modelos matemáticos e simulações para estimar os riscos, baseados na carga microbiana inicial em um alimento, na redução dessa carga em decorrência do processamento industrial e nas condições de armazenamento desde o processamento até o momento do consumo (41).

Até o momento, já foram realizadas e publicadas várias análises de risco, realizadas principalmente pelo comitê da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), Organização Mundial da Saúde (WHO), pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) e pela *Food and Drug Administration* (FDA). Tais publicações se referem à *Salmonella Enteritidis* em ovos inteiros, *Salmonella spp.* em aves e ovos rachados, *L. monocytogenes* em alimentos prontos para consumo e em queijos elaborados com leite cru, *Vibrio parahaemolyticus* em frutos (crus) do mar, *Escherichia coli* O157:H7 em carne moída e *Campylobacter spp.* em aves.

A avaliação de risco pode ser realizada em diferentes níveis de inocuidade alimentar e objetiva controlar os perigos de forma contínua e, conseqüentemente, reduzir os riscos. Medidas de controle são tomadas nos pontos críticos do processo para prevenir ou eliminar um perigo ou para reduzi-lo a um nível aceitável.

Por sua vez, a Análise de Risco é um procedimento de compilação e análise de dados, de forma objetiva, sistemática e transparente, visando a estimativa de riscos. O sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC) se

aplica a um determinado produto, produzido em uma determinada linha de processo, comercializado e consumido em condições específicas. A Análise de Risco normalmente é feita por agências governamentais para todos os produtos similares disponíveis no mercado (50).

No Brasil, avaliações de risco são difíceis de serem realizadas devido à escassez de dados, principalmente os epidemiológicos. Recentemente, observa-se um grande esforço do Ministério da Saúde, e em especial das Secretarias de Saúde Estaduais e Municipais, no sentido de monitorar de maneira mais eficiente os surtos de origem alimentar que ocorrem no país, além de compilar e disponibilizar os dados observados.

Os dados relativos aos perigos, ou seja, os micro-organismos patogênicos de relevância nos diversos alimentos, também são inadequados, pois eles necessitam ser quantitativos. Informações sobre presença ou ausência de patógenos não são suficientes para uma avaliação de risco quantitativa, sendo necessários os níveis de contaminação com micro-organismos caracterizados como perigos.

A avaliação de risco pode ser realizada em diferentes níveis de detalhamento, dependendo do alimento bem como do perigo. A análise qualitativa do risco pode, de forma geral, identificar os perigos mais importantes e os pontos do processamento que estes aparecem (53), porém, apenas a quantificação desses riscos permitirá estimar a sua importância em saúde pública. Por fim, a avaliação do risco deve ser completa e sistematicamente documentada, revelando todos os dados obtidos em relação à importância que o risco estudado possui (52).

3.5 Qualidade do Leite Produzido no Brasil

O tipo de produção que ocorre na maioria das propriedades leiteiras no Brasil, com pouca tecnologia, controle sanitário dos animais e higienização deficientes, gera leite sabidamente de qualidade imprópria. Um dos principais parâmetros de

qualidade afetados é o microbiológico, uma vez que o leite produzido em condições inadequadas de higiene e sanidade possui alta população bacteriana, comprometendo-o do ponto de vista tecnológico, de vida de prateleira e de segurança alimentar. Leite com qualidade microbiológica imprópria gera produtos com qualidade imprópria, revelando a importância da qualidade da matéria-prima quer no beneficiamento, quer no processamento.

A qualidade microbiológica do leite cru produzido em várias regiões do país já foi amplamente discutida (44, 54 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61), os resultados indicam a predominância de altas contagens de aeróbios mesófilos e de coliformes, que são indicativos de contaminação durante o processamento e armazenamento.

Também é relatada a presença de micro-organismos psicotróficos, que são deteriorantes e produtores de enzimas que comprometem a qualidade do produto, após processamento (62, 63, 64, 65). Esses micro-organismos, que se incorporam ao leite devido à higienização inadequada nas etapas de produção, e, durante o armazenamento em temperaturas de refrigeração não controladas, têm a oportunidade de se multiplicar e causar deterioração no leite (59, 66).

Também é relatada frequentemente a presença de coliformes totais e fecais, os últimos originados de matéria fecal que podem estar presentes também no ambiente e contaminar o leite. Os coliformes, além de serem indicadores de higiene de produção, também podem produzir uma série de enzimas que comprometem a qualidade dos derivados a que o leite cru é destinado.

Como a qualidade da matéria-prima afeta a qualidade dos produtos, no Brasil, é comum se identificarem problemas de natureza microbiológica, independentemente do tipo do leite A, B ou C. Além disso os problemas mencionados em relação ao leite cru são mantidos no produto beneficiado porque o processo não ocorreu de forma satisfatória, não reduzindo a população dos micro-organismos deteriorantes e não eliminando os patogênicos (59, 61, 66, 69). Ou

ainda, muitos autores já relataram a contaminação após o processo de pasteurização (70, 71, 72).

Questões em relação à qualidade do leite cru geram várias dificuldades na indústria, como rendimento na fabricação de queijos, pouca durabilidade de leite pasteurizado, problemas tecnológicos em leites esterilizados, além dos perigos à saúde pública (47, 73, 74, 75), além de outros riscos provenientes de resíduos de substâncias químicas, como antibióticos e pesticidas (4, 67, 76, 77, 78, 79).

3.6. Zoonoses, infecções e intoxicações transmitidas pelo leite

O controle das doenças ou infecções naturalmente transmissíveis entre os animais vertebrados e os seres humanos assenta-se no emprego, racional e integrado, de recursos profiláticos dirigidos para os elos mais vulneráveis da cadeia.

Em algumas ocasiões o leite comporta-se como importante substrato para veicular micro-organismos patogênicos de animais infectados aos seres humanos. Em outras, a despeito de ser produzidos por animais saudáveis, a contaminação se instala durante as etapas de processamento, envase, transporte e comercialização do produto a partir de micro-organismos que persistem viáveis no ambiente em ausência de parasitismo (82).

A despeito de serem disponíveis na atualidade procedimentos tecnológicos desenvolvidos para assegurar o fornecimento de leite isento de micro-organismos patogênicos para os consumidores, tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, ainda são registrados com frequência casos de seres humanos acometidos por zoonoses veiculadas pelo leite e derivados (82).

Algumas infecções como a brucelose e a tuberculose zoonótica são quadros sistêmicos relatados desde a descrição original como zoonoses clássicas transmitidas ao homem pelo leite e derivado. No entanto a listeriose alimentar é uma

manifestação de registro recente considerada, sob tal forma, como zoonose emergente(82).

Dentre os quadros caracterizados por surtos abruptos de transtornos localizados no trato gastro-intestinal, toxi-infecção de origem alimentar, a intoxicação alimentar estafilocócica é uma zoonose clássica e as provocadas pelo *Bacillus cereus* e *Campylobacter jejuni* são tidas como emergentes.

Os avanços recentes nos campos da biologia molecular e da epidemiologia analítica, com determinação de fatores de risco têm possibilitado o aprimoramento das estratégias de controle das zoonoses. As perspectivas para o sucesso dos programas de saúde pública veterinária são promissoras. A consciência da necessidade da somatória de esforços entre a iniciativa privada e os serviços públicos tem se fortalecido (82).

Dentre as zoonoses sistêmicas transmitidas aos seres humanos pela ingestão de leite ou produtos lácteos, a brucelose, a tuberculose e a listeriose merecem destaque.

3.6.1 Brucelose e tuberculose

Em 1886, Bruce isolou o micro-organismo que causava a doença chamada de *Febre Recorrente* que acometia os soldados britânicos lotados na base naval inglesa da Ilha de Malta, no Mediterrâneo. De imediato o quadro foi associado a ingestão do leite de cabra e posteriormente este micro-organismo foi denominado de *Brucella melitensis*. Nos anos subsequentes as brucelas foram isoladas de outras espécies de animais, incluindo os bovinos *Brucella abortus* e os suínos, *Brucella suis*. No Brasil a *Brucella melitensis* ainda não foi registrada.

A presença de brucelas no leite de vacas infectadas pode ocorrer tanto no caso do comprometimento da glândula mamária, mastite brucélica, como também

pela persistência do micro-organismo nos gânglios retromamários, com consequente eliminação intermitente através do leite (82).

A resistência das brucelas no leite e produtos lácteos tem sido investigada em condições controladas. No leite produzido por vacas naturalmente infectadas houve sobrevivência por 38 dias, à temperatura de 15°C (83).

Nos produtos lácteos elaborados com a gordura do leite de vacas brucélicas tais como a manteiga conservada à temperatura de 8 °C, as brucelas permanecem viáveis por 40 dias (83). Em produtos lácteos manufaturados com leite experimentalmente contaminado por *Brucella abortus* foram constatados micro-organismos viáveis por 69 dias, em iogurte mantido à temperatura de 4°C (83) e por 57 dias em queijo do tipo Camembert (83). A pasteurização e a fervura do leite são eficientes para a destruição de micro-organismos do gênero *Brucela* (83).

A partir de 2001, o Brasil implantou o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose Bovina que pretende eliminar os prejuízos causados por esta zoonose (84).

A brucelose em seres humanos, no Brasil, usualmente é apresentada como zoonose ocupacional, acometendo tratadores de animais, revelando associação com a manipulação de produtos de aborto ou vísceras de animais infectados. Contudo o hábito da ingestão do leite cru ou de produtos lácteos fabricados com leite cru ainda existe, e é provável que uma parcela de casos não esteja sendo diagnosticada.

Em 1810, Carmichael constatou que a tuberculose dos gânglios linfáticos cervicais ocorria mais em crianças alimentadas com leite bovino que nas mantidas com leite materno. Esta suspeita foi fortalecida com o isolamento do bacilo da tuberculose por Koch em 1882.

Na Europa a pasteurização compulsória do leite determinou grande redução na frequência de casos de tuberculose do trato digestivo em habitantes das cidades (85). Na Inglaterra no período de 1977 a 1990 a proporção de casos de tuberculose

em humanos por bacilo do tipo bovino variou de 0,48% a 1,22%. No Brasil há o registro de sete casos de tuberculose em seres humanos por *Mycobacterium bovis*, todos em crianças; cinco sob a forma pulmonar e dois com comprometimento renal (86). Como no Brasil, a rotina oficial empregada para o diagnóstico laboratorial da tuberculose em seres humanos não prevê o emprego de meios de cultivo que permitam o desenvolvimento do *Mycobacterium bovis* é provável que o número de casos seja subestimado.

A pasteurização e a fervura do leite inativam o *Mycobacterium bovis* (83), no entanto, em produtos lácteos produzidos com leite originário de vacas naturalmente infectadas ou experimentalmente contaminados o micro-organismo se manteve em condições de desenvolvimento por 153 dias em manteiga, 47 e 62 dias em queijos, respectivamente, dos tipos Camembert, e Cheddar e 14 dias no iogurte (83). Na atualidade, no Brasil a tuberculose bovina também está incluída no Programa Nacional de Controle e Erradicação (84).

3.6.2 Micro-organismos veiculados pelo leite

Os alimentos podem ser veículos de transmissão de diversos micro-organismos e metabólitos microbianos. Segundo sua procedência mais frequente é possível agrupar estes micro-organismos como de origem endógena, estando presente nos alimentos antes de sua obtenção. E, de origem exógena, quando chegam aos alimentos durante sua obtenção, transporte, industrialização e conservação.

A microbiota dos alimentos consiste de micro-organismos associados com materiais crus, àqueles adquiridos durante o manuseio e processamento, e aqueles sobreviventes de tratamento de preservação e estocagem e contaminam os alimentos em qualquer estágio da cadeia produtiva (71).

Quando o leite é proveniente de animais sadios e obtidos em condições higiênicas adequadas, o número de micro-organismo é pequeno, sendo predominantes *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*, além de lactobacilos saprófitas do úbere e canais galactóforos (87).

Normalmente, a microbiota de contaminantes é composta por bactérias (LIMA, 1998). Dentre tais contaminantes estão as bactérias lácticas, *Coliformes*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, esporos de *Clostridium* e bastonetes Gram-negativos (17). Em condições adequadas de manipulação e armazenamento, predomina a flora gram-positiva (88).

As bactérias mesófilas incluem um grupo de micro-organismos capazes de se multiplicar numa faixa de temperatura entre 20°C e 40°C, tendo uma temperatura ótima de desenvolvimento igual a 32°C (89). Esse grupo é importante, por incluir a maioria dos contaminantes do leite, tanto deterioradores como patógenos.

Assim, as bactérias mesófilas são consideradas como 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 (88, 90).

Contagens microbianas de mesófilos acima de 10^6 UFC¹/ml no leite pasteurizado podem indicar uma matéria-prima excessivamente contaminada ou permanência em temperatura imprópria, manipulação inadequada, equipamentos não higienizados e pasteurização deficiente (91).

As bactérias termófilas são definidas como aquelas cuja temperatura ótima de desenvolvimento situa-se entre 55°C e 56°C, como máximo, para algumas espécies, podendo atingir entre 75°C e 90°C e o mínimo em torno de 35°C. O leite cru, normalmente, contém poucas bactérias termófilas, embora com capacidade de se desenvolverem no leite quando mantido a temperaturas elevadas, podendo atingir

¹ UFC – sigla que se usa em microbiologia para expressar o número de células viáveis ou de unidades formadoras de colônias em uma suspensão. Os métodos de contagem de colônias em placas ancoram-se no princípio de que, sendo a diluição e o semeio em placas bem feitos, cada colônia surgida é originária de uma única célula viável.

uma grande população no produto. Essas bactérias constituem problema no leite pasteurizado quando algumas porções são mantidas, por algum tempo, entre 50°C e 70°C (69).

O termo psicotrófico tem confundido os microbiologistas desde o começo do século XX e organismos psicrófilos facultativos, tolerantes ao frio ou psicotolerantes são termos empregados como sinônimos (92). De acordo com as normas da *International Dairy Federation*, os psicotróficos foram definidos como sendo os micro-organismos que podem crescer a 7°C ou menos, independentemente da temperatura ótima de desenvolvimento (93).

Esse grupo é extremamente importante em produtos que são 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. Tem-se observado que um grande número de espécies, considerado restritamente mesófilo, já está sendo incluída também entre os psicotróficos (69, 94).

A refrigeração do leite após a ordenha e sua conservação em baixas temperaturas (4°C), condiciona o desenvolvimento da microbiota e pode impedir o desenvolvimento de micro-organismos mesófilos. Quando aplicada logo após a obtenção do leite, tem ampliado consideravelmente o período de tempo em que se armazena o leite até sua pasteurização, ocasionando uma redução no número de bactérias mesófilas, embora possa se observar um desenvolvimento de micro-organismos psicotróficos, que posteriormente podem causar perdas econômicas (94, 95).

Os micro-organismos psicotróficos encontrados no leite são em sua maioria Gram-negativos², provenientes do meio ambiente e equipamentos de ordenha. Os

² A técnica ou coloração de Gram é uma técnica de coloração de preparações histológicas para observação ao [microscópio ótico](#), utilizada para corar diferencialmente [microorganismos](#)

Gram-positivos também estão presentes, porém em menor quantidade. Os psicrotróficos Gram-positivos mais frequentes no leite cru resfriado pertencem ao gênero *Micrococcus*, *Bacillus* e *Arthobacter*. 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, suas enzimas proteolíticas e lipolíticas são termorresistentes e promovem alterações físicas e organolépticas no leite e seus derivados mesmo após o tratamento térmico (94, 96, 97).

O micro-organismo psicrotrófico encontrado com maior frequência em leite refrigerado cru e pasteurizado é do gênero *Pseudomonas*, por apresentar melhor capacidade de desenvolvimento em ambiente refrigerado do que outras bactérias Gram-negativas (98, 99).

Em um estudo para avaliar a frequência de psicrotróficos em leite e ambiente de ordenha observou-se que em leite cru 81,62% dos mesófilos são micro-organismos psicrotróficos 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 de 10% a 20% da microbiota isolada de leite cru estocado entre 5°C – 7°C (97, 100, 101).

Os coliformes estão muito difundidos e podem ser detectados em vários tipos de alimentos, mas não indicam, necessariamente, uma contaminação de origem fecal, no sentido de envolver contato direto ou indireto com fezes. A presença destes micro-organismos em leites crus é frequentemente atribuída às práticas precárias de higiene durante a ordenha e nas etapas subsequentes (102).

com base na composição química e integridade da sua [parede celular](#). Consoante a cor que adquirem, são classificados em *gram positivos* (roxo) ou *gram negativos* (vermelho). Geralmente as bactérias de gram negativo são patogênicas, possuindo ainda lipopolissacarídeos na sua membrana exterior, que agravam a infecção.

Testes para organismos coliformes em leite têm a finalidade de avaliar as condições sanitárias de produção, determinar a presença de infecção do úbere causada por certas espécies deste grupo e também avaliar a eficiência da pasteurização, já que o grupo de micro-organismos coliformes totais e fecais é considerado indicador das condições higiênicas da produção e beneficiamento do leite pasteurizado (103).

A utilização do grupo coliforme como indicador das condições higiênicas sanitárias em alimentos é prática estabelecida há muitos anos. Dos agentes bacterianos, os coliformes são internacionalmente considerados micro-organismos indicadores da segurança microbiológica de alimento (80, 91, 104, 105, 106).

Além dos patógenos tradicionais, a literatura relata a existência de outros patógenos também associados a leite e derivados como o *Clostridium perfringens*, cujos esporos são termorresistentes e cuja toxina termolábil, é formada durante a esporulação no trato intestinal. Mas deve-se observar que a dose infectiva neste caso é alta $4,0 \times 10^9$. O Anexo 1 mostra outros exemplos.

O grupo dos coliformes totais compreende principalmente os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, originários do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue quente, como também diversos gêneros e espécies de bactérias não entéricas (107).

O grupo de micro-organismos coliformes totais é restrito ao trato gastrointestinal de humanos e animais homeotérmicos. Este grupo inclui bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas, Gram-negativas, não esporogênicas, com capacidade de fermentar a lactose com produção de gás num período de 48 horas a 35°C (106, 108).

Os coliformes fecais também são coliformes totais que continuam fermentando a lactose com produção de gás quando incubados a 44°C – 45,5°C (108). Neste grupo, são incluídas além da *Escherichia coli*, espécies de *Enterobacter*

e *Klebsiella*, embora algumas cepas dos gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella*, podem não ter origem entérica (109).

No grupo dos coliformes fecais, a *Escherichia coli* é a melhor indicadora de contaminação fecal direta ou indireta conhecida até o momento. Nas fezes humanas e de animais, cerca de 95% dos coliformes existentes são *Escherichia coli* (109, 74). A presença dessa bactéria tem um significado importante, uma vez que existem linhagens patogênicas, com base nos fatores de virulência, manifestações clínicas e epidemiológicas para o homem e animais (89).

No leite e derivados, os estafilococos isolados são anaeróbicos facultativos com maior desenvolvimento sob condições aeróbicas. São bactérias mesófilas apresentando temperatura de desenvolvimento na faixa de 7°C a 47,8°C, mas as enterotoxinas são produzidas entre 10 e 46°C, com ótimo entre 40°C e 45°C. (89, 106).

O gênero *Staphylococcus* é composto por cerca de 27 espécies, e algumas são frequentemente associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista, em seres humanos e animais. Entre elas se destacam, em patologia humana, as espécies: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus* e *Staphylococcus haemolyticus*. Tradicionalmente, os estafilococos são divididos em duas categorias: coagulase positivos e coagulase negativos. Essa divisão é baseada na capacidade de coagular o plasma sanguíneo, que é uma propriedade considerada, há muito tempo, como importante marcador de patogenicidade dos estafilococos. Entre os coagulases positivos, *Staphylococcus aureus* representa a espécie geralmente envolvida em infecções humanas. (110).

Staphylococcus aureus é o agente mais comum de infecções patogênicas, além de causar vários tipos de intoxicações, seja na vigência de um processo infeccioso ou não. Este micro-organismo pode ser encontrado em várias partes do corpo, como fossas nasais, garganta, intestinos e pele. O número de portadores

nasais do germe varia de 30% a 50% sendo mais elevado entre as pessoas que trabalham em hospitais (110).

É o principal agente responsável pela intoxicação estafilocócica, que ocorre devido à ingestão de alimentos que apresentam toxina pré-formada. Essas toxinas são chamadas enterotoxinas, sendo conhecidas cinco imunologicamente distintas - A, B, C, D e E, (89). As enterotoxinas estafilocócicas apresentam também a propriedade de termorresistência, o que constitui ponto crucial em controle de qualidade de alimentos, uma vez que a enterotoxina pode persistir no produto final, após o processamento térmico (111).

A dose tóxica mínima, em experimentos conduzidos com voluntários humanos, foi relatada como sendo 0,05µg/Kg, (3,5µg/homem de 70Kg), dose esta suficiente para provocar vômito e diarreia (111).

A contagem de *S. aureus* em alimentos pode ser feita com dois objetivos diferentes, um relacionado com a saúde pública, para confirmar o envolvimento em surtos de intoxicação alimentar e outro relacionado com o controle da qualidade higiênico-sanitária dos processos de produção de alimentos, condição que o *S.aureus* serve como indicador de contaminação pós-processo ou das condições de sanificação das superfícies destinadas ao contato com os alimentos (107).

A prevalência desta bactéria nas amostras de produtos lácteos, além de sugerir um processamento realizado fora dos padrões de Boas Práticas de Fabricação, também pode indicar baixa qualidade do leite empregado, podendo até ser proveniente de animais com mastite, já que o *S. aureus* é o agente etiológico desta doença (112, 113, 114), bem como o baixo nível sócio-econômico dos ordenhadores, que são, muitas vezes portadores assintomáticos de *S. aureus* e não possuem hábitos adequados de higiene (115). Esse microrganismo pode representar risco à saúde do consumidor quando não há pasteurização e nem padrões adequados do leite e seus derivados (116, 117).

O *S. aureus* é causador de intoxicação alimentar freqüentemente encontrado em queijos e produtos de laticínios. Além disso, as enterotoxinas estafilocócicas também ocorrem em certa freqüência em produtos lácteos e, portanto, representam um problema de saúde pública pelo risco de causar intoxicação alimentar (118).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriae* (119). São organismos mesófilos, com ótimo de multiplicação no intervalo de 35°C a 37°C, evidenciando certo desenvolvimento na faixa entre 5°C e 47°C, embora a velocidade de desenvolvimento deste seja sensivelmente reduzida abaixo de 10°C (120, 121, 122).

A preocupação com *Listeria monocytogenes* como agente de doença de origem alimentar é mais recente. Esta bactéria é importante pela alta taxa de mortalidade de pessoas com deficiência em seus sistemas imunológicos (123). Os fetos são altamente susceptíveis e casos de aborto são complicações frequentes de listeriose. A bactéria é altamente disseminada em solos, vegetação e fezes de animais, portanto um contaminante comum de alimentos crus. *Listeria monocytogenes* é psicrotrófica, capaz de se multiplicar a 1°C, proliferando com facilidade em ambientes de processamento frios e úmidos.

Os casos de listeriose humana costumavam ser esporádicos, porém em 1981, no Canadá houve o primeiro surto epidêmico, com 41 casos e 18 mortes. A investigação epidemiológica do evento demonstrou associação com a ingestão de salada de repolhos proveniente de plantação adubada com o esterco das ovelhas de um rebanho acometido por listeriose (124).

Em 1983, nos Estados Unidos da América (EUA) foi registrada a segunda epidemia de listeriose com 49 casos e 14 mortes. O rastreamento epidemiológico indicou associação com a ingestão de leite pasteurizado (124).

Em 1985, também nos Estados Unidos da América (EUA) surgiu o terceiro foco epidêmico de listeriose com 142 casos e 46 mortes, o alimento responsável foi queijo do tipo Mexicano, preparado com leite contaminado (124).

Em todas as epidemias de listeriose com casos sistêmicos fatais o micro-organismo responsável foi a *Listeria monocytogenes* sorotipo 4b (124), contudo surtos mais brandos caracterizados por gastroenterite e febre foram atribuídos ao sorotipo 1/2b ingerido com leite achocolatado contaminado (125).

Fora do continente americano houve epidemias de listeriose em seres humanos na Dinamarca, 1985, na Suíça, em 1987 e na França, em 1992. Dentre os alimentos como responsáveis por tais surtos houve associação com a ingestão de queijos (124).

A capacidade da pasteurização do leite destruir a *Listeria monocytogenes* passou a ser questionada em função dos ensaios experimentais efetuados até então não terem reproduzidos a condição intracelular observada nos casos naturais, em que as listérias são eliminadas pelo leite no interior de macrófagos. Novos experimentos foram realizados corrigindo este viés e a conclusão obtida foi a de que a pasteurização é eficaz, porém os surtos registrados com leite pasteurizado ou produtos lácteos produzidos com leite pasteurizado foram decorrentes de contaminação estabelecida após a pasteurização (126).

No Brasil, até o presente, ainda não foram registrados surtos epidêmicos de listeriose alimentar transmitidos pelo leite ou derivados e o tema permanece como de preocupação para os serviços de vigilância epidemiológica.

Controles são realizados durante a produção para evitar a contaminação do alimento pronto pelo ambiente no momento de manuseio e embalagem. O aumento do número de psicrotóxicos patógenos alimentares como *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Clostridium botulinum* não proteolítico tem exigido maior atenção para a segurança dos alimentos perecíveis refrigerados.

Por esta razão, esses alimentos têm seus períodos de validade reduzidos. Para prolongar o período de validade são empregadas barreiras de segurança do alimento, além da estocagem sob refrigeração.

O principal reservatório do *Staphylococcus aureus* é o próprio ser humano, pois de 30 a 35% de pessoas saudáveis albergam estafilococos na pele e nasofaringe. No entanto, muitos surtos epidêmicos de intoxicação alimentar estafilocócica tem se originado do consumo de leite cru ou de queijos inadequadamente refrigerados procedentes de vacas com mastite por estafilococos (124).

Nos Estados Unidos da América (EUA) em 1988, houve um surto de intoxicação alimentar estafilocócica envolvendo 850 estudantes. O alimento responsável foi leite achocolatado contaminado pelo *Staphylococcus aureus*. Em Israel e na Escócia houve surtos provocados, respectivamente, por leite de cabras e de ovelhas, ambos associados à presença de mastite nestes animais (124).

Na Inglaterra, no período de 1969 a 1990, 8% dos surtos de intoxicação alimentar estafilocócica foram provocados por produtos lácteos. Na França no período de 1999 a 2000, 32% dos casos foram atribuídos ao leite e derivados, particularmente aos queijos. Nos Estados Unidos da América, no período de 1975 a 1982, 1,4% foram atribuídos a ingestão de produtos lácteos (127).

Surtos de intoxicação alimentar estafilocócica associados à ingestão de queijo frescal tem sido registrados no Brasil (114, 128). A presença de *Staphylococcus aureus* tem sido confirmada em leite (128) e (98, 128) em diversos estados brasileiros.

Na maior parte das vezes as estirpes de *Staphylococcus aureus* causadoras de mastites em ruminantes são produtoras de enteroxina, a principal responsável pelas intoxicações alimentares de seres humanos. Leite, creme de leite e sorvetes

podem ser substratos para a multiplicação do *Staphylococcus aureus* com consequente produção de enterotoxina. A pasteurização do leite destrói as bactérias, porém, as toxinas, termoresistentes, persistem ativas (127). As enterotoxinas do *Staphylococcus aureus* não são destruídas durante o processamento e armazenagem do leite em pó, mesmo após anos (83).

A glândula mamária infectada é o principal reservatório do *Staphylococcus aureus*, no entanto os fômites como equipamentos de ordenha, toalhas de ordenha e mãos do ordenhador desempenham importante papel na expansão e persistência da infecção no rebanho (ROBERTSON, 1994).

Durante episódios de mastite por *Staphylococcus aureus* as contagens de células somáticas no leite podem ultrapassar o valor de 10^6 UFC/mL. O monitoramento sistemático das condições de desenvolvimento do *Staphylococcus aureus* nos tanques de armazenagem do leite tem sido proposto à vigilância na infecção nos rebanhos.

A primeira caracterização do *Campylobacter jejuni* como causador de diarreia em seres humanos foi efetuada em 1973, no entanto, nos países desenvolvidos este micro-organismo é tido como patógeno emergente, um dos principais agentes bacterianos responsáveis por enterites e diarreia em seres humanos. Admite-se que de 5 a 14% dos casos de diarreia em todo o mundo sejam provocados pela campilobacteriose (130).

No Canadá, Estados Unidos da América, Inglaterra e Suíça têm ocorrido surtos epidêmicos relacionados ao consumo de leite não pasteurizado ou de produtos lácteos elaborados com leite cru. O acesso do *Campylobacter jejuni* ao leite é atribuído principalmente pela contaminação por matéria fecal, porém, a mastite por *Campylobacter jejuni*, já foi registrada, com menor frequência (124).

A intoxicação alimentar por *Bacillus cereus* descrita em 1995, trata-se de uma doença aguda causada por dois metabólicos distintos. A proteína de elevado peso

molecular (50000 Daltons), termo-sensível é responsável pelo quadro diarréico e a de baixo pelo molecular (5000 Daltons), termo resistente é a causadora do quadro emético.

Uma variedade de alimentos tem sido associada à intoxicação alimentar pelo *Bacillus cereus*, dentre os quais inclui-se o leite. Como o micro-organismo é um agente esporulado a sua presença no leite, usualmente, é conseqüência da contaminação por componentes ambientais.

O *Bacillus cereus* é uma bactéria esporogênica psicotrófica, que pode se multiplicar à temperatura de 7°C ou menos. Micro-organismos com estas características assumem grande importância na higiene alimentar, pois o emprego da refrigeração na cadeia produtiva poderá selecionar este tipo de patógeno.

No Brasil, a multiplicação do *Bacillus cereus* em leite em pó, contaminado após a sua reconstituição foi investigada e demonstrou que quando da conservação em condições inadequadas são atingidos valores capazes de ocasionar intoxicação alimentar (131). Estirpes de *Bacillus sp* isoladas de leite processado em ultra alta temperatura (UHT) produzido no Estado de São Paulo apresentaram patogenicidade para animais de laboratório (132).

3.7. A Legislação atual para o setor lácteo

Tem-se observado, em todo o mundo, um rápido desenvolvimento e aperfeiçoamento de novos meios e métodos de detecção de agentes de natureza biológica, química e física capazes de causar moléstias nos seres humanos e nos animais, passíveis de veiculação pelos alimentos, motivo de preocupação de entidades governamentais e internacionais voltadas à saúde pública.

Ao mesmo tempo, avolumam-se as perdas de alimentos e matérias-primas em decorrência de processos de deterioração de origem microbiológica, infestação por pragas e processamento industrial ineficaz, com severos prejuízos financeiros às indústrias de alimentos, à rede de distribuição e aos consumidores. Em face deste contexto, às novas exigências sanitárias e aos requisitos de qualidade, ditados tanto pelo mercado interno quanto pelos principais mercados internacionais, o governo brasileiro, juntamente com a iniciativa privada, vem desenvolvendo desde 1991 a implantação em caráter experimental do Sistema de Prevenção e Controle, com base no APPCC.

A Portaria 46 de 10 de Fevereiro de 1998 do MAPA instituiu o sistema APPCC que deveria ser implantado gradativamente em estabelecimentos de processamento de produtos de origem animal sob o regime de inspeção do Serviço de Inspeção Federal - SIF (35). Na tabela 4 os instrumentos legais relacionados à segurança alimentar no Brasil.

Tabela 4: Instrumentos legais relacionadas à segurança alimentar no Brasil no período de 1993 a 2004

ANO	MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - ANVISA	MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO - MAPA
1993	Portaria 1428, de 26 de Novembro Aprova o regulamento técnico para inspeção sanitária de alimentos, assim como diretrizes para boas práticas de fabricação/BPF e prestação de serviços na área de alimentos	
1997	Portaria 326, de 30 de Julho, aprova o regulamento técnico: condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industria- lizadores de alimentos.	Portaria 368, de 04 de Setembro aprova o regulamento técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação em estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos. Portaria 370, de 04 de Setembro, aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade do leite UHT.
1998		Portaria 46, de 10 de Fevereiro, institui o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC
2002	RDC 274, de 15 de Outubro Aprova o regulamento técnico sobre limites máximos de aflatoxinas admissíveis no leite, no amendoim e no milho. RDC 275, de 21 de Outubro Dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados - POPs.	Instrução Normativa. 51, de 18 de Setembro, aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade para os leites <i>in natura</i> , pasteurizado tipo A, B e C, assim como para coleta e transporte a granel. Portaria 78, de 19 de Dezembro, aprova os programas para controle de resíduos em carne, mel, leite e pescado para exercício em 2003.
2003		Resolução 10, de 22 de Maio, institui o programa genérico de procedimentos padrão de higiene operacional – PPHO.
2004	Portaria 518, de 25 de Março, estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.	

FONTE: Adaptado de PIRES (2004) (134)

3.7.1 Instrução Normativa nº 51 (MAPA, 2002)

Considerando as evidências sobre a qualidade do leite produzido e consumido no Brasil (59, 60, 61, 72, 111, 135, 136, 137, 138, 140), o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) iniciou, em 1998, uma discussão nacional, envolvendo os setores científicos e econômicos da área leiteira, buscando alternativas que modificassem esse panorama.

Essa discussão resultou na Portaria nº 166 (35), que estabeleceu um grupo de trabalho para analisar e propor um programa de medidas visando o aumento da competitividade e a modernização do setor leiteiro no Brasil. Esse grupo desenvolveu uma versão do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), projeto que já vinha sendo desenvolvido desde 1996, e o submeteu à consulta pública pela Portaria nº 56 (133). A versão definitiva das novas normas de produção leiteira foi publicada na Instrução Normativa nº51 (19) que determina novos procedimentos na produção, identidade e qualidade de leites tipos A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, além de regulamentar a coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel (19).

Outro incentivo à modernização da produção leiteira no Brasil ocorreu em 2003, pela Resolução nº 3088 (141), que aprovou financiamento de equipamentos de resfriamento e coleta a granel para produtores de leite. A principal razão de todas essas medidas foi a necessidade de adequação das normas publicadas no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (34) às atuais condições de produção e consumo de leite no Brasil.

O leite pasteurizado tipo C será extinto em datas determinadas, variável de acordo com a localização geográfica da região produtora (01/07/2005) nas regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste e 07/07/2007 nas regiões Nordeste e Norte. A partir de então, o leite cru refrigerado com os novos padrões de qualidade será destinado ao

beneficiamento de leite pasteurizado, que também possui novos parâmetros de qualidade (19).

Outro importante aspecto descrito na IN51 é a regulamentação para a conservação, coleta e transporte de leite cru refrigerado, a granel, independentemente do tipo. Nas propriedades, o leite cru deverá ser refrigerado e atingir a temperatura de 4°C (tanques de expansão) ou 7°C (tanques de imersão), num período não superior a 3 horas após o término da ordenha. A permissão da utilização de tanques de imersão está sendo considerada como uma medida provisória, para os pequenos produtores poderem se adequar às exigências de conservação.

Outra alternativa para esses produtores é a adoção de tanques resfriadores comunitários, prevista pela IN-51 e que visa atender pequenos produtores. A coleta granelizada é realizada por caminhões-tanque, que coletam o leite refrigerado nas propriedades e o encaminham, em compartimentos isotérmicos, a laticínios para processamento. Na recepção dos laticínios, o leite desses tanques não deverá apresentar temperatura superior a 10°C, independentemente do tipo.

A redução da contagem de células somáticas (CCS) também é um objetivo a ser alcançado, em prazos similares aos estabelecidos para contagem de aeróbios mesófilos. A definição de tais parâmetros representa um importante passo do Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL) que busca a melhoria da qualidade do leite cru produzido no Brasil, resultando num produto final beneficiado de melhor qualidade (63, 65).

Dentre as modificações preconizadas pela IN 51/2002, pode ser citada a permissão de comercialização de leites pasteurizados tipos A e B com diferentes percentagens de gordura (integral, padronizado, semidesnatado e desnatado), visando atender um mercado consumidor cada vez mais crescente. Entretanto, uma das principais alterações diz respeito ao leite tipo C; até então, o leite *in natura* destinado a beneficiamento desse tipo de leite pasteurizado não possuía parâmetros

microbiológicos específicos. De acordo com a IN51/2002, esse leite deve ser refrigerado já na propriedade e possuir uma contagem de aeróbios mesófilos máxima de 10^6 UFC/mL, objetivo a ser atingido em diferentes prazos de acordo com a localização geográfica da região produtora.

Segundo esse instrumento, o controle e monitoramento rotineiro de resíduos microbianos é de responsabilidade dos laticínios ou da indústria captadora. Uma vez por mês o responsável pelos produtos oferecidos ao consumidor deve enviar amostras de leite a um laboratório da rede credenciada ao MAPA para análise de monitoramento oficial.

No Brasil, a IN 51 define o limite máximo de 1 milhão de células somáticas por mililitro (mL) no leite cru a partir de 01 de julho de 2005 para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Esse limite deverá ser reduzido progressivamente, de modo que a partir de 01 de julho de 2008, deverá ser de 750 mil/mL e 400 mil/mL a partir de 01 de julho de 2011. Para as regiões Norte e Nordeste, o requisito de 1 milhão/mL a partir de 01 de julho de 2007. A partir de 2010, o limite máximo aceito será de 750 mil/mL, e a partir de 01 de julho de 2012, de 400 mil/mL (Tabela 5).

Tabela 5: Parâmetros biológicos para leite cru refrigerado a serem atingidos em diferentes regiões do Brasil

Regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste	Até 01/07/2005	De 01/07/2005 até 01/07/2008	De 01/07/2008 até 01/07/2011	A partir de 01/07/2011
Regiões Norte e Nordeste	Até 01/07/2007	De 01/07/2007 até 01/07/2010	De 01/07/2010 até 01/07/2012	A partir de 01/07/2012
Contagem Padrão em Placas	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$7,5 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$ (individual) $3,0 \times 10^5$ (conjunto)

Continua

Regiões Sul, Sudeste e Centro Oeste	Até 01/07/2005	De 01/07/2005 até 01/07/2008	De 01/07/2008 até 01/07/2011	A partir de 01/07/2011
Contagem de Células Somáticas	$1,0 \times 10^6$	$1,0 \times 10^6$	$7,5 \times 10^5$	$4,0 \times 10^5$

Fonte: Instrução Normativa nº 51, (19)

3.8. Cenário da Produção Leiteira do Estado de Rondônia

Para incentivar a produção de leite, no final da década de 1970 o governo estadual instalou dois laticínios – um em Porto Velho e outro em Ouro Preto do Oeste – para beneficiar, inicialmente, leite *in natura*, e mais tarde produzir, queijo e manteiga. Este processo fomentou o surgimento de indústrias de pequeno médio e grande portes, que hoje totalizam 58 empresas. Destas 52 têm o serviço de inspeção federal e 06 empresas possuem o serviço de inspeção estadual; (22).

Para estimular a melhoria da qualidade e produtividade da pecuária leiteira, foi criado pelo Governo do Estado o Programa PROLEITE, que tem como suporte financeiro recursos provenientes da redução do recolhimento de ICMS pela indústria láctea, recursos estes que passam a compor um fundo privado destinado aos pequenos produtores, técnicos e extensionistas do quadro governamental e dos laticínios, aplicados em metodologias de extensão rural dentre tais atividades destaca-se os cursos, palestras, dias de campo e excursões inclusive com acesso às modernas técnicas de melhoramento genético já disponíveis em alguns empreendimentos agropecuários rondoniense: inseminação artificial, transferência de embrião e fertilização *in vitro* “FIV”.

Com o desafio de promover a sua integração, estabelecer o diálogo com o governo do Estado e desenvolver ações que possibilitam a melhoria na produção de leite, e para equacionar a falta de organização e articulação da cadeia foi criada a Câmara do Leite e o Programa de Desenvolvimento da Pecuária Leiteira do Estado de Rondônia - ProLeite.

O setor leiteiro em Rondônia vem se estruturando desde a década de 1970, no final da década de 1990 é que foi criado o Programa de Desenvolvimento da Pecuária Leiteira do Estado de Rondônia (142), o qual foi formalizado pelo Decreto Estadual n. 8.812 de 30.07.1999, oficializando a parceria do Governo do Estado com os demais atores do agronegócio leite.

O Proleite é composto dos seguintes órgãos:

- Secretaria do Estado da Agricultura, Produção e do Desenvolvimento Econômico e Social do Estado de Rondônia (SEAPES);
- Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATER-RO);
- Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia (IDARON);
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA-RO);
- Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC);
- Delegacia Federal da Agricultura (DFA-RO);

Os resultados demonstram um incremento na produção leiteira do Estado. Na década de 1990, a taxa de desenvolvimento da produção de leite no Brasil foi de 3,19% ao ano. Neste mesmo período a taxa em Rondônia foi de 10,6%, a maior taxa de desenvolvimento da Região Norte.

No Estado, existem em todas as regiões, indústrias de laticínios e que, junto a esse segmento, 75% do leite produzido são destinados à indústria, e 25% destinam-se ao consumo *in natura* e fabricação de queijo caseiro. A indústria possui uma

capacidade instalada suficiente para produzir anualmente 48,6 mil toneladas de queijos (22).

A produção do leite em Rondônia atinge níveis significativos, embora mantenha ainda uma média de 3,7 litros/ animal em ordenha. Entretanto, face ao número elevado de produtores, o volume total produzido demonstra resultado satisfatório, o que explica a expansão do número de indústrias, com reflexos no desenvolvimento da oferta de queijos de Rondônia no mercado nacional. No decorrer do ano de 2008, conforme demonstrativo nos boletins da Agência de Defesa Sanitária Agrosilvopastoril do Estado de Rondônia (20), o recebimento de leite nas plataformas dos laticínios atingiu o patamar de 0.741bilhão de litros/ano, da produção do Brasil de 26.1 bilhões litros/ano, corresponde a 2,83%, figura 2:

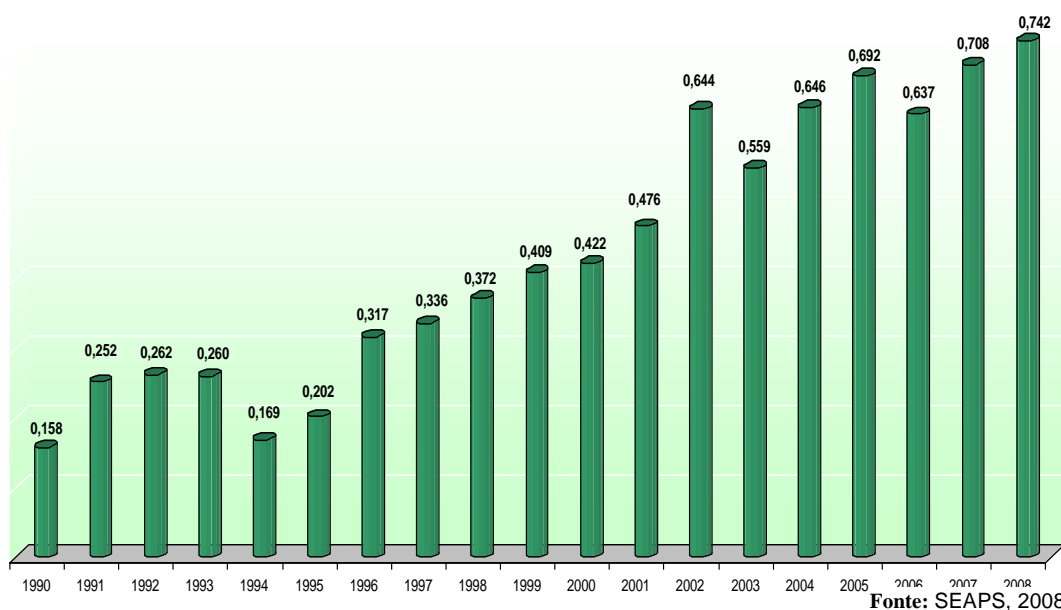


Figura 2: Evolução da produção de leite em Rondônia, 1990/2008 (bilhão de litros/ano)

Dos produtos obtidos pela indústria de laticínios apenas os queijos requerem ações mais complexas para comercialização, uma vez que o leite pasteurizado, por suas características de baixa durabilidade, é comercializado no mercado local. Do total possível de venda de queijo em outros estados, o mercado da cidade de São Paulo absorve a quase totalidade da produção, quer para consumo próprio, quer para revenda para as demais regiões do país.

O mercado dos estados da Região Norte, embora não apresente um consumo *per capita* comparável com os da região Sul e Sudeste e, por consequência, um volume que justifique uma política mais agressiva de vendas, já se apresenta como alternativa para suprir parte do mercado que está se perdendo em São Paulo para os produtos do Uruguai e da Argentina.

O desenvolvimento da indústria de laticínios deu-se em ritmo acelerado com a conseqüente resposta da bacia leiteira, por cerca de dez anos, até a entrada em vigor do tratado do Mercosul, quando então passou a sofrer competição dos produtos do Uruguai e da Argentina, uma vez que a alíquota do imposto de importação foi reduzida a 2%. Esta política redundou numa violenta crise no setor de produção de laticínios em termos nacionais, já que as indústrias daqueles dois países operam com preços internacionais, comprando o leite a U\$ 0,15/ litro.

A bacia leiteira de Ouro Preto do Oeste do Estado de Rondônia, no elo da produção primária e transformação da matéria prima é das mais significativa do estado, totalizando cerca de 262 mil cabeças de animais com aptidão leiteira corresponde a 8,32% do rebanho de (3.144.144) no estado e produziu 67.944.161litros/2007 que corresponde a 9.59 % da produção total de 741.930.348 litros/2008 do estado de Rondônia, (22), e entretanto não se sabe os níveis de contaminação por aeróbios mesófilos e a qualidade higiênico-sanitária nessa matéria prima.

Considerando os dados expostos e sua relação com a saúde pública e com o agronegócio, bem como a falta de informação sobre a qualidade deste produto no estado de Rondônia, faz-se necessário identificar os riscos associados ao consumo do produto e suas implicações sob o aspecto econômico.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo com a conotação de “seguimento” por estabelecer a ligação de um evento atual com um evento futuro (143), e ainda, descritivo, por relatar características de determinada população ou fenômeno ou o estabelecimento de relações entre variáveis. Envolve o uso de técnicas padronizadas para coleta de dados e avaliação qualitativa e quantitativa, portanto, assume a forma de um conjunto de operações cuja finalidade é determinar o número de ocorrências, bem como as intensidades ou as modalidades dos fenômenos individuais que compõem o fenômeno coletivo (144).

4.2 Área de estudo, amostras e colheita das amostras

Selecionou-se para este estudo o município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia, por apresentar as condições estruturais para execução das análises laboratoriais e por ser a região representativa da atividade leiteira no Estado de Rondônia.

O município de Ouro Preto do Oeste (Figura 3) selecionado para este estudo possui 35 propriedades leiteiras dotadas de tanques individuais de resfriamento. A partir da definição desta amostra foram estabelecidos outros critérios de inclusão para manter a uniformidade entre produtores de leite; tipo de ordenha (manual, semifechado e fechado), localização em regiões de fácil acesso durante o ano todo e produtores que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram excluídas as propriedades que acondicionam leite em latões, que possuem tanques coletivos de resfriamento e as mais distantes.

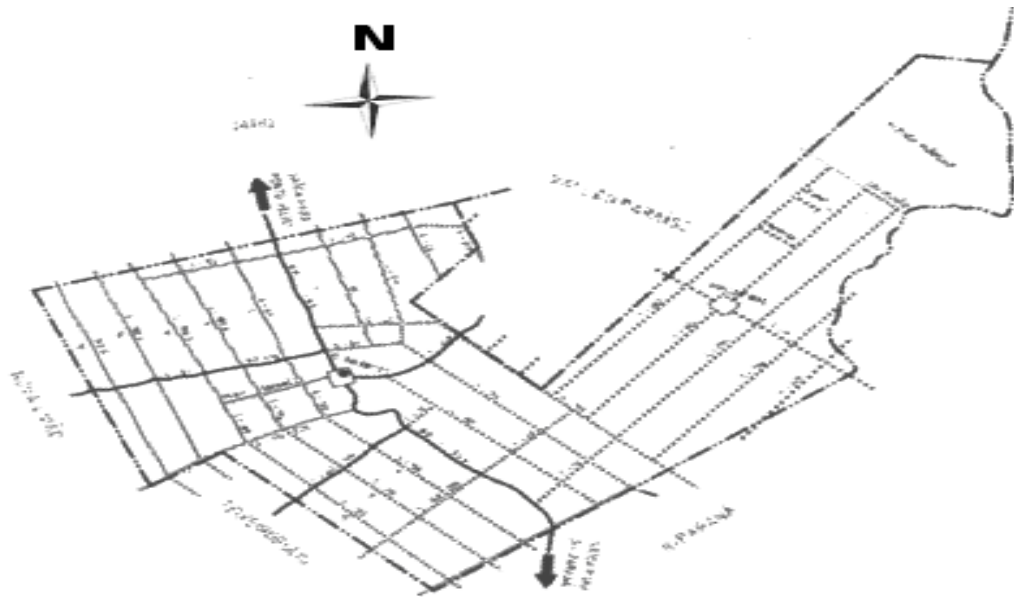


Figura 3: Mapa do município de Ouro Preto do Oeste – Rondônia.

Das 35 propriedades que possuem tanques individuais de refrigeração 32 foram selecionadas para participarem do total das amostras pesquisadas; as outras três foram excluídas, duas porque não são gerenciadas pelos proprietários e outra o produtor não autorizou a colheita das amostras.

Considerando o universo amostral de 35 propriedades e estabelecendo-se um erro amostral de 5% com nível de significância de 95%, o número de propriedades a compor o universo das amostras é igual a 32 (145).

$$A = \frac{P \times \frac{1}{E^2}}{P + \frac{1}{E^2}}$$

Equação para o cálculo do universo das amostras, onde

A = Amostra, E= Erro Amostral, P= população.

A colheita de amostras foi mensal, durante o período de abril a agosto de 2007 (tabela 6) e totalizou 20 amostras mensais por estabelecimento das quais 10 amostras eram colhidas às sextas-feiras da primeira quinzena do mês, enquanto as

outras 10 eram colhidas às sextas-feiras da segunda quinzena do respectivo mês, e finalizando no mês de agosto foram colhidas 16 amostras, nos 32 estabelecimento realizou-se 3 coletas e totalizando no período 96 amostras.

Tabela 6: Cronograma de colheita de amostras de leite cru nas propriedades de Ouro Preto do Oeste durante os meses de abril a agosto de 2007 e numeração de produtores selecionados a cada período.

meses	quinzena	Produtores selecionados	total	data
abril	1ª quinzena	01, 03, 11, 12, 13, 24, 25, 28, 29,31.	10	19/04/07
abril	2ª quinzena	04, 06, 07, 08, 10, 16, 18, 20, 21,23.	10	30/04/07
maio	1ª quinzena	02, 05, 09, 14, 21, 22, 26, 27, 30,32.	10	14/05/07
maio	2ª quinzena	03, 04, 06, 07, 15, 16, 17, 18, 19,25.	10	28/05/07
junho	1ª quinzena	02, 05, 08, 10, 15, 17, 20, 22, 23,24.	10	11/06/07
junho	2ª quinzena	11, 12, 13, 14, 26, 27, 28, 29, 30,31.	10	25/06/07
julho	1ª quinzena	01, 03, 06, 09, 12, 14, 16, 17, 18,23.	10	30/07/07*
julho	2ª quinzena	02, 04, 05, 07, 08, 13, 15, 19, 25,32.	10	30/07/07*
Agosto	1ª quinzena	01, 09, 20, 22, 26, 27, 28, 29, 30,31.	10	17/08/07
agosto	2ª quinzena	10, 11, 19, 21, 24,32.	06	31/08/07

*devido ao recesso escolar durante o mês de julho todas as coletas foram realizadas no dia 30/07/07.

Com a finalidade de estabelecer critérios técnicos para colheita de amostra de leite e para buscar uniformidade na obtenção das amostras, adotou-se as orientações do Manual de Operações de Campo de Amostras do Programa de Análise de Rebanhos Leiteiros do Paraná (146).

O leite cru foi colhido em frasco esterilizado com capacidade de 50mL a partir das 8 horas da manhã até as 12 horas e transportado para o laboratório da ULBRA até as 13h30min. As amostras foram transportadas em recipiente isotérmico contendo cubos de gelo e mantidas sob refrigeração à temperatura de 5°C até o momento da execução das análises. Todas as amostras foram analisadas no mesmo dia da colheita.

Para tentar estabelecer uma relação de interferência entre alguns fatores que poderiam, antes, durante e após a ordenha, contribuir com os riscos biológicos relacionados à qualidade higiênico-sanitária como referência a Instrução Normativa nº 51 (2002), do MAPA, utilizou-se um roteiro de avaliação com 10 itens sobre alguns aspectos básicos relacionados ao processo de ordenha. (Apêndice 1). Os roteiros foram aplicados pelos extensionistas da Emater-RO do município de Ouro Preto do Oeste, que foram treinados pelo pesquisador, para a aplicação desse instrumento para dar o mesmo caráter de repetitividade.

4.3 Análise dos dados

Realizou-se análise descritiva para obtenção das frequências simples com cálculos da média, como medida de tendência central, e desvio padrão, como medida de dispersão para as variáveis pertinentes à propriedade e ao manejo do rebanho. Para a inferência de variáveis, foi utilizado o teste de qui-quadrado, designadamente para avaliar a diferença das médias em momentos diferentes. Em todos os cálculos estatísticos usado um nível de significância de 5%.

Para as amostras dos produtores em comparação à IN-51, os produtores foram agrupados em duas classes, os que se encontram dentro do padrão e os que estão fora do padrão da IN- 51. Todas as variáveis dependentes relacionadas ao local de extração do leite, sanidade do rebanho e higienização foram dicotomizadas da seguinte maneira: 1 para resposta afirmativa e 0 para resposta negativa.

4.4 Preparo das amostras e contagem de bactérias mesófilas aeróbias

As análises microbiológicas foram realizadas no laboratório do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) no município de Ji-Paraná – Rondônia, que dista 35 km de Ouro Preto do Oeste e as propriedades selecionadas para este estudo estão localizadas a aproximadamente 20 km da sede

do município (Figura 6). Foram feitas as análises microbiológicas para contagem padrão em placas, tendo-se como referência o limite de 10^6 UFC/mL de aeróbios mesófilos, critério estabelecido pela Instrução Normativa n.º51 (19), utilizando a metodologia preconizada por Silva *et al* (1997) (107). Na figura 4 localização no mapa do estado de Rondônia os municípios de Ouro Preto do Oeste e Ji-Paraná.



Figura 4: Localização dos municípios de Ouro Preto do Oeste e Ji Paraná—Rondônia

Foram pipetados 25mL de leite e adicionados 225mL de água peptonada (APT) a 0,1% (Merck), para diluição 1: 10. Após a diluição inicial foram realizadas as diluições seriadas decimais de 10^{-2} a 10^{-4} das amostras em tubos contendo 9mL de APT 0,1%.

Foram inoculados 1000 μ L de cada diluição em placa de petri 90x12, esterilizada e descartável, em duplicata; seguida da adição de 20mL de Agar Padrão para Contagem (DIFCO), previamente esterilizado, fundido e resfriado a 45°C.

A homogeneização do inóculo no meio de cultura foi feita por meio de movimentos rotacionais da placa (8 a 10 vezes no sentido horário e anti-horário). Após completa solidificação, fez-se a cobertura da superfície com uma camada superficial de Agar PCA (Técnica Pour Plate). Após solidificação do meio, inverteram-se as placas que foram incubadas a 35°C durante 48 horas.

Após o período de incubação, foram selecionadas as placas que apresentaram entre 25 a 250 colônias, contadas com auxílio de contador manual de colônias, os resultados foram expressos em UFC. (Figura 5).

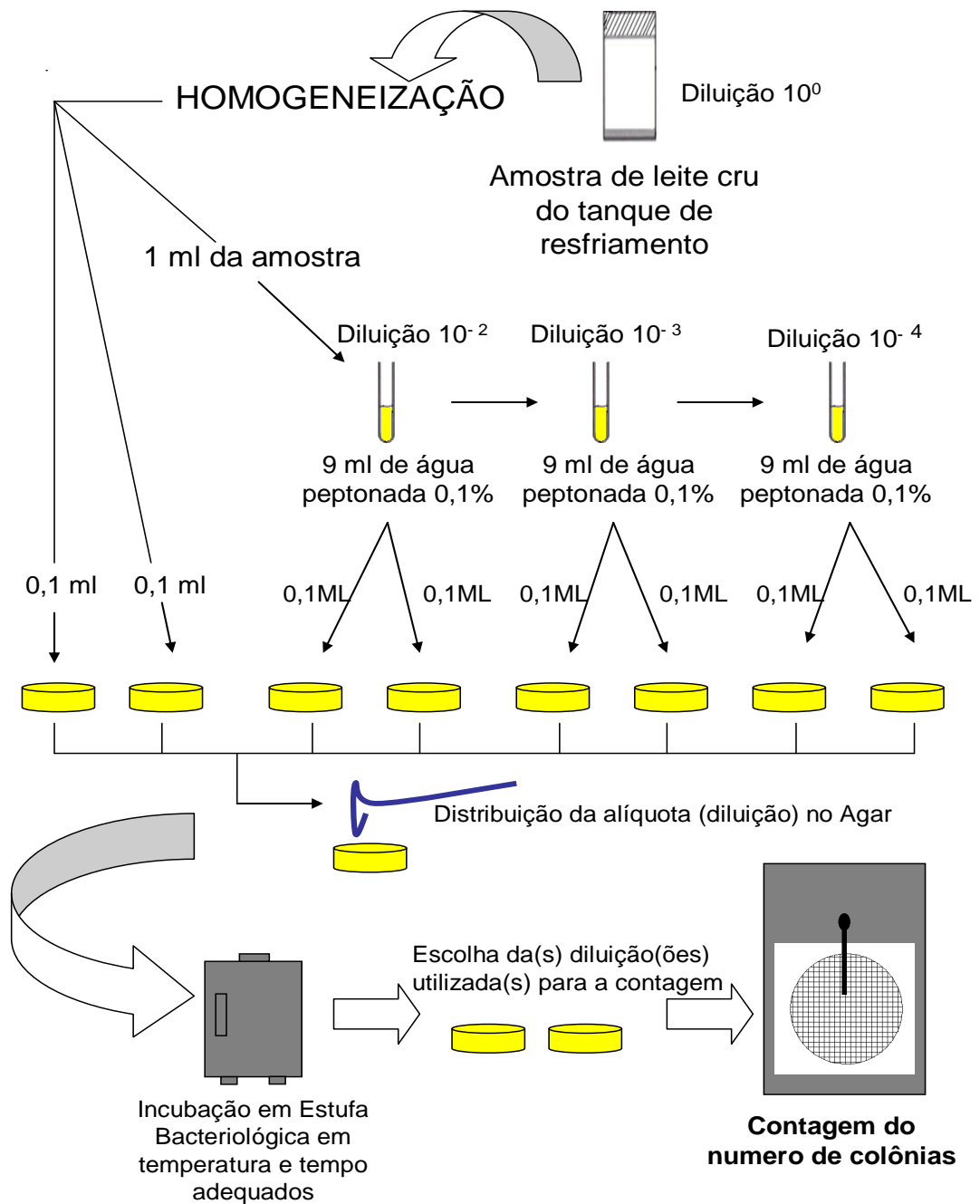


Figura 5: Processo de análise do leite

5. RESULTADOS

Neste estudo foi avaliada a qualidade do leite cru resfriado, quanto a contagem total de bactérias (CBT), de 32 produtores de leite do município de Ouro Preto do Oeste – RO que possuem tanques de resfriamento individual. Estas propriedades possuíam áreas de terra de $173,7 \pm 283,1$ ha (média \pm desvio padrão) em que a área de pastagem era de $123,3 \pm 114,3$ ha.

Quanto ao rebanho (tabela 7), este variou de 80 a 1200 cabeças de gado, com média de $295,3 \pm 211,6$ cabeças, sendo que dessas existiam em lactação uma média de $61,8 \pm 47,1$ cabeças. A produção diária de leite verificada nestas propriedades foi de $291,5 \pm 283,9$ litros/dia. Quanto à capacidade dos tanques de armazenamento variando entre 715 litros e 2600 litros, com uma média geral de 1037,7 litros e desvio padrão de 477,2 litros.

Tabela 7: Características físicas das propriedades pesquisadas, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Variáveis	Média	DP	Mediana	CV (%)
Área Total	173.7	283.1	100.0	162.9
Área de Pastagem	123.3	114.3	84.5	92.6
Total do Rebanho	295.3	211.2	230.0	71.5
Vacas em Lactação	61.8	47.1	48.5	76.2
Produção (litros por dia)	291.2	283.9	200.0	97.5

Quanto ao local de extração do leite verifica-se na tabela 8, foi possível verificar que 71,9% destes produtores possuem curral coberto, 75,0% dos currais

são cobertos e com piso, o fosso só foi verificado em 9,4% das propriedades e em 75,0% destes currais possuíam água encanada e 87,5% tinha um curral de espera.

Tabela 8: Características físicas dos currais das propriedades pesquisadas, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Características físicas do local de extração	Possui		Não Possui	
	n	%	n	%
Curral Coberto	23	71,9	9	28,1
Curral Coberto e piso	24	75,0	8	25,0
Curral Coberto e fosso	3	9,4	29	90,6
Água Encanada	24	75,0	8	25,0
Curral de Espera	28	87,5	4	12,5

A extração do leite nas propriedades pesquisadas em 20 (62,5%) delas é feita manualmente, enquanto que 12 (37,5%) possuem ordenhadeiras. No momento da extração 17 (53,1%) dos produtores disseram não lavar e secar as tetas das vacas e 15 (46,9%) disseram fazer este procedimento. Entre os que fazem a extração com ordenhadeiras 90,9% relataram fazer o tratamento pós ordenha.

Esta extração (figura 6), na maioria das propriedades (65,6%), é feita pelos proprietários ou então por seus próprios filhos e em apenas (34,4%), são feitos por empregados da propriedade.

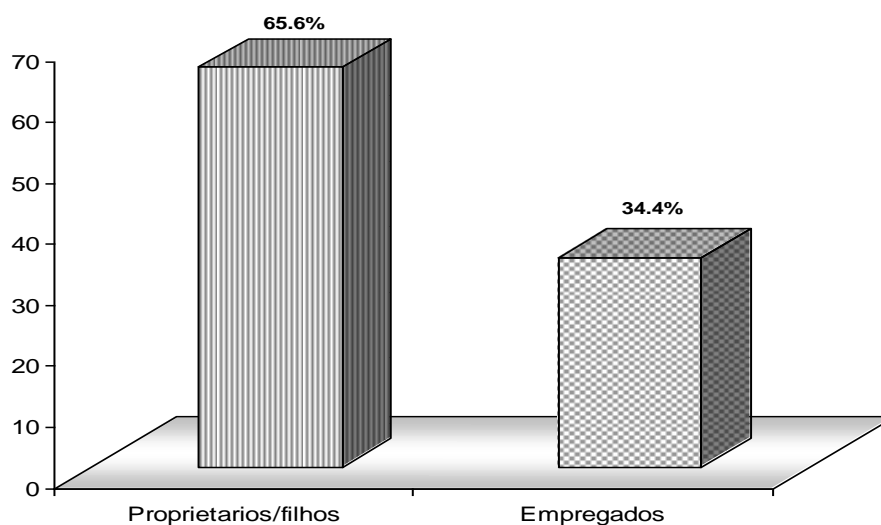


Figura 6: Distribuição das propriedades quanto a participação na extração do leite. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007

Foram verificadas também as questões relacionadas ao manejo do rebanho, tais como: uso de mineral, vermífugo, controle de moscas e carrapatos, suplementação alimentar, pastejo rotacionado, e verificou-se que entre estes produtores pode-se considerar um bom manejo, conforme tabela 9.

Tabela 9: Características das propriedades pesquisadas, quanto ao manejo do rebanho. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Manejo do Rebanho	Faz		Não Faz	
	n	%	n	%
Usa Mineral	32	100.0	0	0.0
Vermífugo	32	100.0	0	0.0
Controla moscas e carrapatos	32	100.0	0	0.0
Suplementação Alimentar	25	78.1	7	21.9
Pastejo Rotacionado	21	65.6	11	34.4
Exames de Brucelose	21	65.6	11	34.4
Exames de Tuberculose	3	9.4	29	90.6
Controle Leiteiro	12	37.5	20	62.5

Uma importante informação quanto aos cuidados com o rebanho, é o controle da mastite, entre os produtores entrevistados 17 (53,1%) disseram não fazer, entre os que fazem 1 (3,1%) faz este controle quinzenal, 9 (28,1%) faz o controle mensal e 5 (15,6%) faz o controle bimestralmente.

A assistência técnica foi relatada por 30 (9,38%) dos produtores, afirmando receber esta na maioria das vezes por parte 28 (93,4%) dos casos de órgãos oficiais (EMATER e IDARON), 1 (3,3%) disse receber esta assistência de revenda de produtos agropecuários e 1 (3,3%) de um veterinário.

Uma questão que pode ser grave e que foi relatada pelos produtores, são os problemas com energia elétrica, sendo que em 10 (31,3%) das propriedades foram identificados problemas dessa natureza.

Quanto ao conhecimento da qualidade microbiológica do leite produzido na propriedade 23 (71,9%) dos produtores disseram ter informações sobre a mesma, 5 (15,6%) dos produtores disseram desconhecer estas informações e 4 (12,5%) dos produtores não responderam. Entre aqueles que conhecem a qualidade do leite produzido em sua propriedade disseram que estas informações são repassadas pela indústrias de laticínios ou pelos órgãos oficiais conforme figura 7.

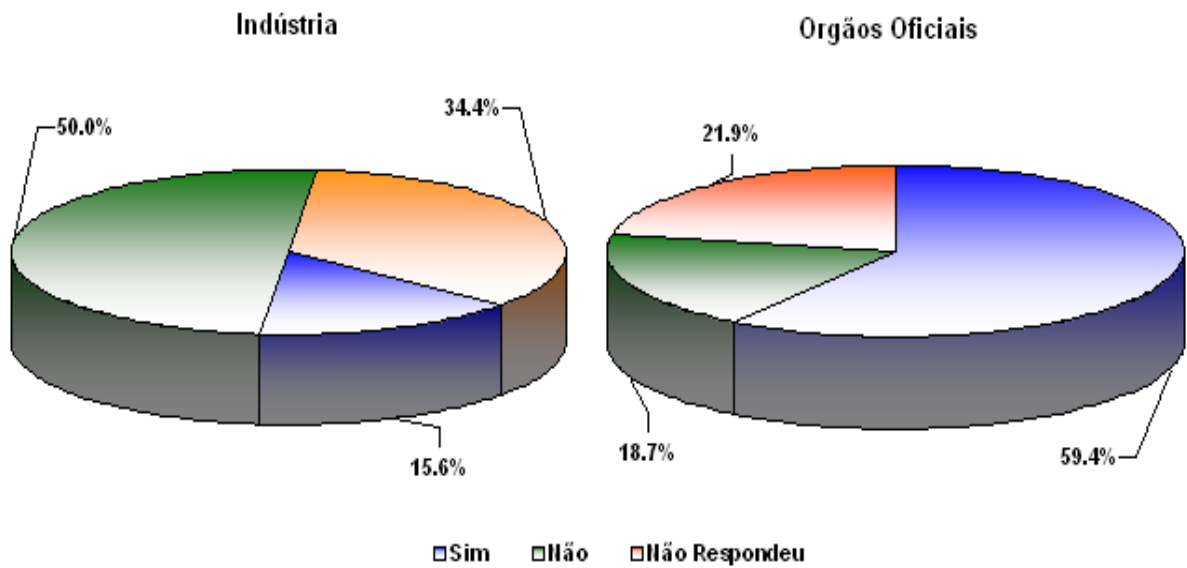


Figura 7: Distribuição dos proprietários quanto a quem fornece as informações recebidas sobre a qualidade microbiológica leite. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007

Na figura 8, são apresentadas as médias aritméticas da contagem bacteriana total (CBT), obtidos no período de abril a agosto de 2007, sabendo-se que em cada um desses meses foram analisadas amostras de 20 (n=20) produtores.

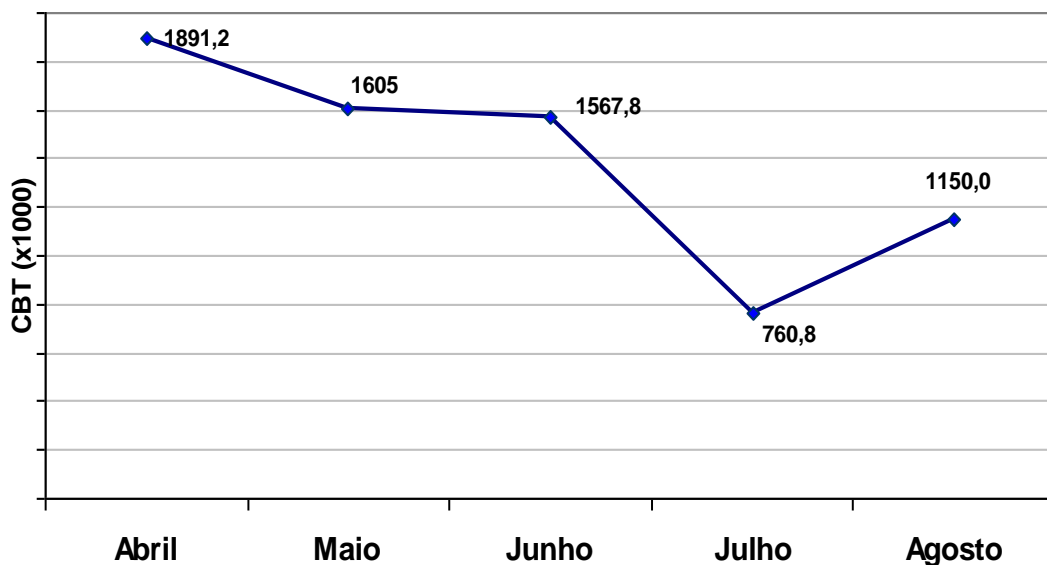


Figura 8: Médias aritméticas mensais para a contagem bacteriana total (CBT), Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007. (x 1000 ufc/ml)

A IN-51 estabelece que para comparar o limite máximo de 10^6 UFC/ml, é necessário levar em consideração a média geométrica das três últimas análises de cada produtor, de acordo com esta definição na figura 9, entre os produtores pesquisados foi possível verificar individualmente que 65,6% estão de acordo com os padrões estipulados pela IN-51, enquanto 34,4% ainda precisam se adequar.

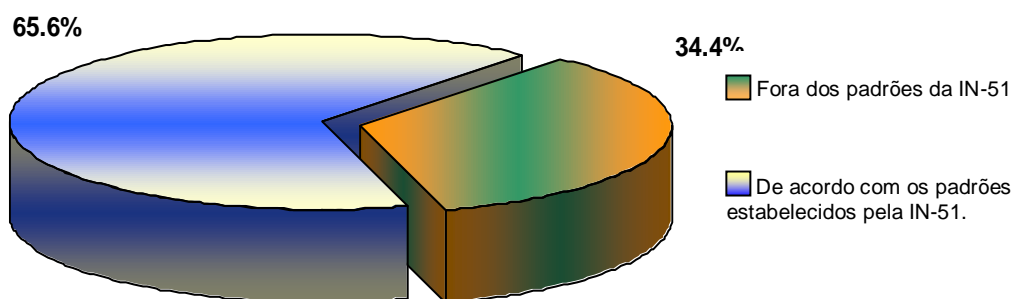


Figura 9: Percentuais de produtores conforme e não-conforme com a IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007

Algumas medidas de higiene são fundamentais para a melhoria da qualidade do leite. O local onde é feita a extração do leite, por exemplo, é o primeiro passo para ir em busca desta melhoria. Na tabela 10 foram verificadas neste estudo associações positivas entre as normas do regulamento técnico da IN-51, do local de extração, com relação à média geométrica das três primeiras análises dos produtores pesquisados.

Tabela 10: Comparação das características do local de extração conforme IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007

Características do Local de Extração (Curral)	Fora do Padrão		Dentro do Padrão	
	Possui	Não Possui	Possui	Não Possui
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Curral Coberto	9 (81,8)	2 (18,2)	14 (66,7)	7 (33,3)
Curral Coberto com Piso	9 (81,8)	2 (18,2)	15 (71,4)	6 (28,6)
Curral Cob. com Fosso	1 (9,1)	10 (90,9)	3 (14,3)	18 (85,7)
Curral de Espera	0 (0,0)	11 (100,0)	17 (81,0)	4 (19,0)

$$\chi^2 = 19,4 \text{ e } p = 0,0120$$

Dessa maneira, pode-se dizer que existem associações positivas entre as condições do local de extração do leite com a qualidade do leite analisado, ou seja, as diferenças entre o número de produtores que se encontram dentro e fora dos valores preconizados pela IN-51 com relação às condições do local de extração são estatisticamente significantes ($\chi^2 = 19,4$ e $p = 0,0120$).

Outro fator ligado diretamente à questão de higienização, bem como também ao local de extração é a existência de água encanada neste local, o que facilita tanto a higiene do local, bem como a higiene dos úberes das vacas, utensílios utilizados na extração (tambores, tanques, equipamentos da ordenha). Na tabela 11, foi verificado que 24 (75,0%) produtores possuíam água encanada em seus currais, enquanto que os outros 8 (25,0%) não contavam com este facilitador, na busca da qualidade de seu produto.

Tabela 11: Distribuição dos produtores que possuem água encanada no local de extração do leite conforme resultados da IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007

Água encanada no curral	Fora do Padrão		Dentro do Padrão	
	n	%	n	%
Possui	8	66,7	16	80,0
Não possui	4	33,3	4	20,0
Total	12	100,0	20	100,0

$$\chi^2 = 0,711 \text{ e } p = 0,3991$$

Conforme valores obtidos ($\chi^2 = 0,711$ e $p = 0,3991$), percebe-se que este fator não está diretamente relacionado com a qualidade do leite no município de Ouro Preto do Oeste-RO.

O manejo do rebanho na tabela 12, dependendo da quantidade de cabeças e número de pessoas para lidar com o mesmo, pode se transformar em um fator problema na higienização e conservação do produto, porém neste estudo não se verificou nenhuma relação ($\chi^2 = 0,4789$ e $p = 0,4889$) entre o tamanho do rebanho e os padrões estabelecidos pela IN-51. O mesmo aconteceu quando verificado se existia alguma relação entre o número de vacas em lactação e os níveis de CBT estabelecidos pela IN-51, onde obteve-se $\chi^2 = 0,5866$ e $p = 0,4337$, mostrando não existir nenhuma relação entre esses fatores.

Tabela 12: Distribuição dos produtores quanto às questões relacionadas ao rebanho conforme resultados da IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

	Fora do Padrão		Dentro do Padrão	
	n	%	n	%
Total do Rebanho*				
Menos de 200 cabeças	3	27.3	8	38.1
Entre 200 e 400 cabeças	5	45.4	9	42.9
Mais de 400 cabeças	3	27.3	4	19.0
Vacas em Lactação**				
Menos de 50 cabeças	7	63.6	11	52.4
Entre 50 e 100 cabeças	3	27.3	6	28.6
Mais de 100 cabeças	1	9.1	4	19.0

* $\chi^2 = 0,4789$ e $p = 0,4889$ ** $\chi^2 = 0,5866$ e $p = 0,4337$

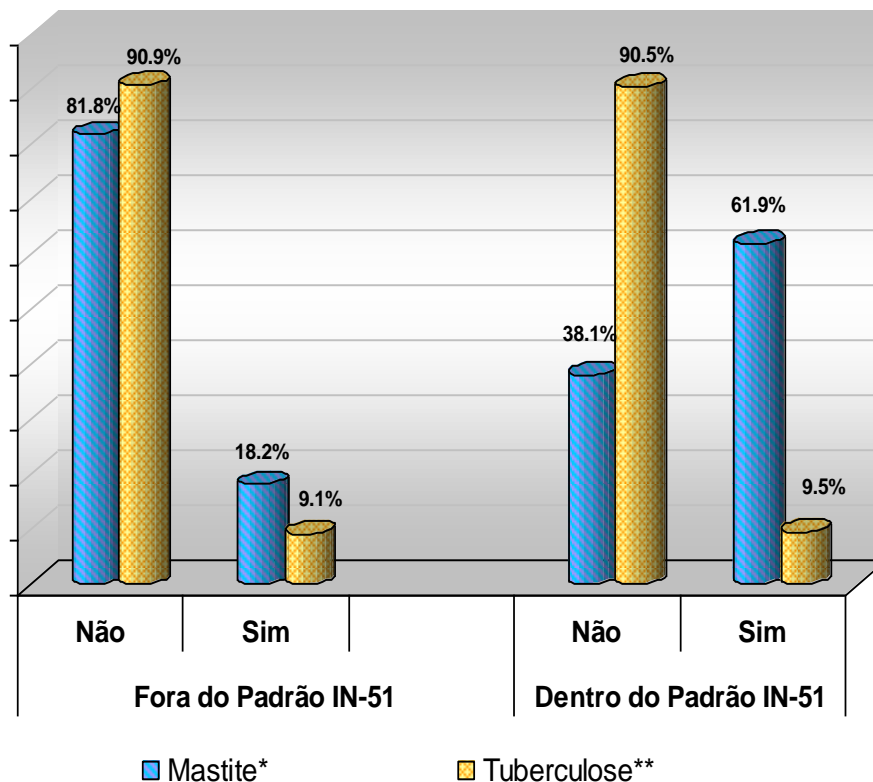
Para a busca de uma qualidade do leite se torna necessário fazer a prevenção e controle da mastite, que tem por objetivo limitar a prevalência das infecções e por conseqüência diminuir os impactos econômicos na atividade leiteira. Um bom programa de controle deve ter como metas principais, erradicar as mastites contagiosas por *Streptococcus agalactiae*, controlar as mastites por *Staphylococcus aureus*, manter baixos os índices de mastites ambientais, controlando assim a contagem de bactérias totais (CBT) e evitando perdas significativas na produção leiteira da propriedade.

Com relação ao controle e prevenção da mastite entre os produtores das propriedades pesquisadas foi possível verificar que entre aqueles que não fazem controle a CBT está fora do padrão da IN-51, totalizou (81,8%). Na tabela 13 a seguir, verifica-se que as chances de um produtor que não faz controle de mastite estar fora dos padrões da IN-51 é sete vezes maior do que aqueles que fazem o controle, mostrando valores estatisticamente significantes ($\chi^2 = 5,542$ e $p = 0,0186$).

Tabela 13: Distribuição dos produtores que fazem controle de mastite com referência à prevalência de índices acima do valor preconizado pela IN-51, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Controle de Mastite	n	Prevalência	Odds Ratio	IC (95%)	p
Não Faz	17	28.1	7.31	1.25 - 42.81	0.0462
Faz	15	6.2	1,00	-	

A tuberculose é outra preocupação constante, quanto à sanidade do rebanho na busca da adequação da qualidade do leite a IN-51, porém entre os produtores pesquisados na figura 10, não foi possível verificar nenhuma associação estatisticamente significativa ($\chi^2=0,002$ e $p=0,9682$) entre programas de controle e prevenção da tuberculose com a adequação da qualidade do leite a IN-51.



* $\chi^2 = 5,542$ e $p= 0,0186$

** $\chi^2 = 0,002$ e $p=0,9682$

Figura 10: Percentuais de produtores conforme e não-conforme com a IN-51, com relação ao controle e prevenção de mastite e tuberculose. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Outro aspecto importante é a adoção de práticas higiênicas, antes e durante a ordenha das vacas, como medida preventiva contra contaminações microbianas do leite, para a diminuição da sua carga bacteriana inicial. Esse aspecto leva em conta práticas, a serem adotadas, que contribuem para diminuir a possibilidade de infecções mamárias dos animais além dos efeitos positivos sobre a qualidade do leite.

Com relação à higiene no processo de produção na tabela 14 verificou-se que os produtores não faziam a devida higienização do úbere, antes da extração, esse índice foi maior entre aqueles produtores que estão fora dos padrões da IN-51 (63,6%), sendo que foi verificado também que as propriedades (71,9%) não fazem tratamento de água para ser utilizada no curral, no entanto esses fatores ligados à higienização não apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($\chi^2 = 0,116$ e $p = 0,9143$) comparado aos padrões da IN-51

Tabela 14: Distribuição dos produtores, quanto à higienização no processo de produção comparado aos padrões da IN-51. Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007

	Fora do Padrão		Dentro do Padrão	
	n	%	n	%
Higienização do Úbere				
Não faz	7	63.6	11	52.4
Faz	4	36.4	10	47.6
TOTAL	11	100.0	21	100.0
Tratamento da água				
Não faz	7	63.6	16	76.2
Faz	4	36.4	5	23.8
TOTAL	11	100.0	21	100.0

$$\chi^2 = 0,116 \text{ e } p = 0,9143$$

No que se refere ao acondicionamento do leite extraído, este se caracteriza como um fator de verificação de qualidade do leite, pois a interferência de fatores como o tratamento térmico e a presença de substâncias antimicrobianas podem influenciar diretamente na sua contagem bacteriana total.

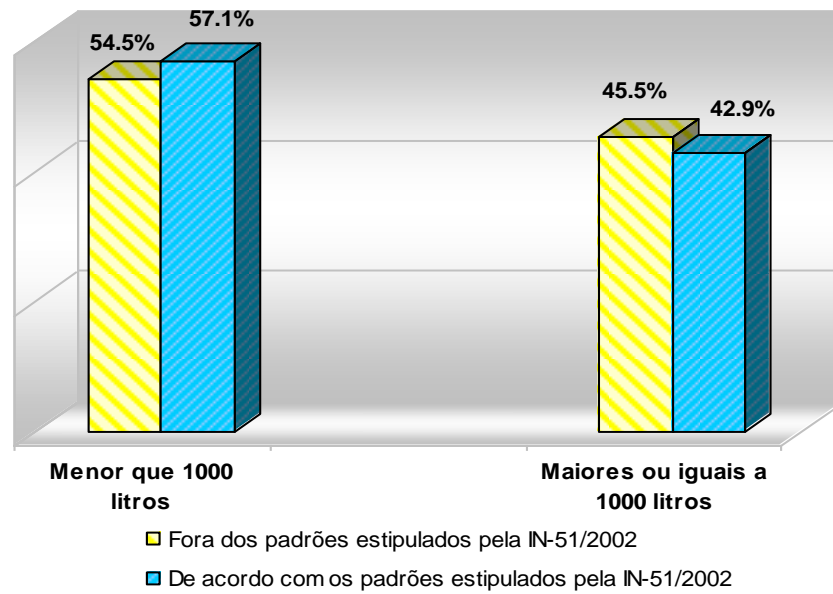
Pelo fato destas propriedades se situarem em uma região onde a energia elétrica até pouco tempo não existia e a rede elétrica atual ser um tanto quanto obsoleta é comum ocorrer na região operações de reestruturação da rede e/ou quedas bruscas de energia, o que compromete muitas vezes o funcionamento do resfriador. Na tabela 15, o problema entre os produtores pesquisados 10 (31,5%) disseram ter tido ou ainda têm algum problema com energia elétrica, o que pode vir a interferir na temperatura do tanque, porém, neste estudo não se verificou nenhuma associação ($\chi^2 = 0,0123$ e $p = 0,7254$).

Tabela 15: Distribuição dos produtores que possuem problemas de acondicionamento do leite com referência à prevalência de índices acima do valor preconizado pela IN-51, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Problemas de acondicionamento	n	Prevalência	Odds		
			Ratio	IC (95%)	p
Não possui	22	25,1	1,33	-	-
Possui	10	9,4	1,00	0,51 – 3,51	0,4386

Também foi analisado se haveria alguma correlação entre a qualidade do leite com relação ao volume (capacidade) dos tanques de resfriamento, figura 11, porém na distribuição de frequência simples entre os produtores que estão de acordo com o que preconiza a IN-51 e os que não estão de acordo, não houve diferenças significativas ($\chi^2 = 0,0550$; $p = 0,8146$).

Figura 11: Classificação dos produtores como referência à classificação da IN – 51/2002 em relação ao volume dos tanques de resfriamento, Ouro Preto do Oeste - RO, 2007.



6. DISCUSSÃO

As exigências de qualidade e higiene para o leite cru e derivados lácteos são definidas com base em postulados estabelecidos que visam a proteção da saúde humana e preservação das propriedades nutritivas desses alimentos (147).

Do ponto de vista de controle de qualidade, o leite e os derivados lácteos estão entre os alimentos mais testados e avaliados, principalmente devido à importância que representam na alimentação humana e à sua natureza perecível. Os testes empregados para avaliar a qualidade do leite fluido constituem normas regulamentares em todos os países, havendo pequena variação entre os parâmetros avaliados e/ou tipos de testes empregados. De modo geral, são avaliadas características físico-químicas e sensoriais como sabor, odor e são definidos parâmetros de baixa contagem de bactérias, ausência de micro-organismos patogênicos, baixa contagem de células somáticas, ausência de conservantes químicos e de resíduos de antibióticos, pesticidas ou outras drogas (147).

É praticamente impossível se obter um leite livre de micro-organismos contaminantes. Por isso se definem números aceitáveis, com base nas alterações que esses números causam no leite e derivados. Este requerimento é muito importante para a avaliação da qualidade do leite cru, pois será indicador das condições de higiene em que o leite foi obtido e armazenado, desde o processo de ordenha até o consumo.

Considerando o potencial de se multiplicar, as bactérias do leite podem causar alterações químicas, tais como a degradação de gorduras, de proteínas ou de carboidratos, podendo tornar o produto impróprio para o consumo e industrialização (148).

A contagem total de bactérias é um requerimento adotado em diversos países e usado para bonificação em programas de pagamento pela qualidade. O valor máximo aceito para o leite cru pela União Européia e EUA é menos de 100.000 ufc/mL. No Brasil, a Instrução Normativa 51 propõe para o leite cru resfriado de produtores individuais o limite máximo de 1.000.000 ufc/mL (19).

O estado de saúde e higiene da vaca, o ambiente do estábulo e da sala de ordenha e os procedimentos usados para limpeza e desinfecção dos equipamentos de ordenha, tanque de refrigeração e utensílios que entram em contato com o leite, são importantes com respeito à contaminação microbiana do leite cru. De importância é também a temperatura e o período de tempo em que o leite é armazenado. Se o leite não é refrigerado (4° C) rapidamente após a ordenha, a população bacteriana poderá aumentar, atingindo números elevados que podem levar à deterioração. No Brasil, a refrigeração do leite na fazenda e a coleta por meio de caminhões isotérmicos (coleta a granel) está regulamentada pela Instrução Normativa 51 (19).

Mesmo sob refrigeração o leite pode ser facilmente deteriorado, servindo para a proliferação de bactérias. Algumas bactérias conseguem dobrar sua população a cada 20 a 30 minutos (149) e, por isso, o leite deve ser manuseado corretamente desde o momento da ordenha até chegar à indústria de laticínios e ao consumidor final.

A ação dessas bactérias ou de suas enzimas sobre os componentes lácteos causam alterações no leite e seus derivados. Esses defeitos incluem sabores e aromas indesejáveis, diminuição da vida de prateleira, podendo tornar o produto impróprio para o consumo e industrialização (150, 151).

A presença de bactérias patogênicas no leite cru é uma preocupação de saúde pública, sendo um risco potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados, e até para quem o manuseia. O leite cru contaminado pode ser, ainda, fonte de contaminação cruzada para os produtos lácteos processados, pela contaminação do ambiente na indústria (152)

De certa forma o conhecimento destes micro-organismos do leite revela o índice de contaminação microbiana do mesmo, podendo ser usado no julgamento de sua qualidade intrínseca, bem como das condições sanitárias de sua produção e da saúde do rebanho (148).

Por isso é preciso estar atento à saúde da glândula mamária, à higiene de ordenha, ao ambiente em que a vaca fica alojada e aos procedimentos de limpeza do equipamento de ordenha, pois estes são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana do leite cru, além disso outros fatores como a temperatura e o período de tempo de armazenagem do leite também são fatores que estão diretamente ligados à multiplicação dos micro-organismos presentes no leite, afetando, conseqüentemente, a contagem bacteriana total (153).

Considerando o limite de 10^6 UFC/mL de aeróbios mesófilos, critério estabelecido pela Instrução Normativa 51 (19), na figura 8, estão apresentados os resultados obtidos nos tanques das propriedades pesquisadas no município de Ouro Preto do Oeste- RO, entre os meses de abril a agosto de 2007.

Os resultados revelaram que no início da coleta 75% das amostras estavam em desacordo com a IN-51, ou seja, acima de 10^6 UFC/ml de aeróbios mesófilos. Em parceria com o governo do estado de Rondônia, a Emater-RO por meio de seus extensionistas estão assistindo os produtores que trabalham com a atividade leiteira no programa Pro-Leite que tem como objetivo a melhoria da qualidade e produtividade da pecuária leiteira. Estes 32 produtores objeto, das amostras estão sendo orientados pelos extensionistas locais de Ouro Preto do Oeste na adoção de boas práticas de produção, contribuindo para adequar a produção dentro do previsto pela IN-51 e a partir da terceira coleta a maior parte dos produtores já se encontravam acima do que é preconizado pela Instrução Normativa 51, chegando ao final do mês de agosto e com a média geométrica das três amostras de cada produtor, verificou-se que 65,4% já estavam adequados aos valores estabelecidos pela IN-51 enquanto que os demais 34,5% ainda estavam trabalhando em função desta adequação.

Pesquisas semelhantes foram realizadas (56), onde analisaram 20 amostras de leite cru refrigerado no Estado de Goiás, e encontram 75% das amostras com contagem acima de 10^6 UFC/mL.

Em outro estudo realizado, em Santa Maria-RS, (57), observou-se que apenas 17,8% de 28 amostras de leite cru coletados na recepção ou em laticínio apresentaram contagem abaixo do limite estabelecido pela IN-51.

Outro estudo (155), verificou o leite cru produzido em quatro estados produtores de leite no Brasil, em condições de cumprir o estabelecido na IN-51, quanto ao atendimento dos padrões microbiológicos previstos. Foram coletados em 210 diferentes propriedades nas regiões de Viçosa-MG (47), Pelotas-RS (50), Londrina-PR (63) e Botucatu-SP (50) e conclui que 48,6% das amostras apresentavam contagem acima do determinado pela IN-51, sendo 21,3% na região de Viçosa (MG), 56% na região de Pelotas (RS), 47,6% na região de Londrina (PR) e 68% na região de Botucatu (SP).

Em pesquisa na região Centro-Oeste realizada no laboratório de Qualidade do Leite, no centro de pesquisa em alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, no período de fevereiro a setembro de 2006 observaram que no total 36.074 amostras, 25% estavam acima de um milhão (UFC)/ml (156).

Para avaliar a contagem bacteriana total de leite cru de tanques refrigerados no Estado de Minas Gerais, foram escolhidas ao acaso 320.000 amostras, de um total de 736.000 amostras relativas a 57 laticínios de Minas Gerais, foram analisadas no laboratório de Análise de Qualidade do Leite da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais foram encontrados 18,4% das amostras acima de um milhão de UFC/ml padrões de IN-51 (157).

Foram também analisados a qualidade de leite de rebanhos bovinos, localizados no, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro, entre julho/2005 a junho/2006. Neste período foram analisadas 14.560 amostras (158). Observou-se que 48,7% das amostras não atenderam os limites estabelecidos pela Instrução Normativa 51/2002.

No diagnóstico de qualidade do leite na Região Sudeste realizado na clínica do leite da Escola Superior de Agronomia Luis de Queiróz (ESALQ), Universidade de São Paulo no período de julho/2005 a agosto de 2006, onde se analisou 273.483 amostras no período e a porcentagem de amostras não conformes o estabelecido na IN-51 foi de 14%.

Em estudo da qualidade do leite, no Rio Grande do Sul, no primeiro ano de vigência dos novos regulamentos da IN-51 analisou-se 488.359 amostras de tanques refrigerados no período de junho/2005 a julho/2006, na Universidade de Passo Fundo-RS, e conclui que a média geométrica da CBT no Estado ficou acima do máximo estabelecido em sete dos doze meses analisados variando de 31,9% (junho/05) a 64,4% (janeiro/06) (160).

Em 98.260 amostras analíticas no laboratório Estadual de Qualidade do Leite no Estado de Santa Catarina-SC, no período compreendido entre os meses de outubro/2005 a junho/2006, as amostras analisadas 58,96% e 80,45%, verificou que estas apresentaram-se uma Contagem Total de Bactérias (CBT) acima de milhão/ml indicando uma grande contaminação bacteriana nas pesquisas da maioria dos pesquisadores que analisaram o leite cru refrigerado (159).

Estudos mais recentes, também constataram altos índices de contagens de aeróbios mesófilos acima do limite estabelecido pela IN 51 em tanques de resfriamento (112, 161).

Verificou-se por meio de testes de homogeneidade, associação positiva entre as condições físicas do local de extração com a qualidade do leite entre os

produtores pesquisados. Isso mostra a necessidade de um trabalho junto aos responsáveis por essa produção enfocando a higiene do local de extração. Um trabalho, na região de Pirassununga-SP (162), onde eles selecionaram 13 pequenos produtores de baixa renda e baixo índice de modernização, cujo leite era considerado de baixa qualidade. Após visitar estas propriedades foram realizadas reuniões quinzenais com o intuito de orientar e treinar estes produtores, enfocando a higiene. Durante um ano e meio foram feitas coletas de leite. Antes do programa havia amostras com até 25 milhões UFC/ml, ao final do programa houve uma diminuição significativa do número de microorganismos no leite, sendo que algumas amostras chegavam a 10 mil UFC/mL. Dessa forma, percebe-se que com um trabalho de conscientização e orientação técnica adequada pode-se melhorar a qualidade do leite, mesmo não havendo incremento tecnológico.

Não se verificou associações positivas entre o número de vacas em lactação, bem como o total do rebanho com relação a qualidade do leite, isso porque a medida em que há aumento na produção diária e o leite passa a desempenhar um papel econômico mais importante dentro da propriedade, havendo assim um maior investimento em sua extração, como exemplo, a utilização da ordenha mecânica. Embora a utilização de equipamentos de ordenha não indiquem necessariamente uma qualidade boa do leite, a sua não utilização indica uma falta de investimento neste setor. Esses resultados corroboram com outros resultados encontrados que também não encontram nenhuma correlação entre o número de vacas e a contagem de aeróbicos mesófilos, porque assim como no presente estudo verificou-se que as propriedades com maior produtividade e maior número de animais utilizavam ordenha mecânica, o que confere ao leite melhor qualidade, pois ocorre diminuição do contato direto com o produto, o qual é canalizado para o tanque de refrigeração, onde é armazenado sob temperatura ideal até o momento da coleta, evitando, desta forma, a proliferação bacteriana (163).

Questões ligadas à sanidade do rebanho são indicadores importantíssimos ao que se refere à qualidade do leite. Entre as doenças que acometem o rebanho leiteiro e compromete essa qualidade, destaca-se a mastite, por possuir importância

econômica e para a saúde pública. Apesar de ser a doença importante em termos econômicos para a indústria leiteira, é difícil de ser controlada. No presente estudo foram verificadas altas índices de produtores que não realizavam controle de mastite. Esses valores indicaram diferenças estatisticamente significantes entre os que fazem este controle com relação a qualidade do leite ($\chi^2 = 5,542$ e $p = 0,0186$).

A mastite se apresenta basicamente de duas formas: clínica, com sinais de inflamação na glândula e/ou formação de grumos ou pus no leite, e subclínica, que causa perda de produção sem sinais clínicos. Os principais agentes ambientais causadores de mastite são enterobactérias, estreptococos, actinomicetos, fungos e algas (164). A ocorrência de casos esporádicos de mastite causados por micro-organismos de origem ambiental pode ser considerada como emergente e as leveduras, os fungos leveduriformes e os filamentosos são alguns dos principais agentes envolvidos.

Alguns patógenos da mastite causam alterações no processo de síntese do leite dentro da glândula mamária, podendo afetar sua qualidade. Como sua disseminação no rebanho se dá principalmente durante a ordenha, pelas mãos dos ordenhadores e equipamentos de ordenha, a adoção de procedimentos higiênicos nessa fase é essencial para o controle efetivo da mastite e para reduzir o número de micro-organismos no leite (165).

Analisando as exigências da Portaria 56 e Instrução Normativa 51, veremos que o controle de mastite é vital para que o leite fique dentro desta novas normas de qualidade. A mastite é definida como uma inflamação da glândula mamária podendo ser causada por agentes contagiosos que têm como reservatório a própria glândula mamária e agentes ambientais onde a fonte primária é o próprio meio ambiente (164).

Outro fator relacionado à sanidade do rebanho que também acomete o rebanho leiteiro e pode comprometer a qualidade do leite é a tuberculose e que possui estreita relação com a saúde humana. A tuberculose também é apontada

como um dos problemas sanitários, principalmente nos rebanhos leiteiros. O leite cru de origem de animais tuberculosos é uma das possíveis causas da transmissão do *Mycobacterium* do bovino para o homem. Neste caso, a medida de prevenção é muito necessária para o diagnóstico de animais tuberculosos para o seu efetivo tratamento ou em alguns casos o abate dos mesmos, garantindo assim a segurança da qualidade do leite e seus derivados. Mesmo com a grande importância que tem esse acompanhamento verificou-se que a maioria das propriedades estudadas não apresentaram um programa de prevenção e acompanhamento da tuberculose em seus animais, mesmo assim esse fator não apresentou nenhuma correlação com a contagem bacteriana total nos valores preconizados pela IN-51.

Fatores ligados à higienização tais como, limpeza dos tetos, tratamento da água utilizada no curral e problemas com o acondicionamento não se mostraram associados aos resultados das análises feitas até o momento, porém estes são requisitos essenciais para a obtenção de uma melhor qualidade do leite. Durante as coletas foram obtidas informações sobre a higienização e os métodos aplicados durante a ordenha. Verificou-se que apenas 43,7% dos pesquisados lavavam os tetos e faziam a secagem dos mesmos, 34,4% utilizam exclusivamente ordenha mecânica, apenas 32,2% faziam um tratamento pós ordenha e 71,9% não possuíam água tratada para lavagem dos utensílios. Chama-se a atenção para estes requisitos por serem de fundamental importância (149).

Para que a qualidade higiênico-sanitário do leite seja melhorada, é importante investir na conscientização e no treinamento de pessoal que está envolvido em todos os elos da cadeia produtiva, visando melhoria da higiene da produção e adequada limpeza de utensílios e equipamentos, na transformação da matéria-prima as Boas Práticas de Fabricação, com procedimentos operacionais padronizados e o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), ou ainda, programas de orientação da população envolvida.

7. CONCLUSÃO

O Ministério da Agricultura e Pesquisa Agropecuária (MAPA) iniciou em 1998 uma discussão nacional, envolvendo os setores científicos e econômicos da área leiteira, buscando melhorar a qualidade do leite produzido e consumido no Brasil. Dessa discussão originou-se o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), projeto que já vinha sendo desenvolvido desde 1996, que, posteriormente, se transformou em normas de produção leiteira, publicadas na Instrução Normativa nº51 (IN51/ MAPA, 2002), de 18 de setembro de 2002 (19)

A legislação prevê para tal situação que a coleta do leite seja feita a granel, que os produtos se adequem em termos de estrutura física e de equipamentos como tanques resfriadores, individuais ou comunitários, com temperatura controlada e não superior a 10°C, independentemente do tipo de leite. O leite, assim obtido, passa a ser denominado “leite cru refrigerado”; em termos de contagem microbiológica, o número de unidades formadoras de colônias de aeróbios mesófilos não deve ultrapassar 10⁶ UFC/mL, objetivo a ser atingido em diferentes prazos de acordo com a localização geográfica da região produtora. No Estado de Rondônia, esta regulamentação entrou em vigor em 01 de julho de 2007.

Os resultados desta pesquisa possibilitam identificar que nas propriedades pesquisadas que adotaram práticas de manejo higiênico-sanitária para obtenção de leite cru refrigerado houve diminuição significativa na contagem total de bactérias (CBT), comprovando a importância destas prática.

Apesar disso, percebe-se que os produtores ainda desconhecem os princípios básicos da higiene do leite e suas implicações na qualidade do mesmo. Pelos dados obtidos, verifica-se que o desafio maior é o de desenvolver programas de treinamentos entre os atores da cadeia produtiva do agronegócio do leite. A ausência de tais programas, somadas às exigências da IN-51, pode levar um

número importante de produtores ao não-atendimento dos requisitos mínimos de qualidade do leite.

É preciso estar atento a vários detalhes com relação ao rebanho: saúde da glândula mamária, higiene na ordenha, ambiente, equipamento, pois estes são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana do leite cru. Além disso, fatores como temperatura, tempo de armazenagem do leite, dentre outros, podem estar diretamente ligados à multiplicação dos micro-organismos presentes no leite, afetando, conseqüentemente, a contagem bacteriana total.

Segundo a IN nº. 51, devem ser seguidos os preceitos das condições higiênico-sanitárias específicas para a obtenção de matéria-prima, na adoção destas práticas apropriadas de manejo higiênico-sanitária, como as verificadas nas propriedades pesquisadas, levam a uma diminuição na contagem de bactérias mesófilas. Portanto, conclui-se nesta pesquisa que 65,6% das propriedades que produzem e comercializam o leite cru refrigerado no município de Ouro Preto do Oeste no Estado de Rondônia, encontram-se dentro dos padrões, enquanto 34,4% ainda precisam se adequar a referida instrução normativa.

Neste sentido, na comercialização do leite cru refrigerado existem externalidades negativas e informações assimétricas, uma vez que os consumidores correm o risco de ingerir um produto inadequado e que dispõem de menos informação que os produtores sobre o produto final. Dessa forma, justifica-se a intervenção governamental no atendimento a legislação higiênico-sanitário para garantir a saúde pública e a proteção dos consumidores.

Por fim, o governo, juntamente com entidades públicas, representantes do setor produtivo e órgãos de defesa do consumidor definam estratégia de esclarecimento a população sobre os riscos do consumo de produtos não inspecionados.

Entende-se ainda como imprescindível, o trabalho de extensão rural com adequada orientação bem como o acesso as informações técnicas, econômicas e de

segurança alimentar por parte do produtor rural. Para isso, é preciso que existam profissionais qualificados em quantidade suficiente. Quanto mais programas de crédito e assistência técnica adequada forem oferecidos aos produtores, mais rápido eles atingirão os padrões higiênicos-sanitários nacional e internacional.

REFERÊNCIAS

1. FAO. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/569/DesktopDefault.aspx?PageID=569>> Acesso em: 17 abril 2008.
2. BALBISSIN JR.; R. Aquecimento de água para limpeza com tanques resfriadores de leite. **Leite e derivados** n. 89. São Paulo, jan/fev. 2006.
3. CALIL, R. M.; Alguns cuidados básicos merecem mais atenção. **Leite & derivados** n. 89. São Paulo, jan/ fev.2006.
4. COSTA, E.O. Resíduos de antibióticos no leite um risco à saúde do consumidor. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.10 n.1 p.44,p 15-17, 1996.
5. BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. **Microbiología alimentaria**. Zaragoza: Acribia, S.A., 1994. 437p.
6. ROQUE-SPECHT, V. F. **Desenvolvimento de um modelo de gerenciamento de riscos para o aumento da segurança alimentar**. 2002. 157 f. tese de doutorado. programa de pós-Graduação em Engenharia de produção, universidade Federal de Santa catarina, Florianópolis.
7. ANGELILLO, I. F.; VIGGIANI, N. M. A.; RIZZO, L.; BIANCO, A. Food Handlers and food-borne diseases: knowledge, attitudes and reported behavior in Italy. **Journal of Food Protection**, v.63, n.3, p.381-385, 2000.
8. MEER, R.; MISNER, S. What is a food-borne illness? The University of Arizona - **Cooperative Extension**, AZ1065, n.5, 1999.

9. ANDERSON, J. B.; SHUSTER, T. A.; HANSEN, K. E.; LEVY, A. S.; VOLK, A. A camera's view of consumer food-handling behaviors. **Journal of the American Dietetic Association**, v.104, n.2, p.186-191, 2004.
10. FRENZEN, P. D. **Deaths due to unknown foodborne agents. Emerging Infectious Diseases**, v.10, n.9, p.1536-1543, 2004.
11. SCHLUNDT, J. New directions in foodborne disease prevention. **International Journal of Food Microbiology**, v.78, p.3-17, 2002.
12. JONES, T. F.; GERBER, D. E. Perceived etiology of foodborne illness among public health personnel. **Emerging Infectious Diseases**, v.7, n.5, p.904-905, 2001.
13. MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L. F.; BRESSE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-625, 1999.
14. BOOR, K. J. **Pathogenic microorganisms of concern to the dairy industry. Dairy, Food and Environmental Sanitation**, v.17, n.11, p.714-717, 1997.
15. BREWER, M. S. **Food Storage, Food Spoilage, and Foodborne Illness**. Urbana, Illinois: Phyllis Yates Picklesimer, 1991, 19pp.
16. MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L. F.; BRESSE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, v.5, n.5, p.607-625, 1999.
17. JAY, J. M. Foods with low numbers of microorganisms may not be the safest foods OR, why did human listeriosis and hemorrhagic colitis become foodborne diseases? **Dairy, Food Environmental Sanitation**, v.15, p.674-677, 1995.
18. DURR J, W. **Como produzir leite de alta qualidade**. Brasília: Senar, 2005.
19. BRASIL. Instrução Normativa nº. 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade de leite tipo...**Diário Oficial da União**, Brasília, p.13, 21 de set. de 2002. Seção 1.

20. IDARON. Instituto de defesa agrossilvopastoril de Rondônia. **Boletins técnicos-2008**. Porto Velho - RO- Brasil.
21. IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>[mar 2004]
22. SEAPES, Secretaria de Estado da Agricultura. **Boletim técnico** março 2008- Porto Velho- Rondônia.
23. BELIK, W. **Perspectivas para segurança alimentar e nutricional no Brasil**. Saúde Soc 2003; 12:12-20.
24. LAVINAS, L.; NABUCO.M. R. Segurança alimentar: uma nova questão de cidadania. In: CAVALCANTI, J. E. A .; VIEIRA, W. C. (Ed). **Política agrícola e segurança alimentar**. Viçosa, MG: UFV, 1996. p. 67-75.
25. REIS F. Controle de alimentos: aplicação dos principais de análise de riscos. In: PORTUGAL, J. A .; NEVES, B. S.; OLIVEIRA, A C. S.; SILVA, P. H. F.; BRITO, M.A V. P. (Ed). **Segurança alimentar na cadeia do leite**. Juiz de Fora: Epamig; Instituto de Laticínios Cândido Tostes; Embrapa Gado de Leite, 2002. p. 7-29.
26. BRANDÃO, S. C. C. Segurança alimentar com foco no consumidor final. In: VILELA, D. MARTINS, C. E; BRESSAN, M; CARVALHO, L. A (Ed). **Sustentabilidade da pecuária de leite do Brasil: qualidade e segurança alimentar**. Goiânia:CNPq; Serrana Nutrição Animal; Embrapa Gado de Leite,2001. p.39-46.
27. BERNARDES, P. R. Principais desafios da cadeia Produtiva do leite. In: **WORKSHOP SOBRE IDENTIFICAÇÃO DAS PRINCIPAIS RESTRIÇÕES AO DESENVOLVIMENTO DA CADEIA PRODUTIVA DO LEITE DA REGIÃO NORTE**, 2003, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite; CNPq. 2003. p. 231.237.
28. GONTIJO, J. A. Situação atual e perspectivas do cooperativismo leiteiro. Palestra proferida no 1º. **Fórum de Política Leiteira Nacional e 2º. Seminário da Comissão Nacional de Pecuária do Leite**, Juiz de Fora, nov. 2001.
29. VALENTE, F.L.S. **Fome, desnutrição e cidadania: inclusão social e direitos humanos**. Saúde Soc 2003; 12:51-60.

30. RADIMER, K.L, OSON, C.M, GREENE J.C, CAMPBELL, C.C, HABICHT, J-P. Understanding hunger and developing indicators to assess it in women and children. **J Nutr Educ** 1992; 24 (1 Suppl):36-44.
31. BICKEL, G, NORD M, PRICE C, Hamilton W, Cook J. Measuring food security in the United States: guide to measuring household food security. Alexandria: **Office of Analysis, Nutrition, and Evaluation**, U.S. Department of Agriculture; 2000.
32. AMIOT, J. **Ciencia y tecnologia de la leche**. Zaragoza: Acribia, 1991. 547p.
33. HUTH,P.J.; DIRIENZO,D.B.; MILLER,G.D. Major scientific advances with dairy foods in nutrition and health.**Jornal of Dairy Science**, Savoy, v.89 p.1207-21, 2006.
34. BRASIL, Decreto-Lei no 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Diário Oficial da União, Rio de Janeiro, p.10.785, 07 jul. 1952.
35. BRASIL. Portaria nº. 166, de 05 de maio de 1998. Cria Grupo de trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade.... **Diário Oficial da União**, Brasília, p.42, 06 de maio 1998. Seção 1.
36. BOHRER. O.L.M. **Manejo da ordenha e qualidade do leite**. Porto Alegre: Senar/ Ar-rs, 2003.
37. www.lacteabrasil.org.br) acessado em 25/04/2010.
38. BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. Ed. **A qualidade do leite**.Juiz de Fora: Embrapa/ Minas Gerais: Tortuga. 1998. 88p.
39. HANSEN, J.; HOLM, L.; FREWER, L.; ROBINSON, P.; SANDØE, P. **Beyond the knowledge deficit: recent research into lay and expert attitudes to food risks**. **Appetite**, v.41, p.111-121, 2003.
40. ZWIETERING, M. H.; van GERWEN, S. J. C. Sensitivity analysis in quantitative microbial risk assessment. **International Journal of Food Microbiology**, v.58, p.213-221, 2000.

41. McMEEKIN, T.A.; BROWN, J.; KRIST, K.; MILES, D.; NEUMEYER, K.; NICHOLS, D. S.; OLLEY, J.; PRESSER, K.; RATKOWSKY, D. A.; ROSS, T.; SALTER, M.; SOONTRANON, S. Quantitative microbiology: a basis for food safety. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.4, p.541-549, 1997.
42. LAMMERDING, A. M.; PAOLI, G. M. Quantitative risk assessment: an emerging tool for emerging foodborne pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.4, p.483-487, 1997.
43. SUN, Y.-M.; OCKERMAN H. W. A review of the needs and current applications of hazard analysis and critical control point (HACCP) system in foodservice areas. **Food Control**, v.16, p.325-332, 2005.
44. FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, v.14, n.68/69, p.70-77, 2000.
45. COTTON, L. N.; WHITE, C. H. *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* e *Salmonella* in dairy plants environments. **Journal of Dairy Science**, v.75, n.1, p.51-57, 1992.
46. STEELE, M. L.; McNAB, W. B.; POPPE, C.; GRIFFITHS, M. W.; CHEN, S.; DEGRANDIS, S. A.; FRUHNER, L. C.; LARKIN, C. A.; LYNCH, J. A.; ODUMERU, J.A. Survey of Ontario bulk tank raw milk from food-borne pathogens. **Journal of Food Protection**, v.60, n.11, p.1341-1346, 1997.
47. MENDES, E. S.; LIMA, E. C.; NUMERIANO, A. K. M.; COELHO, M. I. S. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e coliformes em queijos de “coalho” comercializados em Recife. **Higiene Alimentar**, v.13, n.66/67, p.122-126, 1999.
48. ORRISS, G. D. Animal diseases of public health importance. **Emerging Infectious Diseases**, v.3, n.4, p.497-502, 1997.
49. ICMSF - International Commission on Microbiological Specifications for Foods, *Microorganisms in foods 7: Microbiological testing in food safety management*. *KluwerAcademic/Plenum Publishers*, 2002.
50. REIJ, M. W.; van SCHOTHORST, M. Critical notes on microbiological risk assessment of food. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.31, n.1, p.01-08, 2000.

51. FAO/WHO. Report of the Joint FAO/WHO: **Expert Consultation on Risk Assessment of Microbiological Hazards in Foods**. Rome, p.17-21 July 2000.
52. NOTERMANS, S.; NAUTA, M. J.; JANSEN, J.; JOUVE, J. L.; MEAD, G. C. A risk assessment approach to evaluating food safety based on product surveillance. **Food Control**, v.9, n.4, p.217-223, 1998.
53. NAUTA, M. J. Separation of uncertainty and variability in quantitative microbial risk assessment models. **International Journal of Food Microbiology**, v.57, p.9-18, 2000.
54. BELMONTE, E. A.; LAGO, N. C. M. R. Pesquisa de micro-organismos indicadores em leite pasteurizado integral comercializado nas cidades de Ribeirão Preto e Sertãozinho, SP. In: **I CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2004**, Passo Fundo RS. CD-Rom do I Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 2004.
55. PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; POLÔNIO, A. L. C.; HONAGA, M. Y. Adequação do leite produzido na região de Araçatuba aos padrões preconizados pela IN51 - MARA. Parte 2: leite individual. In: **I CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2004**, Passo Fundo RS. CD-Rom do I Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 2004.
56. BUENO, V. F. F.; MESQUITA, A. J.; NICOLAU, E. S.; MANSUR, J. R. G.; NEVES, R. B. S. Parameters of microbiological quality of raw milk and water in dairy farms in Goiás state - Brazil. In: **II CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2002**, Ribeirão Preto SP. CD-Rom do II Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite. 2002.
57. VIANA, L. R.; HENZEL, A.; SPRICIGO, D. A.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; VARGAS, A. C. Qualidade do leite *in natura* recebido pela usina escola de laticínios da UFSM. In: **XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2002**, Gramado RS. **CD-Rom do XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2002**.
58. LOURENÇO, L. F. H.; SILVA, M. S. S. Análises físico-química e microbiológica como indicadores da qualidade do leite cru comercializado no município de Castanhal/Pará. In: **XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2000**, Fortaleza CE. **Livro de Resumos do**

XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, v.1, p. 3.153, 2000.

59. BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; SOUZA, J. A.; NERO, L. A.; SANTANA, E. H. W.; BALARIN, O.; CURIKI, Y. **Avaliação da qualidade do leite cru comercializado em Cornélio Procópio**, Paraná. Controle do consumo e da comercialização. *Semina: Ciências Agrárias*, v.20, n.1, p.12-15, 1999.
60. POIATTI, M. L.; PARO, F. M.; SCHOCKEN, P. F. L.; SCHOCKEN-ITURRINO, R. P. Características microbiológicas do leite tipo B “*in natura*” e pasteurizado em diferentes pontos do fluxograma de beneficiamento. In: XX CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1999, Salvador BA. **Livro de Resumos do XX Congresso Brasileiro de Microbiologia**, p.381, 1999.
61. MOURA, S. M., DESTRO, M. T. & FRANCO, B. D. G. M. Incidence of *Listeria* species in raw and pasteurized milk produced in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, v.19, p.229-237, 1993.
62. BRUM, J. V. F.; GONÇALVES, N. B.; MASSON, M. L. Pesquisa de micro-organismos psicrótróficos em leite cru produzido nos estados de Paraná e Santa Catarina. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.59, n.33, p.182-185, 2004.
63. GUIMARÃES, R. Importância da matéria prima para a qualidade do leite fluido de consumo. **Higiene alimentar**, v.16, n 102/103, p. 25-34, 2002.
64. SANTOS, E. S.; CARVALHO, E. P.; ABREU, L. R. Psicrótróficos: consequências de sua presença em leites e queijos. **Boletim da SBCTA**, v.33, n.2, p.129-138, 1999.
65. PRATA, L. F.; FUKUDA, S. P.; MARTINS, L. S.; FIGUEIREDO, S. F. Influência da coleta a granel, em dais alternados, sobre a qualidade do leite cru mantido sob refrigeração na fazenda. **Higiene Alimentar**, v.10, n.45, p.29-34, 1996.
66. VERAS, J. F.; RAPINI, L. S.; COUTO, I. P.; MENDONÇA, A. H.; SILVA, A. O.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; PENNA, C. F. A. M. Monitoring of the raw milk quality and sanitation of teats and dairy equipment. In: II CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE, 2002, Ribeirão Preto SP. CD-Rom do II **Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite**. 2002.

67. CARLOS, L. A.; CORDEIRO, C. A. M.; FOLLY, M. M.; MARTINS, M. L. L. Avaliação físico-química, microbiológica e de resíduos de penicilina, em leite tipo C comercializado no município de Campos de Goytacazes, RJ. **Higiene Alimentar**, v.18, n.123, p.57-61, 2004.
68. CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; LEITE, M. O.; BARBOSA, E. M.; ALMEIDA, M. R. Características físico-químicas e microbiológicas de leite integral pasteurizado em propriedades rurais comercializadas em Minas Gerais. In: XV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1996, Poços de Caldas MG. **Livro de Resumos do XV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p.140, 1996.
69. SILVEIRA, I.A Influencia de micro-organismos psicrotóxicos sobre a qualidade do leite refrigerado. Uma revisão. **Higiene Alimentar**, v.12,n.55,p.21-26, maio 1998.
70. MONTEIRO, A. A.; VACCARELLI, E. R. S.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V.; PONTES NETTO, D.; NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; VILLAS-BÔAS, A. M.; SANTANA, E. H. W.; MORAES, L. B.. Aspectos higiênico-sanitários no fluxograma de uma usina de beneficiamento de leite: interferência sobre a qualidade do produto final. In: **I CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2004**, Passo Fundo RS.CD-Rom do I Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 2004.
71. CARVALHO, E, P. **Microbiologia de alimentos**. Lavras:UFLA/FEPE,1999.
72. NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O. D. Evaluation of microbiological characteristics of type C milk and of plastics containers used in packaging in processing plant in São Paulo state, Brazil. **Revista de Microbiologia**, v.20, n.3, p.261-266, 1990.
73. PEREIRA, M. G. **Epidemiologia Teoria e Pratica**-Editora Guanabara-Koogan-Rio de Janeiro, RJ p.281, 2002.
74. SILVA, N.; R.C.JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A **Manual de métodos de análises microbiológicas de água**. Campinas: ITAL, Núcleo de Microbiologia, 2001.99p.

75. AVILLA, C. R.; GALLO, C. R. Survey of Salmonella in raw milk, pasteurized milk and Minas Frescal cheese commercialized in Piracicaba, Brazil. **Scientia Agricola**, v.53, p.159-163, 1996.
76. BARREIRA, V. B.; MELO, L. H. M. S.; RISTOW, A. M.; MARINI, S.; LACERDA, S. S. P. Pesquisa de resíduos de antibióticos em amostras de leite da cooperativa regional agropecuária de Macuco, município de Macuco, estado do Rio de Janeiro. In: I **CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 2004, Passo Fundo RS. CD-Rom do I Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 2004.
77. LEME, F. B. P.; DIAS, R. A.; RAMAOS E SILVA, E. O. T.; PALERMO NETO, J.; BALIAN, S. C. Presença de resíduos de antimicrobianos de uso veterinário em amostras de diferentes tipos de leite comercializados na cidade de São Paulo. In: I **CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 2004, Passo Fundo RS. CD-Rom do I Congresso Brasileiro de Qualidade do Leite. 2004.
78. FARIAS, A. X.; NASCIMENTO, M. G. F.; COSTA, S. D. O.; CORTÊS, M. V. C. B. Avaliação da qualidade do leite, quanto à presença de resíduos de antibióticos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.59, n.33, p.428-430, 2004.
79. KOIDE, E. M.; GIROTO, J. M. Verificação da presença de resíduos antimicrobianos em leite *in natura* na região dos Campos Gerais - Paraná. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.59, n.33, p.436-438, 2004.
80. NASCIMENTO, G.G.F.; FIGUEIREDO, S.H.M.; IBISSES, °B.; ANTONELLI, E.M. Condições microbiológicas do leite pasteurizado comercializado em Piracicaba, SP. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25,n.1,p.13-21, jan.jun. 1991.
81. ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S. C. S. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza-CE-Brasil. **Higiene Alimentar**, v.10, n.41, p.29-32, 1996.
82. VASCONCELOS, S. A.; CÔRTEZ, J. A.; ITO, F. H. Bases para a prevenção da brucelose. **Comunicações Científicas da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo**, v. 11, n.1, p.25-36, 1987.

83. MITSCHERLICH, E. & MARTH, E. H. Microbial survival in the environment. **Bactéria and Rickettsiase important in Human and Animal Health**. Springer Verlag, Berlin, 1984, 802 pp.
84. PAULIN, L. M. & FERREIRA NETO, J. S. **O Combate a brucelose bovina. Situação brasileira**. FUNEP, Jaboticabal, 2003, 154pp.
85. GRANGE J. M. & YATES, M. D. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection. **Veterinary Microbiology**, v. 40, p. 137-151, 1994.
86. CORREIA, C. N. M. & CORREA, W. M. Tuberculose humana por bacilo bovino em São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 41, n.3, p. 131-134, 1974.
87. JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 7th.ed. ASPEN Publishers , Gaithersburg, MD. 2005. 854p.
88. JAY, J. M. **Modern food microbiology**. 5.ed New York: Chapman and Hall, 1996. 661p.
89. FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996. 182p.
90. TEIXEIRA, A. M.; MASSAGUER, P. R.; FERREIRA, E. C.; TOSELLO, R. M. Agilizando a contagem de bactérias em leite cru brasileiro. **Industria de Laticínios**, v.4, n. 25, p.46-4-, 2000.
91. ROGICK, F. A. Produção higiênica do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.37, n.221, p.35-38, 1987.
92. GOUNOT, A. M. Psychrophilic and psychrophilic microorganisms. **Nederlands Melk en Zuiveltijds**, n. 42, p.1192-1197, 1986.
93. COLLINS, E. B. Heat resistant psychrotrophic microorganisms. **Journal of Dairy Science**, v.64, n.1, p.157-160, Jan. 1981.

94. SANTANA, E.H.W. Micro-organismos psicrotróficos em leite. **Higiene Alimentar**, v. 15, n.88.p.27-33, set. 2001.
95. WENDPAP L.L.; ROSA, O;O Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo C comercializado em Cuiabá-MT. **Higiene Alimentar**, v.17, n. 47. p.17-20, jan/fev. 1997.
96. 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.
97. SANTOS, C,C,M.; PERESI, J.T.M.; LOPES, M.R.V. avaliação microbiológica e físicoquímica do leite pasteurizado comercializado na região de São José do Rio Preto-SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.1, n.58, p.85-89,1999.
98. SANTOS E. G. C.; RAIMUNDO, S. M. C.; ROBBS, P. G. Microbiological evaluation of butter purchased from the market of Rio de Janeiro. I. Indicator and pathogenic microorganisms. **Revista de Microbiologia**, S. Paulo, v. 26, n. 3, p. 224-229, 1995.
99. SORHAUNG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. **Food Science & Technology**, v.8, p.35-41, Feb. 1997.
100. BRAMLEY, A J.; McKINNON, C.H. **The microbiology of raw milk. In: ROTHWELL, R.K. (Ed). Dairy microbiology. London: Elsevier, 1990. v.1, cap.5,p.136-207.**
101. MUIR ,D.D. The shelf-life of dairy products: 1. Factors influencing raw milk and fresh products. **Journal of the Society of Dairy Technology**, v.49, n.1,p.24-32,1996.
102. MORENO, I.; VIALTA, A ; LERAYER, A L.S.; T.J.G.; VAN DEN DER, AG.F.; MACHADO, R.C. Qualidade microbiológica de leites pasteurizados produzidos no Estado de São Paulo. **Industria e Laticínios**. N.13,p.56-61,1999.
103. OLIVEIRA J., CARUSO B. G. J; -Leite : **Obtenção e Qualidade do Produto Fluido e Derivados** – V.2. Piracicaba – SP: FEALQ, 1996.

104. BONASSI, A T. Métodos atuais e modernos para análise do leite e derivados. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.39 n.235,p.17-22,1984.
105. FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, D.C. **Microbiologia de los alimentos**. 4.ed. Zaragoza: Acribia, 1993.677p.
106. VANDERZANT, C.; SPLITTSTOSSER, D.F. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 3 ed. Washington: *American Public Health Association* 1992. 1219p.
107. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: varela, 1997.295p.
108. SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA, CTAA, 1995. 159p.
109. HAJDENWUECEL J.R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1998.66p.
110. TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O F.; CANDEIAS J. A N. microbiologia. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 166p.
111. PEREIRA, M. A.; RODRIGUES, K L.; MOREIRA C. N. *Escherichia coli* verotoxigênica em leite cru e beneficiado em Pelotas, RS. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2001, Foz do Iguaçu PR. **Livro de Resumos do XXI Congresso Brasileiro de Microbiologia**, p.405, 2001.
112. PINTO, M.S., PIRES, A.C., PAULA, J.C.J.; FURTADO, M.M. Índice de *Staphylococcus* sp e *Escherichia coli* em queijos artesanais produzidos na Europa e no Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n. 345, p. 331-334, 2005.
113. PINTO, M. S. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal do Serro**. Viçosa, UFV, 134 p., 2004. (Dissertação de mestrado).

114. SABIONI, J. G.; HIROOKA, E. Y.; SOUZA, M. L. R. Intoxicação alimentar por queijo de Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista de Saúde Pública**. S. Paulo, v. 22, n.5, p. 458-461- 1988.
115. FEITOSA, T.; BORGES, M. F., NASSU, R. T; AZEVEDO, E.H.F.; MUNIZ, C.R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, v. 23 (Supl.), p. 162-165, Dez, 2003.
116. LOGUERCIO, A. P.; ALEIXO, J. A .G. Microbiologia de queijo tipo Minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.31, n.6, p. 1063-1067, 2001.
117. SANTOS, E. C. dos; GENIGEORGIS, C. Potencial for presence and growth of *Staphylococcus aureus* in brazilian Minas cheese whey. **Journal of Food Protection**, n. 3, v. 44, p. 185-188, 1981.
118. BORGES, M. F., PEREIRA, J. L.; NASSU, R.T, MIYA, N.T.N. KUAYE, A . Y., Enterotoxina estafilocócica em queijo de coalho industrializado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 60, n.345, p. 224-227, 2005.
119. LE MINOR, L. Facultatively anaerobic Gram-negative rods: Genus III. *Salmonella*. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J. G. (Ed). **Bergey' manual of systematic bacteriology**. 9.ed. Baltimore: Willians & Wilkins, 1984. v.1, p. 408-600
120. D' Aoust, J. Y. *Salmonella*. In: DOYLE, M.P.(ed). **Foodborne bacterial pathogens**. New York: Marcel Dekker, 1989. cap.6, p.327-445.
121. DOYLE, M. P.; OLIVER, D. O. **Salmonella** In: CLIVER, D. O. (Ed). **Foodborne diseases**. San Diego: Academic Press, 1990. cap. 11,p.185-204.
122. ROITMAM, I.; TRAVASSOS, R.; AZEVEDO, J.L. **Tratado de microbiologia**. São Paulo: Monole, 1988. v.1, 186p.
123. CHAVES,J.B.P. **Análise de riscos na indústria de alimentos**. U.F.V. fevereiro de 2004.

124. ACHA P. N. e SZYFRES B. **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre Y a los Anamales**, Organizacion Panamericana de La Salud, 3ª. Ed, v. I Bacteriosis y Micosis, Washington, 2003. 398 pp. (Publicacion Cientifica y Técnica, 580).
125. DALTON, C. B.; AUSTIN, C.C.; SOBEL, J. HAYES, P. S.; BIBB, W. F.; GRAVES. L. M.; SWAMINATHAN, B.; PROCTOR, M. E.; GRIFFIN, P. M. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. **New England Journal of Medicine**, v. 336, p. 100-106,, 1997 .
126. EIROA,U. M. N. *Listeria monocytogenes* - Características, ocorrência e desenvolvimento em alimentos. **Coletânea ITAL Campinas**, v. 20, n.1, p. 13-22, 1990.
127. LOIR, Y.; BARON, F.; GAUTIER M. **Staphylococcus aureus and food poisoning. Genectic and Molecular research**, v. 2, n.1, p. 63 -76, 2003.
128. CERQUEIRA, M. M. ° P. ; SOUZA, M. R. RODRIGUES, R.; FONSECA L. M.; RUBINICH, J., QUINTAES, I. A. S. Características microbiológicas do leite cru beneficiado em Belo Horizonte (MG). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 46, n.6, p.713-721, 1994.
129. GARCIA CRUZ, C.H.; HOFFMANN, F. L.; VINTURIM, T.M. Estudo microbiológico de queijo tipo Minas-frescal de produção artesanal, comercializado na cidade de São José do Rio Preto, SP. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 54, n.2, p. 78-82, 1994
130. ALTEKRUSE,S. F.; STERN, N.J.; FIELDS, P.; SWERDLOW, D. L. *Campylobacter jejuni*. An emerging foodborne pathogen. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n.1, p.1-10, 1999.
131. BARROS, V. R. M. Ocorrência em níveis de *Bacillus cereus* no leite em pó integral comercializado na capital do Estado de São Paulo, 1990, 43 f. **Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)**, São Paulo.
132. BARROS, V. R. M. Estudo de fatores de patogenicidade de *Bacillus spp* isolado em leite UHT, 2004, 116. **Tese (doutorado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)**, São Paulo.

133. BRASIL. Portaria nº. 56, de 07 de dezembro de 1999. Submete a consulta pública os regulamentos técnicos de padrão de identidade e qualidade do leite....**Diário Oficial da União**, Brasília, p.34, 08 de dez..1999. Seção 2.
134. PIRES, L.R.S.; A Utilização da Legislação Brasileira no Desenvolvimento de Programas de Qualidade Como BPF, PPHO e APPCC. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 59, n. 339, p. 63-72, jul./ago. 2004.
135. BELOTI, V.; SANTANA, E. H. W.; FAGAN, E. P.; BARROS, M. A. F.; PEREIRA, M. S.; MORAES, L. B.; GUSMÃO, V. V.; MATTOS, M. R.; NERO, L. A.; VACCARELLI, E. R.; SILVA, L. H. C.; MAGANANI, D. F.; HAGA, M. M. Principais pontos de contaminação na produção leiteira e implementação de boas práticas. In: **II CONGRESSO PANAMERICANO DE QUALIDADE DO LEITE E CONTROLE DE MASTITE**, 2002, Ribeirão Preto SP. CD-Rom do II Congresso Panamericano de Qualidade do Leite e Controle de Mastite. 2002.
136. FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, v.14, n.68/69, p.70-77, 2000.
137. LOURENÇO, L. F. H.; SILVA, M. S. S. Análises físico-química e microbiológica como indicadores da qualidade do leite cru comercializado no município de Castanhal/Pará. In: **XVII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 2000, Fortaleza CE. **Livro de Resumos do XVII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.1, p. 3.153, 2000.
138. BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; FREIRE, R. L.; NERO, L. A.; SOUZA, J. A.; NAVARRO, I.T. Evaluation of physicalchemical and microbiological characteristics of pasteurized milk types commercialized in Londrina city, Paraná, Brasil. **Epidemiologie et Sante Animale**, n.311, p.04. A.50. 1997.
139. CERQUEIRA, M. M. O. P.; SOUZA, M. R.; LEITE, M. O.; BARBOSA, E. M.; ALMEIDA, M. R. Características físico-químicas e microbiológicas de leite integral pasteurizado em propriedades rurais comercializadas em Minas Gerais. In: **XV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 1996, Poços de Caldas MG. **Livro de Resumos do XV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, p.140, 1996.
140. SILVEIRA, N. V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, E. L. Avaliação das condições físicoquímicas e microbiológicas do leite pasteurizado consumido na cidade de São Paulo. **Revista do Instituto Adolf Lutz**, v.49, p.19-25, 1989.

141. BRASIL. Resolução nº. 3.038 de 25 de junho de 2003. Dispõe sobre o programa de incentivo à mecanização, ao resfriamento e ao transporte granelizado.... **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de junho de 2003.
142. PROLEITE – Programa de Leite de Rondônia. **Site:** www.ro.rondonia.gov.br. Acessado em 22/03/2010.
143. PEREIRA, M. G. **Epidemiologia Teoria e Prática**-Editora Guanabara-Koogan-Rio de Janeiro, RJ p.281, 2002.
144. GIL, Antonio Carlos. **Como elaborar projetos de pesquisa**. São Paulo: Atlas, 1991.
145. MARTINS, Gilberto de Andrade. **Manual para Elaboração de Monografias e Dissertações**. Editora Atlas. São Paulo. 2ª ed. 2000.
146. HORST, J. A. **Manual de operações de campo de coleta de amostras**. Curitiba Paraná. 2006.
147. BRITO, M.A.V.P., ARCURI, E.F., BRITO, J.R.F. Testando a qualidade do leite. In: DURÃES, M.C.; MARTINS, C.E.; DERESZ, F.; BRITO, J.R.F.; FREITAS, A.F.; PORTUGAL, J.A.B.; COSTA, C.N. MINAS LEITE. 2., 2000, Juiz de Fora. Avanços tecnológicos para o aumento da produtividade leiteira. **Anais...** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2000. p.83-94.
148. COUSIN, M. A. Presence and activity psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 45, p. 172, 1982.
149. GUERREIRO. P.K, MACHADO. M. R. F, A BRAGA. G. C., GASPARINO. E, ALEXANDRA FRANZENER.A. S. M. Qualidade Microbiológica de Leite em Função de Técnicas Profiláticas no Manejo de Produção. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005.
150. HICKS, C.L.; ALLAUDDIN, M.; LANGLOIS, B.E.; O'LEARY, J. Psychrotrophic bacteria reduce cheese yield. **J. Food Protec.**, v.45, p.331-334, 1982.
151. CHAMPAGNE, C.P.; LAING, R.R.; ROY, D. Psychrotrops in dairy products: their effects and their control. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.34, p.1-30, 1994.

152. ARCURI, E.F.; BRITO, V.P.; BRITO, J.R.F.; PINTO, S.M.; ÂNGELO, F.F.; SOUZA, G.N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** , Belo Horizonte, v. 58, n. 3, 2006 . Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>. Acesso em: 09 Sep 2007.
153. FONSECA, L. F. L. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: [s.n.], 1998. p. 54-56.
154. VIANA, L. R.; HENZEL, A.; SPRICIGO, D. A.; LOGUERCIO, A. P.; WITT, N. M.; VARGAS, A. C. Qualidade do leite *in natura* recebido pela usina escola de laticínios da UFSM. In: XXIX CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2002, Gramado RS. **CD-Rom do XXIX Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, 2002.
155. NERO, L. A. *Listeria monocytogenes e salmonella spp* em leite cru produzido em quatro regiões no Brasil, fatores que interferem sua detecção. **Tese de doutorado** USP-SÃO Paulo-SP 2005.
156. MESQUITA, A. J., BUENO, V. F. F. Estudos sobre a qualidade do leite do Estado de Goiás-GO. **Tecnologia e Gestão na atividade leiteira**. Juiz de Fora-MG. Embrapa gado de leite, 2005.
157. FONSECA, L. F. L. Qualidade do leite e sua relação com equipamento de ordenha e sistema de resfriamento. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba, PR. **Anais...** Curitiba: [s.n.], 1998. p. 54-56.
158. BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; RIBEIRO, M. T.; et al. **Padrão de infecção intramamária em rebanhos leiteiros: exame de todos os quartos mamários das vacas em lactação**. 2005. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v.51, n.2,p.129-135.
159. MACHADO, G. P. H., PEREIRA, D. I., KICHEL, S, M. Situação atual da qualidade do leite em Santa Catarina,SC **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiana-GO. Talento, 2006. pg. 82.

160. DURR J, W. MORO, D. V. RHEINHEIMER, V. TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no rio Grande do Sul -RS **Perspectivas e avanços da qualidade no leite no Brasil**. Goiânia-GO,: Talento, 2006, p.91.
161. ROSA, L.S.; QUEIROZ, M.I. Avaliação da qualidade do leite cru e resfriado mediante a aplicação de princípios APPCC. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.2, p.422-430, 2007.
162. OLIVAL, A. A. ; SANTOS, M. V. ; SPEXOTO, A. A. . Diagnóstico da produção de leite informal na microrregião de Pirassununga-SP. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 33, n. 7, p. 7-14, 2003.
163. CITADIN, A S; POZZA, M S S; POZZA, P C; NUNES, R V; BORSATTI, L; MANGONI, J Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.10, n.1, p.52-59, jan/mar, 2009.
164. YAMAMURA, A.A.M.; MULLER, E.E.; PRETTO-GIORDANO, L.G.; CONSENSA, M.; SILVA, P.F.N.; GODOY, A. Isolamento de *Prototheca* spp. de vacas com mastite, de tanques de expansão e do ambiente dos animais. **Semina - Ciências Agrárias**, v.28, n.1, p.105-114, 2007.
165. AUDIST, M.J.; HUBLLE, I.B. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. **Austr. J. Dairy Technol.**, v.53, p.28-36, 1998.

ANEXOS

Anexo 1: Patógenos alimentares associados ao leite (referência)

Microorganismo	Fonte Natural	Importância	Dose Infectiva	T ótima de multiplicação
<i>Salmonella spp.</i>	Aves, animais selvagens e domésticos, homem, insetos	Patógeno comum em doenças de origem alimentar. Associado a deficiências na higiene e ou no processamento de alimentos.	Baixa: 5 a 24 UFC/ml de leite; 4 UFC/Kg de leite em pó; 0,4 a 9,3 UFC/100 de queijo.	37 °C
<i>Listeria monocytogenes</i>	Solo, vegetações, homem, água.	Pode multiplicar-se lentamente mesmo a temperaturas de refrigeração. Taxa de mortalidade: 30% dos infectados.	Desconhecida, provavelmente baixa para organismos imunodeprimidos.	25 a 30 °C
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Água, suínos, pequenos roedores	Números crescente de casos. Sintomas similares a apendicite, porém não necessitando cirurgia	Desconhecida, provavelmente alta (>10 ⁶ UFC).	32 A 34 °C
<i>Clostridium perfringens</i>	Solo, sedimentos marinhos, poeira, fezes	Esporos termoresistentes. Toxina termolábil formada durante a esporulação no intestino	Alta: 4 x 10 ⁹ células. 8 a 10 mg de toxina.	43 a 45 °C
<i>Bacillus cereus</i>	Solo, vegetais, leite <i>in natura</i>	Esporos termoresistentes. Toxina pode ser formada no intestino ou em alimentos.	Relatos de que seja 1,2 x 10 ³ UFC.	30 °C
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pele, glândulas da pele e membranas mucosas. Por ex. nariz, unhas, e furúnculos	Pode passar para os alimentos facilmente pela manipulação incorreta. Produz toxina termoresistente.	1 mg: toxina/ g de alimentos	37 °C
<i>Escherichia coli</i>	Ambiente (solo, água, fezes, estrume de gado), trato digestivo de animais. Leite <i>in natura</i> .	Microorganismo indicador de más condições higiênicas. Há cepas produtoras de toxinas termoestáveis e termolábeis.	Alta: 10 ⁵ a 10 ⁸ /g.	30 a 37 °C
<i>Campylobacter jejuni</i>	Solo, água, trato digestivo de animais leite <i>in natura</i> .	Causa uma das mais importantes diarreias a nível mundial. Embora não multiplique bem em alimentos, estes podem ser veiculadores.	Baixa: 5 x 10 ² /g	42 a 45 °C
Vírus	Atmosfera, água, em todos os organismos vivos.	Causam por ex. hepatite tipo A e gastroenterites. Não se multiplicam em alimentos, mas podem ser veiculados através destes.	Diversas – Baixas (possivelmente 100 partículas).	Não se aplica
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Água fresca, água de esgotos, água do mar.	Microorganismo capaz de multiplicar em temperaturas de refrigeração. Produz 2 tipos de toxinas.	Desconhecida	45 °C
<i>E. coli</i> 0157: H7	Gado bovino, fezes de ovelhas, carne e leite <i>in natura</i> .	Enterohemorrágica Sintomas severos que podem ser fatais.	Desconhecida	45 °C
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Água, esgotos.	Produz oocistos resistentes à desinfecção química. Sobrevive por até 1 ano em solução aquosa.	Baixa: < 10 oocistos	Não há multiplicação

FONTE: Adaptado de Mortimore e Wallace (1997).

ANEXO 2

SÉRIE HISTÓRICA DO REBANHO BOVINO LEITEIRO						
RANKING MUNICIPAL						
MUNICÍPIO	ANO					Ranking em 2007
	2003	2004	2005	2006	2007 *	
Jaru	267424	288827	317697	302857	342485	1º
Ouro Preto D'Oeste	291449	259043	267501	260079	252912	2º
Ji-Paraná	203399	192639	200569	174055	170836	3º
Jorge Teixeira	130707	125428	146726	139799	163821	4º
Nova Mamoré	88528	84356	103407	110493	133869	5º
Presidente Médici	116406	111950	135757	118603	124377	6º
Alvorada D'Oeste	117873	141016	125363	126618	122192	7º
Theobroma	90568	91904	109794	99827	117189	8º
Vale Paraíso	110603	128266	128390	109056	109057	9º
Urupá	108343	107152	105940	105713	106075	10º
Machadinho	64531	103388	114206	86139	100982	11º
Nova União	87426	87697	96530	108170	99704	12º
Buritis	65726	72430	86001	87129	95382	13º
São Miguel	78383	87528	94480	94915	95088	14º
Cacoal	66362	83979	72140	90175	86443	15º
Espigão D'Oeste	45867	60472	71756	84176	79854	16º
Mirante da Serra	75040	80610	78046	80096	79024	17º
Rolim de Moura	72603	70148	79164	76575	70683	18º
Campo Novo	32854	41869	56971	58032	68823	19º
Teixerópolis	65843	66297	68487	59105	58930	20º
Monte Negro	38634	37691	49721	52183	55581	21º
Santa Luzia	27198	40312	75592	61752	52591	22º
Corumbiara	35168	25874	33929	56525	51855	23º
Ariquemes	32553	24354	33415	44683	50405	24º
Colorado D'Oeste	44836	51409	53779	63863	49597	25º
Seringueiras	47948	60261	65263	59674	49087	26º
Vale do Anari	46104	52028	53994	46064	45350	27º
Cacaulândia	36321	28633	40713	37005	37161	28º
Porto Velho	11651	18673	17051	31983	35089	29º
Nova Brasilândia	44736	38041	51358	46953	34113	30º
Cabixi	27703	28197	30300	38034	31582	31º
São Francisco	11343	10858	30753	35764	28317	32º
Cerejeiras	17731	20529	22673	29176	25717	33º
Alto Paraíso	15411	19124	23756	23687	24755	34º
Novo Horizonte	39838	29737	32286	27111	23586	35º
São Felipe	42910	22349	23159	22592	21153	36º
Candeias do Jamari	17870	17332	22955	22583	20536	37º
Castanheiras	21877	22362	23460	21687	19772	38º
Parecis	9186	14005	14048	20077	16135	39º
Primavera	14288	15175	14365	16886	15979	40º
Alta Floresta	22017	32032	26761	19079	15421	41º
Cujubim	9451	12476	17921	22132	15215	42º
Pimenta Bueno	29135	49461	24029	14799	14563	43º
M. Andreazza	20707	31208	30951	30357	14450	44º
Itapuá D'Oeste	17483	9552	24782	18763	14245	45º
Guajará Mirim	15678	14818	17371	14545	14106	46º
Vilhena	12376	13148	16204	12109	13004	47º
Alto Alegre Parecis	8889	14972	20425	18462	12820	48º
Pimenteiras	5561	5743	8295	9726	8948	49º
Costa Marques	5152	7793	7489	7735	8678	50º
Rio Crespo	3786	3108	3673	8637	7722	51º
Chupinguaia	2767	5489	7107	7933	6015	52º
TOTAL DO ESTADO	2916243	3061743	3376503	3314171	0	XXXXXX
Fonte: IDARON-RO						

ANEXO 3

	COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA FACIMED FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS DE CACOAL	
CERTIFICADO		
<p>Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "A QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE PRODUZIDO EM OURO PRETO DO OESTE – RONDÔNIA E SUA ADEQUAÇÃO À INTRODUÇÃO À NORMATIVA Nº 51/2002", sob o protocolo nº 135/2007, do Pesquisador GENALDO MARTINS DE ALMEIDA, sob a responsabilidade do Orientador: Professora Dra. Wilma Araújo, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa-FACIMED.</p>		
Cacoal, 09 de Abril de 2007.		
 _____ <i>Prof. Ms. Regina Célia Politano</i> coordenadora CEP/FACIMED		

APÊNDICES

APÊNDICE 1

Universidade de Brasília – UNB
Faculdade de Ciências da Saúde

Projeto de pesquisa: QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DO LEITE CRU
REFRIGERADO NO MUNICÍPIO DE OURO PRETO DO OESTE – RONDÔNIA-
BRASIL

Pesquisador: Genaldo Martins de Almeida

Orientadora : Prof^a. Dr^a. Wilma Maria Coelho Araújo

Pesquisa de campo

1-Identificação da Propriedade:

Endereço:

Nome do Produtor:

Área total da propriedade:

Área de Pastagem:

.ha

Total do rebanho----- Vacas em lactação total -----leite/dia-----

Atividade econômica principal:- -----

Outras atividades econômica exploradas na propriedade

2- Ambiente de ordenha

Curral coberto	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Curral coberto e com piso	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Curral coberto, com piso e fosso	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Água encanada	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Curral de espera dos animais	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

3- Procedimento da extração do leite

Extração manual	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Extração manual e ordenhadeiras	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Ordenhadeiras	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Lava e seca os tetos	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Faz algum tratamento após a ordenha	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

4- Responsável pela extração do leite

Proprietário	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Filhos	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Empregados	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Parceiros	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

Outros -----

5- Manejo do rebanho

Usa mineral	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Vermífugo	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Controla moscas e carrapatos	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Suplementação alimentar	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Pastejo rotacionado	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Exames de brucelose	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Exames de tuberculose	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Controle leiteiro	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

5.1 Faz controle de mastite

<input type="checkbox"/> não faz	<input type="checkbox"/> mensal	<input type="checkbox"/> bimensal
<input type="checkbox"/> outro-----		

6-Origem da água usada na limpeza da atividade

<input type="checkbox"/> poço	<input type="checkbox"/> represa	<input type="checkbox"/> nascente	<input type="checkbox"/> rio
-------------------------------	----------------------------------	-----------------------------------	------------------------------

outro-----

6.1Faz algum tratamento da água

<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
------------------------------	------------------------------

7-Têm assistência técnica

<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
------------------------------	------------------------------

7.1 Responsável pela assistência técnica

Indústria	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Revenda de produtos	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Órgãos oficiais	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

7.2 Quais -----

Periodicidade da assistência técnica

semanal mensal bimensal outro -----8- Conhece a qualidade microbiológica do leite produzido sim não

Informação da indústria	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não
Informação de órgãos oficiais	<input type="checkbox"/> sim	<input type="checkbox"/> não

9- Tem problema com energia após a instalação do tanque de resfriamento

 sim não

10- Outras informações que considere importante:

APÊNDICE 2

Qualidade Higiênico-Sanitária do Leite Cru Refrigerado no Município de Ouro Preto do Oeste - Rondônia, Brasil.

Hygienical- Sanitary Quality of Raw Milk Refrigered in Ouro Preto do Oeste-Rondônia, Brazil.

Genaldo Martins de ALMEIDA³, Wilma Maria Coelho ARAÚJO⁴; Adilson Miranda de ALMEIDA⁵, Cristina Bergman Zaffari GRECELLE⁶

RESUMO

Esse trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite cru refrigerado em 32 propriedades leiteiras que possuem tanques individuais de refrigeração. O leite cru foi coletado entre 8h e 12h e transportado ao laboratório até às 13h30 min. As amostras eram mantidas sob refrigeração até o momento das análises. A contagem de bactérias mesófilas aeróbias teve como referência o limite de 10^6 UFC/mL, conforme referência da IN-51. Para identificar a relação entre os dados obtidos e as condições higiênico-sanitárias das amostras pesquisadas realizou-se pesquisa qualitativa por meio de um questionário com perguntas fechadas e semi-fechadas. Para avaliar a adequação à IN-51, as amostras foram agrupadas em duas classes: as que se encontravam dentro do padrão e as que se

3

4

5

6

¹ Mestre em Gestão de negócio, Trabalho aprovado para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde - Faculdade de Saúde – Universidade de Brasília. E-mail: gema@uol.com.br CREA 1148-D – Ro. Autor para correspondência. Rua tiradentes 257 CEP 78984 000 Pimenta Bueno- Rondonia

² Doutora em Tecnologia de Alimentos. Departamento de Nutrição. Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde - Faculdade de Saúde – Universidade de Brasília. wilma.araujo@terra.com.br

³ Professor Esp^a - Faculdade de Ciências Biomédicas de Cacoal-(Facimed) adilson_ma@hotmail.com

Mestre em Microbiologia - Laboratório Veterinário da Universidade Luterana do Brasil (Ulbra) Ji-Paraná- Rondônia. czaffari@gmail.com CRMV 00689- Ro

encontravam fora do padrão. Os dados obtidos permitem concluir que apenas 65,6% das propriedades pesquisadas estão de acordo com os padrões estabelecidos na legislação, enquanto 34,4% ainda precisam se adequar à IN-51.

ABSTRACT

This work had as objective to evaluate the hygienical-sanitary quality of refrigerated raw milk in 32 milk properties that possess individual tanks of refrigeration. The raw milk was collected in the period between 8:00 and 12:00 and transported to the laboratory till 13h30min. The samples were kept under refrigeration until the moment of the analyzes. The counting of aerobic bacteria mesófilas had as reference the limit of 10^6 UFC/mL of mesófilos aerobic organisms, according to the reference IN-51. To identify the relation between the previous information and the hygienical-sanitary conditions of the searched samples qualitative research by means of a questionnaire with closed and half questions was fulfilled. To evaluate the adequacy to in-51, the samples had been grouped in two classeroms: the ones which were if found the standard and the ones that they were off the standard. The obtained data allow to conclude that 65.6% of the searched units are in accordance with the standards stipulated , while 34.4%still need to adjust themselves to IN51.

INTRODUÇÃO

O estado de Rondônia instalou, na década de 70, dois laticínios – um em Porto Velho e outro em Ouro Preto do Oeste para, inicialmente, beneficiar o leite *in natura* e mais tarde produzir queijo e manteiga. Este processo fomentou o surgimento de indústrias de pequeno, médio e grande portes que, hoje, totalizam 71 empresas, das quais 58 têm o serviço de inspeção federal e estadual (SEAPES, 2006). No estado, o agronegócio é explorado por 94.968 propriedades rurais, das quais 83,79% (79.573 propriedades rurais) apresentam a atividade de bovinocultura. O rebanho total é de 10.246.201 de cabeças e desse total 30,7% (3.144.144) correspondem ao gado leiteiro (IDARON, 2006).

Em Rondônia, a produção de leite ocorre em pequenas propriedades com mão de obra familiar. Classifica-se como o nono produtor de leite do país com uma produção anual em torno de 637 milhões litros/ano (IBGE, 2007). Na cadeia produtiva, a bacia leiteira de Ouro Preto do Oeste é a mais significativa; conta com cerca de 260 mil animais com aptidão leiteira. Corresponde a 8,32% de todo o rebanho leiteiro no estado e produziu em 2005, 67.944.161 litros, o que correspondeu a 12,75 % da produção estadual, (IDARON,2006). No entanto, não é possível estimar se o desenvolvimento da produção de leite na região acompanhou os requisitos técnicos para obtenção de produtos adequados, especialmente sob o ponto de vista higiênico-sanitário.

Neste contexto, este trabalho se propõe a avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido e armazenado em tanques de expansão individuais sob refrigeração. O estudo é prospectivo com a conotação de “seguimento”, (PEREIRA, 2002), descritivo, por relatar características de determinado fenômeno e quantitativo com a finalidade de determinar o número de ocorrências, bem como as intensidades dos fenômenos individuais que compõem o fenômeno coletivo.

MATERIAIS E MÉTODOS

O Município de Ouro Preto do Oeste possui 35 propriedades leiteiras dotadas de tanques de expansão individuais de resfriamento. A partir da definição desta amostra, foram estabelecidos outros critérios de inclusão para manter a uniformidade entre produtores de leite; tipo de ordenha (manual e mecânica), localização em regiões de fácil acesso durante o ano todo. Foram excluídas as propriedades que acondicionam leite em latões, que possuem tanques coletivos de resfriamento.

As amostras são intencionais e não probabilísticas. Das 35 propriedades que possuem tanques individuais de refrigeração, 32 foram selecionadas para participarem do total das amostras pesquisadas; das outras três, duas foram excluídas porque não são gerenciadas pelos proprietários e outra, o produtor não autorizou a colheita das amostras.

A coleta de amostras foi mensal, durante o período de abril a agosto de 2007. Em atendimento à legislação preconizada pela IN-51 utilizou-se as médias geométricas para minimizar o efeito de contagens extremas sobre as médias mensais com 3 repetições nas 32 propriedades, totalizando 96 amostras coletadas, sendo 20 amostras analisadas mensalmente das quais, 10 amostras eram colhidas às sextas-feiras da primeira quinzena do mês, enquanto as outras 10 eram colhidas às sextas-feiras da segunda quinzena do respectivo mês e no mês de agosto foram analisadas 16 amostras.

O leite cru foi colhido em frasco esterilizado com capacidade de 50ml. A colheita foi realizada das 8h às 12h e transportada para o laboratório da ULBRA até às 13h30 min. Os frascos foram transportados em recipiente isotérmico contendo cubos de gelo e mantidos sob refrigeração com temperatura de 5°C até o momento da execução das análises. Todas as amostras foram analisadas no mesmo dia da coleta.

Para estabelecer uma relação de interferência entre fatores que poderiam, antes, durante e após a ordenha contribuir com os riscos biológicos relacionados à qualidade higiênico-sanitária e à segurança alimentar do leite cru na bacia leiteira do município de Ouro Preto do Oeste, realizou-se uma pesquisa qualitativa, os fatores analisados foram: ambiente da ordenha, procedimento da extração do leite, manejo do rebanho, água utilizada e energia elétrica.

As entrevistas foram realizadas por meio de questionários pelos extensionistas da Empresa (Emater-RO) do município de Ouro Preto do Oeste, que foram treinados pelo pesquisador, para fazer as perguntas sempre da mesma maneira para cada entrevistado. Para evitar vieses, tomou-se o cuidado de não questionar as respostas dos entrevistados.

Foram feitas as análises microbiológicas para contagem padrão em placas, tendo-se como referência o limite de 10^6 UFC/mL de aeróbios mesófilos, critério estabelecido pela Instrução Normativa n.º51 (BRASIL, 2002), utilizando a metodologia preconizada por Silva *et al* (1997).

Realizou-se análise descritiva para obtenção das freqüências simples com cálculos da média, como medida de tendência central e desvio padrão, como medida de dispersão para as variáveis pertinentes à propriedade e ao manejo do

rebanho. Para a inferência de variáveis, foi utilizado o Teste de Wilcoxon e Anova, para avaliar a diferença das médias em momentos diferentes. Em todos os cálculos estatísticos foi usado um nível de significância de 5%.

As amostras, que estavam em acordo e as amostras que estavam em desacordo foram agrupadas em duas classes, as que se encontravam dentro do padrão e as que estavam fora do padrão da IN-51. Para estas análises, utilizou-se a técnica de regressão logística multivariada, com o procedimento *stepwise*. O critério adotado para a seleção de variáveis, a partir do modelo multivariado, foi o de razão de verossimilhança - *likelihood maximum* (HOSMER e LEMESHOW, 1989). Todas as variáveis dependentes relacionadas ao ambiente da ordenha, procedimento da ordenha do leite, manejo do rebanho, água utilizada e energia elétrica foram dicotomizadas da seguinte maneira: 1 para resposta afirmativa e 0 para resposta negativa.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As propriedades avaliadas possuíam áreas de terra de $173,7 \pm 283,1$ ha, nas quais a área de pastagem era de $123,3 \pm 114,3$ ha. Nestas propriedades o número de cabeças de gado variou de 80 a 1200 cabeças de gado, com média de $295,3 \pm 211,6$ cabeças de gado, sendo que dessas, existiam em lactação uma média de $61,8 \pm 47,1$ cabeças. A produção diária de leite nestas propriedades foi de $291,5 \pm 283,9$ litros/dia. Quanto à capacidade dos tanques de armazenamento, houve uma variação entre 715 litros e 2600 litros, com uma média geral de 1037,7 litros e desvio padrão de 477,2 litros.

Na análise descritiva dos resultados encontrados para a contagem bacteriana total (CBT), obtidos no período de abril a agosto de 2007, foi encontrada uma média para todo o período estudado de $1,3949 \pm 1,1315 \times 10^6$ ufc/mL, com mediana de $1,450 \times 10^6$ ufc/ml e coeficiente de variação de 81,12%, havendo uma diminuição considerável no número total de bactérias encontradas.

A IN-51 estabelece que, para comparar o limite máximo de 10^6 ufc/mL, é necessário levar em consideração a média geométrica das três últimas análises de

cada produtor. De acordo com esta definição, entre os produtores pesquisados, verifica-se na figura 1 que 65,6% estão de acordo com os padrões estipulados pela IN-51, enquanto 34,4% ainda precisam se adequar. Em muitos casos, problemas de acondicionamento pode ser a principal causa de contaminação do leite, porém entre os produtores pesquisados, observa-se (conforme tabela 1) que não houve nenhuma relação entre os problemas que os produtores têm com o acondicionamento do leite com os padrões estipulados pela IN-51. O mesmo não acontece entre aqueles que não fazem controle de mastite. As chances de um produtor que não faz controle de mastite estar fora dos padrões da IN-51 é sete vezes maior do que aqueles que fazem o controle, mostrando valores estatisticamente significantes ($p \leq 0,05$).

Os fatores ligados à higienização, como limpeza dos tetos, utilização de água tratada e problemas como falta de energia para a manutenção dos tanques também podem interferir na qualidade do leite extraído na propriedade. As chances de um produtor que não faz a higienização dos tetos é 56% maior de não atingir a adequação da IN-51. Os produtores que não utilizam água tratada possuem 45% de chances de não se adequarem a IN-51. Os que disseram apresentar algum tipo de problema com o fornecimento de energia, tiveram suas chances aumentadas em 23% de não estarem dentro dos níveis estipulados pela IN-51.

O Ministério da Agricultura e Pesquisa Agropecuária (MAPA) iniciou há mais de 10 anos uma discussão nacional, envolvendo os setores científicos e econômicos da área leiteira, para melhorar a qualidade do leite produzido e consumido no Brasil. Dessa discussão originou-se o Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL), projeto que já estava em andamento desde 1996, (BRASIL, 1998) e, posteriormente, transformou-se nas novas normas de produção leiteira publicadas na Instrução Normativa nº51 (IN51/ MAPA, 2002), de 18 de setembro de 2002 (BRASIL, 2002).

Esta normativa prevê que a coleta do leite seja feita a granel e determina aos produtores a adoção de tanques resfriadores, individuais ou comunitários, com temperatura controlada e nunca superior a 10°C, independentemente do tipo de leite. Conforme esta nova regulamentação, o leite passa a ser denominado “leite cru refrigerado”; além disso, o produto deve ter uma contagem de aeróbios mesófilos

máxima de 10^6 UFC/mL, objetivo a ser atingido em diferentes prazos de acordo com a localização geográfica da região produtora.

No Estado de Rondônia, esta regulamentação entrou em vigor em 1º de julho de 2007, e desde então tem-se uma constante busca pela melhoria da qualidade higiênico-sanitária do leite, pois uma grande concentração de diferentes bactérias no leite pode comprometer sua qualidade, influenciando aspectos sensoriais, vida de prateleira e possibilidade de risco ao consumidor (HICKS *et al.*, 1982; CHAMPAGNE *et al.*, 1994).

Para se atingir os níveis determinados pela IN-51, é preciso estar atento aos procedimentos na cadeia produtiva, como por exemplo: saúde da glândula mamária, higiene de ordenha, ambiente em que o animal fica alojado, higienização dos equipamentos de ordenha, temperatura, dentre muitos outros fatores que estão diretamente relacionados à multiplicação de microrganismos, afetando, conseqüentemente, a contagem bacteriana total (FONSECA, 2000).

No mês de abril/2007, quando esta pesquisa teve início, 75% das amostras estavam em desacordo com a IN-51, ou seja, acima de 10^6 UFC/ml de aeróbios mesófilos e, posteriormente, verifica-se a adesão dos produtores à IN 51, revelando sua preocupação com a qualidade do leite produzido. Considerando ainda os valores da média geométrica das três últimas análises de cada produtor, verifica-se que 65,6% dos produtores pesquisados estão adequados aos valores mínimos estabelecidos pela IN-51. Provavelmente, esse resultado foi obtido porque esse programa de melhoramento da qualidade do leite contou com uma parceria entre o governo do estado de Rondônia e a Emater-RO, por meio de seus extensionistas, que passaram a assistir os produtores que trabalham com a atividade leiteira no programa Pró-Leite.

Dürr *et al.* (2006), em estudo sobre a qualidade do leite no Rio Grande do Sul, no primeiro ano de vigência dos novos regulamentos da IN-51, analisaram 488.359 amostras de tanques refrigerados no período de junho/2005 a julho/2006 e concluíram que a média geométrica da contagem total de bactérias ficou acima do máximo estabelecido em sete dos doze meses analisados, variando de 31,9% (junho/05) a 64,4% (janeiro/06).

No estudo realizado no estado de Santa Catarina por Machado *et al.* (2006) foram analisadas 98.260 amostras no período compreendido entre os meses de outubro/2005 a junho/2006; 58,9% das amostras analisadas apresentaram-se com uma contagem total de bactérias acima de um milhão/ml indicando uma importante contaminação bacteriana no leite cru refrigerado.

Resultados semelhantes também foram encontrados nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro, Brito *et al.* (2006), analisaram a qualidade do leite de 14.560 amostras entre julho/2005 a junho/2006 e verificaram que 48,7% não atendiam os requisitos. Na região sudeste, no período de julho/2005 a agosto de 2006, Machado *et al.* (2006), analisaram 273.483 amostras e a porcentagem de amostras não conforme ao estabelecido na IN 51 foi de 14%. Na região centro-oeste, Mesquita e Bueno (2005), no período de fevereiro a setembro de 2006, observaram que, no total de 36.074 amostras 25% estavam acima de um milhão (UFC)/ml.

Nero (2005) analisou a qualidade do leite cru em quatro estados produtores de leite no Brasil. O leite foi coletado em 210 propriedades, destas, 47 de Viçosa-MG, 50 de Pelotas-RS, 63 de Londrina-PR e 50 de Botucatu-SP. Concluiu-se que 48,6% das amostras apresentavam contagem acima do estabelecido na IN/51, de acordo com a seguinte distribuição: 21,3% na região de Viçosa, 56% na região de Pelotas, 47,6% na região de Londrina e 68% na região de Botucatu.

Segundo Audist e Hublle (1998), alguns patógenos da mastite causam alterações no processo de síntese do leite dentro da glândula mamária, podendo afetar sua qualidade. No presente estudo verificou-se que, em relação ao cumprimento da IN 51, o risco relativo dos produtores que não fazem controle de mastite é sete vezes maior do que o daqueles que fazem este tipo de controle. Como a disseminação da mastite no rebanho ocorre principalmente durante a ordenha, pelas mãos dos ordenhadores e equipamentos de ordenha, a adoção de procedimentos de higienização nessa fase é essencial para o controle efetivo da mastite e para redução do número de microrganismos no leite.

Fatores ligados à higienização como, limpeza dos tetos, tratamento da água utilizada no curral, problemas como eletricidade e acondicionamento mostraram associados aos resultados das análises feitas neste estudo, que a boa qualidade do leite se dá em função de um bom manejo, uma vez que estes requisitos são

essenciais para a obtenção de uma melhor qualidade do leite. Guerreiro *et al.* (2005) chamam a atenção para estes requisitos por serem de fundamental importância. A implantação da IN-51 exige que as propriedades que praticam a atividade leiteira adotem manejos e tecnologias adequadas e eficientes na eliminação dos focos de contaminação do leite. Isso requer planejamento e investimento em infra-estrutura e mão-de-obra que favoreçam os produtores de leite numa escala de produção sustentável, principalmente do ponto de vista econômico e de segurança alimentar.

Com esse avanço da produção, no Estado de Rondônia, o leite passa a ter um papel de destaque no agronegócio e este, conseqüentemente, passa a contribuir de forma mais expressiva no desempenho do agronegócio do país. Contudo, é preciso estar atento porque os requisitos técnicos para obter produtos adequados, especialmente sob o ponto de vista higiênico-sanitário, não acompanharam a produtividade.

CONCLUSÃO

A hipótese do trabalho se relaciona ao fato de que a qualidade higiênico-sanitária do leite, no estado de Rondônia, fundamenta-se na falta de conhecimentos dos atores locais da cadeia, pela falta de um sistema de informações que permita o monitoramento e a implementação de alternativas para controlar os riscos, especialmente, biológicos relacionados à segurança do produto obtido no município de Ouro Preto do Oeste do Estado de Rondônia.

Acredita-se, que os resultados desta pesquisa permitirão estabelecer um diagnóstico da produção de leite no município, estimar os riscos relacionados à segurança alimentar e propor alternativas que minimizem os problemas originários desde a produção primária contribuindo para o desenvolvimento efetivo sustentável, equilibrado e com produção de alimento seguro.

A adoção de práticas apropriadas de manejo higiênico-sanitária, como as verificadas nas propriedades pesquisadas, levam a uma diminuição na contagem de bactérias mesófilas. Portanto, conclui-se que apenas 65,6% das propriedades encontram-se dentro dos padrões, enquanto 34,4% ainda precisam se adequar à IN 51.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de pós-graduação em Ciências da Saúde - Faculdade de Saúde
– Universidade de Brasília- DF.

À orientadora desta pesquisa. Dra. Wilma Maria Coelho Araújo.

À Emater-Rondônia pela oportunidade da realização deste estudo.

Ao Laboratório Veterinário da Universidade Luterana do Brasil (Ulbra) Ji-Paraná- Rondônia.

Aos extensionistas da Emater- Rondônia do escritório de Ouro Preto do Oeste- Rondônia.

Aos produtores, que permitiram a colheita das amostras para análises.

REFERÊNCIAS

AUDIST, M.J.; HUBLLE, I. B.; Effects of mastitis on raw milk and dairy products. Austr.J. Dary Technol., v.53, p,28-36, 1998.

BRASIL. Instrução Normativa nº. 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade de leite tipo. Diário Oficial da União, Brasília, p.13, 21 de set. de 2002. Seção 1

BRASIL. Portaria nº. 166, de 05 de maio de 1998. Cria Grupo de trabalho para analisar e propor programa e medidas visando ao aumento da competitividade. Diário Oficial da União, Brasília, p.42, 06 de maio 1998. Seção 1.

BRITO, J.R.F.; SOUZA, G. N.; FARIA, C. G.; Qualidade do leite de rebanhos bovinos localizados na região sudeste: Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro. Perspectivas e Avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia, Go,: Talento, 2006, p,50.

CHAMPAGNE. C.P.; LAING, R.R.; ROY, D. Psychrotrophic in dairy products: their effects and their control. Ver. Food Sci. Nutr. v. 34, p. 1-30, 1994.

DÜRR, J. W. MORO, D. V. RHEINHEIMER, V. TOMAZI, T. Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul, Rs. Perspectivas e Avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia, Go,: Talento, 2006 , p. 91.

FONSECA, L.F.I. A qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo, SP: Lemos Editorial, 2000.

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M.R.F.; BRAGA. G.B.; GASPARINO. E; Qualidade microbiologica de leite em função de tecnicas profilaticas no manejo de produção. Maringá- PR. 2005.

HICKS, C.L.; ALLAUDDIN, M.;LANGLOIS, B,E.;O'LEARY, J. Psychrotrophic bacteria reduce cheese yield. J. Food Protec.,v.45, p. 331-334, 1982.

HOSMER, D.W.& S. LEMESHOW. 1989. applied Logistic Regression. New York, John Wiley

IDARON. Instituto de Defesa Agrosilvopastoril de Rondônia-*Ranking* Municipal Gado Leiteiro -Boletim técnico 25 . Porto Velho -Rondônia 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em <http://www.ibge.gov.br>[mar 2007]

MACHADO, G. P.H.; PEREIRA, B, I.; KICHEL, S, M. Situação atual da qualidade do leite em Santa Catarina, SC, Perspectivas e Avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia, Go,; Talento, 2006. p.82.

MESQUITA, A. J.; BUENO, V.F.F. Estudos sobre a qualidade do leite no Estado de Goiás. Tecnologia e Gestão na Atividade Leiteira. Juiz de Fora , MG: Embrapa Gado de Leite, 2005.

NERO,L.A. *Listeria monocytogenes e salmonella ssp* em leite cru produzido em quatro regiões no Brasil, fatores que interferem sua detecção.Tese de doutorado USP- São Paulo-SP 2005.

PEREIRA, M. G. Epidemiologia Teoria e Prática -Ed. Guanabara-Koogan-Rio de Janeiro, RJ. p. 281. 2002.

SEAPES, Secretaria de Estado da Agricultura, Produção e Desenvolvimento Econômico e Social. FÁBRICA DE LATICÍNIOS E OUTROS ESTABELECIMENTOS COM INSPEÇÃO FEDERAL –SIF- Boletim técnico Dezembro 2006- Porto Velho-Rondônia.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A; SILVEIRA, N.F.A.; Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos. São Paulo: Varela, 1997.295p.

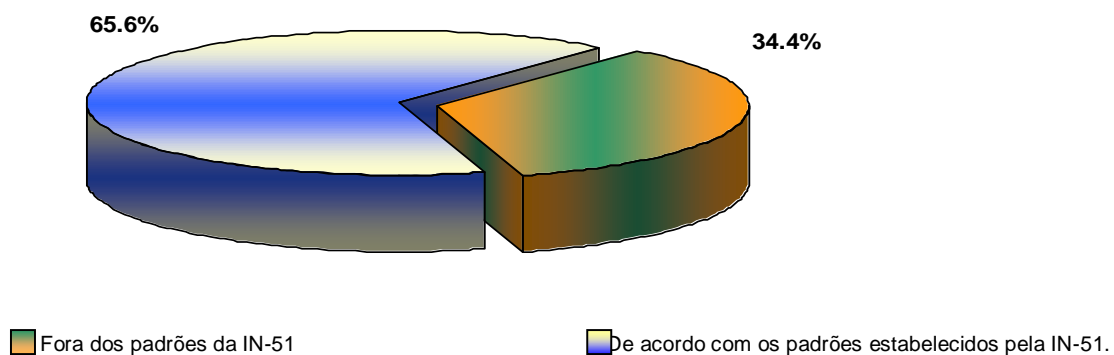


Figura 1: Distribuição dos produtores aos padrões estabelecidos pela IN 51, pelo cálculo da média geométrica das amostras realizadas, Ouro Preto do Oeste/RO, 2007.

Tabela 1: Distribuição dos produtores que possuem problemas de acondicionamento do leite e os que fazem controle de mastite com referência à prevalência de índices acima do valor preconizado pela IN-51, Ouro Preto do Oeste/ RO, 2007.

Variáveis	n	Prevalência	Odds Ratio	IC (95%)	p
Problemas de acondicionamento					
Não	22	25,1	1.33		
Sim	10	9,4	1,00	0.51 – 3,51	0.4386
Controle de Mastite					