

LENKA DE MORAIS LACERDA

QUALIDADE DO LEITE E DA ÁGUA DE PROPRIEDADES LEITEIRAS NOS  
MUNICÍPIOS DE MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ-MIRIM E SANTA RITA – MA

RECIFE – PE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

LENKA DE MORAIS LACERDA

QUALIDADE DO LEITE E DA ÁGUA DE PROPRIEDADES LEITEIRAS NOS  
MUNICÍPIOS DE MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ-MIRIM E SANTA RITA – MA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Veterinária do Departamento de Medicina  
Veterinária da Universidade Federal Rural de  
Pernambuco, como requisito parcial para obtenção  
do título de Doutor em Ciência Veterinária.

**Orientador:** Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

**Co-Orientadora:** Prof. Dra. Maria José de Sena

RECIFE

2008

Ficha Catalográfica  
Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE

L131q Lacerda, Lenka de Morais  
Qualidade do leite e da água de propriedades leiteiras nos Municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-mirim e Santa Rita – MA.  
/ Lenka de Morais Lacerda. -- 2008.  
91 f.: il.

Orientador: Rinaldo Aparecido Mota  
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária.  
Inclui apêndice e bibliografia.

CDD 637. 127

1. Leite
  2. Qualidade
  3. Água
  4. Miranda do Norte (MA)
  5. Itapecurú-mirim (MA)
  6. Santa Rita (MA)
- I. Mota, Rinaldo Aparecido
  - II. Título

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

QUALIDADE DO LEITE E DA ÁGUA DE PROPRIEDADES LEITEIRAS NOS  
MUNICÍPIOS DE MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ-MIRIM E SANTA RITA – MA.

Tese de Doutorado elaborada por  
LENKA DE MORAIS LACERDA  
Aprovada em...../...../.....

---

Prof. Dr. RINALDO APARECIDO MOTA  
Orientador – Departamento de Medicina Veterinária

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MANUELA FIGUEIROA LYRA DE FREITAS  
Faculdade Maurício de Nassau

---

Prof. Dr. DANIEL FRIGUGLIETTI BRANDESPIM  
UFRPE – Unidade Acadêmica de Garanhuns

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. ANDRÉA PAIVA BOTELHO LAPENDA DE MOURA  
Departamento de Méd. Veterinária da UFRPE

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. ANDRÉA ALICE DA FONSECA OLIVEIRA  
Departamento de Méd. Veterinária da UFRPE

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. MARIA JOSÉ DE SENA  
Co-Orientadora - Departamento de Méd. Veterinária da UFRPE

RECIFE – PE

2008

Aos Meus Pais Inocêncio Coelho  
Lacerda (*in memorian*) e Francisca  
Clemente de Moraes e a minha filha  
Juliana Lacerda Melo.

*Com Amor Dedicado.*

## AGRADECIMENTOS

A **DEUS** pelo dom da vida

Ao **Prof. Rinaldo Aparecido Mota** pela sábia orientação, amizade, compreensão e confiança em mim depositada para a realização deste trabalho.

A **Profª. Maria José de Sena** pela amizade, apoio e contribuições durante o curso.

A **Profª. Emiko Shinozaki Mendes** pela acolhida no Laboratório de Inspeção de Leite durante o Estágio Docência.

Ao **LANARA – PE** pelo estágio concedido.

Aos Professores do curso de doutorado em Ciência Veterinária da UFRPE, em especial a **Lêucio Câmara Alves, Maria Aparecida da Glória Faustino, Roberto Soares de Castro, Marcos Antonio de Oliveira Lemos e Andréa Paiva Botelho Lapenda de Moura.**

A **Universidade Federal Rural de Pernambuco** por ter proporcionado o curso de doutorado em Ciência Veterinária.

A **Universidade Estadual do Maranhão** pela liberação e pelo apoio financeiro através de bolsa.

À Amiga **Maria Inez Santos Silva** (UEMA) pela amizade constante, ajuda, incentivo e ensinamentos durante a realização do curso.

Aos Amigos **Maria de Fátima Viégas Lima e Benedito Gonçalves Lima** (UEMA) por estarem sempre dispostos a me ajudar em todos os momentos.

Aos Meus irmãos **Tatiana de Moraes Lacerda e Silva e Marcelo de Moraes Lacerda**, meu cunhado **Júlio César Melo e Silva** e as minhas sobrinhas **Camila Lacerda e Giulia Lacerda Melo e Silva**, pela verdadeira torcida pela vitória.

Ao **Laboratório de Microbiologia de Alimentos da UEMA** na pessoa da **Profª. Lúcia Maria Coelho Alves, Nancylene Pinto Chaves e estagiárias**, pelo apoio durante a realização do trabalho.

Ao **LACEN** em especial a **Ana Amélia e Deusilene** pela ajuda prestada.

Ao **Laboratório de Qualidade do Leite – UFG** em especial ao **Dr. Rodrigo Balduino Neves** pela confiança e ajuda nesse trabalho.

A **Clínica do Leite – ESALQ** pela realização das análises de pesquisa de resíduos de antibióticos no leite.

A **AGED** em especial ao **Dr. Inácio** pelas informações repassadas sobre as propriedades rurais.

A **Secretária da Pós-graduação Edna Isabel Chérias** pela amizade e ajudas durante todo o curso.

A **Prof.<sup>ª</sup> Áurea Wischral** pela atenção prestada na coordenação do curso.

Aos **Proprietários** pela gentileza em conceder as amostras e ter contribuído na realização do experimento.

A **Taciana Galba da Silva Tenório** e família pelo apoio e carinho como uma verdadeira amizade, ajuda nos momentos mais difíceis e pelos bons momentos compartilhados

A **Débora Rochelly Alves Ferreira** pela colhida no apartamento, amizade constante, incentivo e alegrias convividas.

A **todas as amizades** adquiridas durante o curso, em especial aos colegas de turma.

Aos amigos **Flávia Jackeline Bayma Anchieta, Cláudia Katherine Bayma Anchieta, Jane Carla Garcia Lindoso, Alderlina Ribeiro Pinto, Ana Cristina Ribeiro, Rejeana Márcia Santos Lima, Adriana Souza, Cláudia Castro, Rosa-Lima Vasconcelos Coelho Duailibe, Flávio Antonio Duailibe, Herlane de Olinda Vieira, Viviane Corrêa Silva, Margarida Paula de Sá, Michele Oliveira Carneiro, Kléber Lima Carneiro e Luenda Menezes** pela amizade em todos os momentos da minha vida.

A bibliotecária da UEMA **Glória Maria Baima**, pela ajuda nas correções das referências.

Enfim a todos que, contribuíram direta ou indiretamente na realização deste trabalho, o meu **“MUITO OBRIGADA”**.

## RESUMO

Este trabalho foi realizado tendo em vista a instrução normativa N° 51, publicada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), objetivando avaliar a influência da contagem de células somáticas (CCS), composição e contagem bacteriana total (CBT) sobre a qualidade do leite, além disso, investigou-se a ocorrência de resíduos de antibióticos no leite e a qualidade da água utilizada na higienização do úbere dos animais, equipamentos e utensílios de ordenha de propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, estado do Maranhão. Foram visitadas 20 propriedades leiteiras no período do verão (agosto a dezembro de 2006) e inverno (janeiro a julho de 2007), representando pequenos, médios e grandes propriedades. Verificou-se no período de verão que a média de CCS foi de 2.236.700 células/mL, gordura (%) de 3,87, proteína (%) de 3,19, lactose (%) de 4,36, EST (%) de 12,25, ESD (%) de 8,55 e CBT de 677,90 UFC/mL, e no inverno a média de CCS foi de 2.629.950 células/mL, gordura (%) de 3,87, proteína (%) de 3,27, lactose (%) de 4,45, EST (%) de 13,19, ESD (%) de 8,74 e CBT de 8421,35. Com relação à água utilizada no processo de ordenha, observou-se que 90% e 75% das amostras no verão e 90% e 70% das amostras no inverno encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela portaria n° 518/2004 do Ministério da Saúde, para contagem de Coliformes totais e *Escherichia coli*, respectivamente. As amostras de leite não continham resíduos de antibióticos, portanto encontravam-se em acordo com a IN N°51/MAPA. Conclui-se a importância da introdução de um trabalho de educação sanitária junto às propriedades estudadas, objetivando a melhoria da qualidade do leite produzido, principalmente quanto à qualidade microbiológica do leite nas propriedades estudadas.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leite, CCS, CBT, composição, resíduos de antibióticos e água.

## ABSTRACT

The present paper was produced under the orientations contained in the Ruling Protocol 51, issued by Brazilian Agriculture, Cattle-Raising and Supply Ministry (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, in Portuguese), aiming at evaluating the influence of Somatic Cell Counting (SCC; CCS in Portuguese), composition and Total Bacterial Counting (TBC; CBT in Portuguese) over milk quality. It also investigates the occurrence of antibiotic residue in the milk and the quality of the water used in the higienization of animal nipples, equipments and milking instruments in milk-producing facilities in the towns of Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim and Santa Rita, all located in Brazilian Maranhão state. Visits were made to 20 milk-producing facilities in summertime (August through December 2006) and wintertime (January through July 2007), representing small, medium and great properties. During summertime, ratings were 2,236,700 cells/mL SCC; 3.87% fat; 3.19% protein; 4.36% lactose; 12.25% EST; 8.55% ESD and 677.90 UFC/mL TBC. During wintertime, ratings were 2,629,950 cells/mL SCC; 3.87% fat; 3.27% protein; 4.45% lactose; 13.19% EST; 8.74% ESD and 8421.35 UFC/mL TBC. Regarding the water used in the milking process and considering the counting of total choliforms and *Escherichia coli*, respectively, 90% and 75% of samples collected during summertime, as well as 90% and 70% of samples collected during wintertime didn't meet requirements determined by regulation 518/2004, issued by Brazilian Health Ministry. The milk samples didn't contain antibiotic residues, therefore meeting the requirements of Ruling Protocol 51– MAPA. Such results confirm the importance of introducing an effort aimed at sanitary education involving the facilities studied and at the improvement of the quality of the milk produced, mainly regarding the microbiological quality of the milk found in the facilities studied.

**KEYWORDS:** Milk, SCC, TBC, composition, antibiotic residue and water

## LISTA DE TABELAS

	pág.
<b>EXPERIMENTO I</b>	49
Tabela 1 – Distribuição das propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, analisadas segundo as variáveis relacionadas ao manejo da ordenha.	56
Tabela 2 – Estatística das variáveis: percentual de gordura, proteína, lactose, EST e ESD segundo a estação do ano (verão e inverno), nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA.	57
Tabela 3 – Médias das variáveis: percentual de gordura, proteína, lactose, EST e ESD, CCS e CBT, segundo o volume de leite na estação do verão nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA.	58
Tabela 4 – Médias das variáveis: percentual de gordura, proteína, lactose, EST, ESD, CCS e CBT, segundo o volume de leite na estação do inverno nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA.	59
Tabela 5 – Média e desvio padrão das variáveis: gordura, lactose, proteína, EST e ESD segundo a CCS por estação do ano (verão e inverno) nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA.	61
<b>EXPERIMENTO II</b>	66
Tabela 1 – Distribuição das propriedades leiteiras analisadas segundo as variáveis relativas à água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-mirim e Santa Rita – MA.	70
Tabela 2 – Distribuição das propriedades leiteiras analisadas segundo as variáveis relativas ao estado de armazenamento da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-mirim e Santa Rita – MA.	71
Tabela 3 – Resultado de análises microbiológicas da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, durante o período do verão.	73

Tabela 4 – Resultados de análises microbiológicas da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, durante o período do inverno.	74
Tabela 5 – Estatística das variáveis: Coliformes total e <i>E. coli</i> da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, segundo a estação do ano (verão e inverno).	75
<b>EXPERIMENTO III</b>	80
Tabela 1 – Presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite cru de propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita no Estado do Maranhão no período de verão e inverno.	83

## LISTA DE ABREVIATURAS

APPCC	Análise de Perigo e Pontos Críticos de Controle
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CBT	Contagem Bacteriana Total
CBI	Contagem Bacteriana Individual
CCS	Contagem de Células Somáticas
CMT	California Mastitis Test
CPRG	Clorofenol $\beta$ -D-galactopiranosídeo
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Enzyme linked immunoabsorbant assay
ESALQ	Escola Superior de Agricultura Luis de Queiroz
EST	Extrato Seco Total
ESD	Extrato Seco Desengordurado
STD	Sólidos Totais Dissolvidos
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IN 51	Instrução Normativa nº 51
LMR	Limites Máximos de Resíduos
LMP	Limites Máximos Permitidos
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento
MS	Ministério da Saúde
mL	Mililitro
MUG	4-metil-umbeliferil- $\beta$ -d-glucurônico
NMP	Número Mais Provável
NOEL	Nível de Efeito Não Observado
ONPG	Orto-nitrofenol- $\beta$ -galactopiranosídeo
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNMQL	Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite
RBQL	Rede Brasileira de Laboratórios de Análise da Qualidade do Leite
RNA	Ácido ribonucléico
SNIG	Sólidos não-gordurosos

UAT	Ultra Alta Temperatura
UFC	Unidade Formadora de Colônias

## SUMÁRIO

	pág.
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	15
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	17
2.1 Qualidade do leite	17
2.2 Processo inflamatório da glândula mamária	21
2.3 Contagem de Células Somáticas no leite e Composição	23
2.4 Resíduos de antimicrobianos no leite	30
2.5 Qualidade da Água	35
<b>3. REFERÊNCIAS</b>	37
<b>4. EXPERIMENTOS</b>	49
<b>4.1 EXPERIMENTO I</b>	49
4.1.1 Contagem de células somáticas, composição e contagem bacteriana total do leite de propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Maranhão	49
<b>4.2 EXPERIMENTO II</b>	66
4.2.1 Qualidade microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Maranhão	66
<b>4.3 EXPERIMENTO III</b>	80
4.3.1 Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite bovino nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú- Mirim e Santa Rita, Maranhão	80
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	88
<b>6 APÊNDICE</b>	89

## 1 INTRODUÇÃO

O leite é um alimento que possui um perfeito balanço de nutrientes, fornecendo ao homem macro e micronutrientes indispensáveis ao crescimento, desenvolvimento e manutenção da saúde. Como fonte de proteínas, lipídeos, carboidratos, minerais e vitaminas, torna-se um dos alimentos mais vulneráveis a alterações físico-químicas e deterioração por microrganismos. Estas modificações podem limitar a durabilidade do leite e seus derivados, além de problemas econômicos e de saúde pública (ARCURI et al., 2006).

No Brasil, tem-se debatido cada vez mais, o pagamento diferenciado do leite baseado em critérios de qualidade da matéria-prima fornecida aos laticínios. Sem dúvida este assunto é relevante, pois trata-se de uma evolução do sistema de comercialização do leite e de um aprimoramento das relações entre indústria e produtores, além de premiar com uma bonificação aqueles produtores que dedicaram esforços, empenho e recursos financeiros para produzir uma matéria-prima de qualidade superior.

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) por intermédio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) publicou a Instrução Normativa Nº51 (IN Nº51) no Diário Oficial da União, em 18 de setembro de 2002. Esse regulamento normatiza a produção, estabelecendo os critérios e parâmetros de identidade e qualidade do leite, desde a ordenha, o resfriamento na propriedade rural e seu transporte a granel, incluindo requisitos físico-químicos e microbiológicos, contagem de células somáticas (CCS) e limites máximos de resíduos (LMR) de antimicrobianos. Com isto acredita-se e aposta-se em melhor remuneração do produtor e melhoria da qualidade do leite consumido no Brasil, além da adequação do produto aos padrões internacionais visando ampliar as exportações (LIMA et al., 2006).

O Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL) faz parte do “Programa de Modernização do Setor Lácteo no Brasil”, e consiste em um conjunto de medidas que em escala gradativa e plurianual visa a melhoria da qualidade do leite produzido no Brasil, no intuito de produzir leite e produtos lácteos com padrões de qualidade internacional, atender as crescentes exigências do mercado consumidor, colocar o leite brasileiro em condições de competir no futuro com países especializados em pecuária leiteira, possibilitar o aumento da produção nacional (primeiro atender ao consumo interno e, futuramente, poder exportar) e, melhorar as condições de pagamento ao produtor.

De modo geral, todos os ramos do “Sistema Agroindustrial do Leite” no Brasil têm demonstrado interesse crescente na melhoria da qualidade do leite e derivados, por um motivo

em grande parte logístico onde todos competem por mercado e consumidores. É necessária a sensibilidade e maior informação por parte do consumidor, além de normatização e fiscalização por parte do Governo sobre a produção de leite (SANTOS e FONSECA, 2007).

Segundo Costa (2006), a fase final da IN N° 51 foi dedicada à saúde da glândula mamária através da CCS, sendo que o Brasil iniciou o programa de forma contrária, tendo avançado no resfriamento do leite nas propriedades e no transporte do leite a granel, devido à necessidade da indústria em reduzir seus custos e melhorar a produtividade industrial. O controle da sanidade, redução da carga microbiana e da CCS e rígido controle de resíduos de antimicrobianos deverão caminhar juntos.

É importante avaliar não somente a qualidade do leite, mas também a da água utilizada nas propriedades rurais, visto que esta pode influenciar diretamente a qualidade da matéria-prima e também a eficiência da limpeza e higienização dos equipamentos e utensílios de ordenha, podendo se constituir em fonte potencial de contaminação.

Portanto, o diagnóstico da atual situação da qualidade do leite cru produzido nas regiões estudadas se justifica, visto que a Instrução Normativa N°51 determina prazos para que o leite produzido no Estado do Maranhão atenda aos padrões estabelecidos.

Enfatizando a importância da qualidade do leite e a ausência de pesquisas na literatura regional sobre o tema abordado, realizou-se este estudo, objetivando subsidiar a avaliação da qualidade do leite cru produzido em propriedades nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita do Estado do Maranhão, durante os períodos de verão e inverno, por meio da CCS e composição, contagem bacteriana total (CBT), pesquisa de resíduos de antimicrobianos no leite e coliformes totais e *Escherichia coli* na água utilizada no processo de ordenha.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Qualidade do leite

Considerando a importância do leite sob os aspectos nutricionais, econômicos e de saúde pública, a qualidade desse produto tem merecido a atenção de inúmeros pesquisadores. A produção de leite seguro tem por objetivo oferecer um produto com valor nutricional, que não comprometa a saúde humana (PARO et al., 2003).

Segundo Arcuri et al. (2006), a disponibilidade de nutrientes no leite, sua atividade de água e seu pH próximo da neutralidade o torna um meio extremamente favorável ao crescimento microbiano.

Quando o leite é proveniente de animais sadios e obtidos em condições higiênicas adequadas, o número de microrganismos é baixo, sendo predominantes *Micrococcus*, *Streptococcus* e *Corynebacterium*, além de lactobacilos saprófitas do úbere e canais galactóforos (JAY, 1996).

Normalmente, a microbiota contaminante do leite é composta por bactérias, enquanto que as leveduras e fungos são mais raros de serem encontrados. Dentre os contaminantes estão as bactérias lácticas, coliformes, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*, esporos de *Clostridium* e bastonetes Gram-negativos (LIMA, 1998).

Muitas bactérias contaminantes do leite cru produzem enzimas extracelulares (proteases e lipases) termorresistentes, cuja atividade residual afeta a qualidade dos produtos finais, mesmo na ausência de células bacterianas viáveis (BRITO et al., 2000).

Diferenças na contaminação dos tetos podem ser encontradas em vacas mantidas estabuladas ou a pasto, sendo consideradas importantes fontes de contaminação materiais usados como cama e ração (nos sistemas estabulados) e as fezes, nas duas situações (BRITO, 2000).

A obtenção do leite de vacas sadias, em condições higiênicas adequadas e o seu resfriamento imediato a 4°C são as medidas fundamentais e primárias para garantir a qualidade e a segurança do leite e seus derivados. A temperatura e o período de armazenamento do leite antes da pasteurização determinam, de maneira seletiva e pronunciada, a intensidade de desenvolvimento das diversas espécies microbianas contaminantes. As temperaturas baixas inibem ou reduzem a multiplicação da maioria das bactérias e diminuem a atividade de enzimas degradativas (ARCURI et al., 2006).

Com o intuito de melhorar a qualidade microbiológica do leite e seus derivados, várias medidas estão sendo implantadas no setor leiteiro. Neste contexto, as Boas Práticas de Fabricação (BPF) têm sido uma importante ferramenta para prevenir as contaminações e assegurar a produção de alimentos saudáveis (FAGAN et al., 2005).

A qualidade do leite na propriedade está associada a vários fatores, sendo que dentre os principais a serem considerados citam-se a sanidade do rebanho, instalações adequadas, utilização de boas práticas de produção, manejo adequado de ordenha e armazenagem do leite. Após esta primeira fase tem-se o transporte do leite até a indústria que deverá ser efetuado em caminhões apropriados, conforme legislação específica e após a entrada do leite na indústria, esta é responsável pelo armazenamento adequado do leite antes da industrialização visando manter a qualidade original da matéria-prima (HORST, 2006).

Segundo Lima (2003), a qualidade do leite varia entre rebanhos, regiões e países, além disso, existem os aspectos sanitários e as condições higiênicas para obtenção e preservação do leite. A contagem global de microrganismos, teores de gordura, de proteína, contagem de células somáticas, presença de resíduos de antibióticos, densidade do leite, sedimentos, ausência de tuberculose e brucelose nos rebanhos, são fatores que podem servir como indicadores internacionais da qualidade do leite.

O leite de boa qualidade é aquele que é saboroso, seguro, íntegro e nutritivo. A qualidade do leite não pode ser melhorada após sua saída da glândula mamária. O máximo que se pode fazer é preservar a qualidade do leite, para que não seja modificada no percurso entre a ponta do teto e o consumidor (DÜRR, 2004).

A qualidade do leite pode ser dividida em integridade e composição. Um leite íntegro é aquele que não sofreu a adição de substâncias nem a remoção de componentes, não sofreu deterioração física, química ou microbiológica e que seja livre de patógenos. A composição do leite define seu valor nutricional e industrial. Pode-se manipular a composição do leite através do manejo alimentar e do melhoramento genético. Por isso, na maioria dos países, nos quais a cadeia láctea está bem estruturada, a remuneração do leite na sua composição, ou seja, aquele que investe no aprimoramento da composição do leite agrega valor ao seu produto (VOLPI, 2004).

No Brasil, além da ordenha manual ser adotada em grande número de rebanhos, emprega-se, com frequência, a mamada do bezerro para estimular a descida do leite, sendo essa prática comum em outros países em desenvolvimento. No entanto, essa prática de colocar o bezerro para mamar como parte da preparação do úbere e estímulo à descida do leite, pode

contribuir para a contaminação dos tetos e dificultar os procedimentos higiênicos da ordenha (ZAFALON, 2003).

Segundo Brito et al. (2000), a mamada do bezerro para estimular a descida do leite contribui para aumentar em mais de dez vezes o número de microrganismos da superfície dos tetos e a lavagem com desinfetante e secagem com papel toalha são requisitos essenciais para se reduzir a contagem de bactérias dos tetos e do leite.

A preparação do úbere com ajuda do bezerro umedece a superfície dos tetos e cria duas situações de risco: o aumento da contaminação pelas bactérias próprias da cavidade oral do bezerro e o fato da superfície dos tetos úmidos propiciar maior facilidade de colonização por bactérias e conseqüentemente, pode dificultar a implementação de práticas higiênicas, tais como a de ordenhar tetos limpos e secos, que são importantes do ponto de vista de garantia da qualidade e do controle da mastite (BRITO et al., 2000).

Os microrganismos estão intimamente associados à disponibilidade, a abundância e a qualidade do alimento para consumo humano. Os alimentos são facilmente contaminados com microrganismos na natureza, durante manipulação e processamento. Após ter sido contaminado, o alimento serve como meio para crescimento de microrganismos. Se esses microrganismos tiverem condições de crescer, podem mudar as características físicas e químicas do alimento e podem causar deterioração (PELCZAR et al., 1997).

Atualmente, a demanda por produtos lácteos com maior vida de prateleira, manutenção de características sensoriais, nutritivas e de segurança são requisitos cada vez mais importantes para o consumidor e para a indústria e, conseqüentemente para o produtor, visto que a qualidade do leite tem como ponto de partida o local de produção (SANTOS, 2005).

A população microbiana total do leite cru varia de acordo com a contaminação inicial (proveniente do interior da glândula mamária, exterior do úbere e tetos e superfícies de equipamentos) e condições de armazenamento (BRAMLEY e McKINNON, 1990). A temperatura e umidade do ambiente afetam o crescimento microbiano e, portanto, podem influenciar a contaminação do leite (BUENO, 2004).

A temperatura de refrigeração exerce grande influência na contagem bacteriana, sendo observado por Bueno et al. (2003) que a contagem bacteriana total do leite refrigerado e conservado acima de 7°C foi significativamente maior que a do leite refrigerado e conservado em temperaturas inferiores a 7°C.

A Contagem bacteriana total (CBT) ou contagem global é a contagem do número de colônias presentes em uma dada amostra de leite, previamente incubada a 32°C durante 48

horas e dependerá basicamente da carga microbiana inicial do leite, bem como da taxa de multiplicação microbiana. A determinação da CBT também pode ser realizada usando-se equipamentos automatizados, os quais realizam a contagem individual de bactérias (CIB). Nesse método, as bactérias são coradas e posteriormente estimadas quanto à emissão de fluorescência. Para o transporte da amostra, podem ser usados conservantes que reduzem a atividade metabólica das bactérias, prolongando a vida útil da amostra a ser analisada (PICININ, 2003).

De acordo com Santos e Fonseca (2007), a grande vantagem da contagem eletrônica é a precisão, o baixo custo por análise e seu elevado rendimento analítico (rapidez), uma vez que os procedimentos podem ser automatizados. Em função dos padrões legais máximos para CBT do leite serem estabelecidos em UFC, existe a necessidade de transformação dos resultados de Contagem Individual de Bactérias (CIB) para UFC, por meio de uma curva padrão armazenada no software do equipamento.

A citometria de fluxo permite a utilização de substâncias bacteriostáticas na conservação das amostras, uma vez que não existe a necessidade de crescimento bacteriano para a quantificação como ocorrem no método de referência (GONZALO et al., 2003).

Para a determinação da CBT através da citometria de fluxo são recomendadas a utilização da refrigeração associada a um conservante. Atualmente o conservante mais utilizado é o azidiol, que possui como princípio ativo o cloranfenicol e a azida sódia, ambos bacteriostáticos (CASSOLI, 2005).

A ação do azidiol é bacteriostática e para que haja a conservação da amostra é necessário que este seja adicionado em quantidades adequadas (130 $\mu$ L), em frascos estéreis (aproximadamente 50 mL) e enviados em caixas isotérmicas com gelos recicláveis a um laboratório da RBQL. As amostras de leite estocadas a 4°C com azidiol podem ser conservadas estáveis por até uma semana sem modificação dos seus componentes podendo ser feita análises bacteriológicas utilizando o equipamento Bactoscan (BUENO, 2004).

A IN N° 51 do MAPA, estabelece 1,0 x 10<sup>6</sup> UFC/mL como número máximo de CBT até 2008, para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste, e até 2010 para as regiões Norte e Nordeste. Desta forma, as contagens serão de no máximo 7,5 x 10<sup>5</sup> UFC/mL de CBT, sendo ainda considerado a partir de 2011, o máximo de 1,0 x 10<sup>5</sup> UFC/mL no caso de tanques individuais e 3,0 x 10<sup>5</sup> UFC/mL para leite de conjunto, para todas as regiões (PICININ, 2003).

Estudos realizados em Minas Gerais revelaram elevada contaminação do leite armazenado em tanques de expansão com ocorrência de 25,81% a 52,5% de resultados acima de 1.000.000 UFC/mL (SOUZA et al., 1999).

Bueno (2005) analisou a CBT e CCS do leite cru refrigerado em tanques de expansão de uso individual no estado de Goiás durante os períodos de chuva e de seca, sendo verificados, 45,53% das amostras abaixo de 100.000 UFC/mL de CBT e 19,4% acima de 1.000.000 UFC/mL. As médias de CBT aumentaram durante o período das chuvas (novembro a abril).

Lima et al. (2006) ao avaliarem a CCS e CBT do leite cru produzido na Zona da Mata/MG, verificaram uma média de CBT de 1.860 UFC/mL, estando portanto, fora dos padrões preconizados pela Instrução Normativa Nº 51/MAPA.

Spexotol et al. (2005) ao implantarem o sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), objetivaram reduzir a CCS, mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, coliformes termotolerantes e CMT, no leite de uma granja leiteira de Descalvado-SP. Observou-se que a aplicação do sistema APPCC mostrou-se eficiente para o controle de coliformes totais e termotolerantes no leite, embora não tenha influenciado a contagem de mesófilos e psicrotróficos. Também não afetou a CCS no leite de mistura e os percentuais de mastite, porém reduziu o número de quartos afetados e a severidade dos casos de mastite, na avaliação pelo teste de CMT.

Martins et al. (2006) pesquisaram a qualidade do leite cru de 30 tanques de refrigeração por expansão direta no estado de Goiás, sendo encontrados 9 tanques com CBT acima de  $10^6$ , 14 entre  $10^5$  e  $10^6$  UFC/mL e 7 abaixo de  $10^5$  UFC/mL. Dos tanques de expansão com CBT  $> 10^6$  UFC/mL, 100% eram de uso coletivo e recebiam leite de propriedades que não possuíam refrigeração da produção pós-ordenha.

A partir do momento que se caracteriza o problema da qualidade microbiológica do leite, definidos os tipos de bactérias e potenciais prejuízos que estas acarretam, torna-se necessário discutir uma estratégia de controle que possa ser adotada para preservar a qualidade do leite (ALMEIDA et al., 2005).

## 2. 2 Processo inflamatório da glândula mamária

O leite tem sido considerado como o alimento mais próximo da perfeição, por apresentar, dentre outras características, um excelente valor nutritivo, devido principalmente

ao seu teor de proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas, sais minerais e água (HOFFMANN et al., 1999).

É um excelente alimento que favorece o crescimento dos mamíferos após o nascimento, fornecendo todos os nutrientes necessários nos primeiros meses de vida, como alimento único e a sua incorporação nos hábitos alimentares de crianças e adultos contribui para satisfazer grande parte das necessidades diárias de nutrientes essenciais (SANTOS et al., 2007).

Durante sua síntese nas células epiteliais da glândula mamária dentro dos alvéolos, o leite é considerado praticamente estéril. No entanto, ainda nessa etapa de produção, o leite pode ser contaminado por microrganismos (principalmente bactérias), a partir de três principais origens: o interior da glândula mamária, a pele do úbere e tetos, e da superfície interna do equipamento de ordenha e tanque. Sendo assim, a contaminação microbiana do leite cru sofre impacto direto de vários aspectos, como a saúde da glândula mamária, a higiene de ordenha, o ambiente em que a vaca fica alojada, os procedimentos de limpeza do equipamento de ordenha, além da qualidade da água utilizada. Aliado à temperatura e tempo de armazenagem do leite, que são fatores críticos, relacionados à velocidade de multiplicação dos microrganismos presentes no leite após a ordenha (SANTOS, 2007).

A mastite é a inflamação da glândula mamária e pode ser classificada em clínica e subclínica. A mastite subclínica apresenta prevalência muito maior que a forma clínica e caracteriza-se por alterações na composição do leite, tais como aumento no número de células somáticas e dos teores de cloro e sódio, além da diminuição nos teores de caseína, lactose e gordura (ZAFALON, 2003).

O método mais utilizado para o diagnóstico da mastite subclínica é o “California Mastitis Test” (CMT), que estima o número de células somáticas do leite. Uma das grandes vantagens deste teste é a de poder ser empregado no próprio rebanho, no momento em que os animais são ordenhados. É um método de fácil aplicação e praticidade, além de permitir informações sobre o estado de sanidade da glândula mamária dos animais lactantes (FAGLIARI et al., 1990).

Na prova do CMT, o detergente aniônico, rompe as células do leite, liberando ácidos nucléicos celulares que, em contato com o detergente, formam um complexo que modificam a viscosidade da mistura, leite e reagente. Quanto maior a viscosidade da mistura, maior a intensidade da positividade da prova, onde se estabelece cinco níveis e relacionam ao número de células somáticas: negativo (com no máximo 200.000 células/mL e 25% de polimorfonucleares); traço ou suspeito (150.000 – 500.000 células/mL, com 30 a 40% de

polimorfonucleares), uma cruz ou fracamente positivo (500.000 – 1.500.000 células/mL, com 40-60% de polimorfonucleares), duas cruzes ou claramente positivo (800.000 – 5.000.000 células/mL, com 60 – 70% de polimorfonucleares) e três cruzes ou fortemente positivo (com mais de 2.500.000 células/mL, com 70 – 80% de polimorfonucleares) (DELLA LIBERA, 1998).

A mastite causa sérias perdas aos produtores de leite no mundo inteiro. Entretanto, de forma mais simplificada, é definida como uma infecção intramamária causada por agentes patogênicos oriundos do ambiente e do próprio animal, tanto pela redução na quantidade e qualidade do leite e derivados, gastos com medicamentos, descarte prematuro de vacas, custos com serviços veterinários, além de aumento de mão-de-obra (BARBOSA et al., 2007).

Várias medidas devem ser tomadas durante o processo de ordenha, com a finalidade de minimizar a transmissão de agentes mastitogênicos e diminuir o número de microrganismos que podem ser transferidos ao leite, depreciando sua qualidade microbiológica. A ordenhadeira, a mão do ordenhador, práticas de higiene e lesões nos tetos são fatores importantes que expõem a superfície dos tetos aos microrganismos patogênicos contagiosos, sendo esses microrganismos transmitidos de animais infectados para não infectados durante o processo de ordenha (AMARAL et al., 2004).

### 2.3 Contagem de Células Somáticas no Leite e Composição

As células somáticas são, normalmente, células de defesa do organismo que migram do sangue para o interior da glândula mamária com o objetivo de combater agentes agressores, mas podem ser também células secretoras descamadas (SANTOS, 2006).

Segundo Langoni (2006), as células somáticas se classificam em macrófagos (60%), linfócitos (25%), neutrófilos (15%), perfazendo 99% dos leucócitos e 1% de células epiteliais secretoras.

Os microrganismos no interior da glândula mamária liberam substâncias que estimulam a migração de leucócitos a fim de combater agressores, aumentando dessa maneira, a CCS, que é um indicador geral da sanidade da glândula mamária, amplamente utilizado como indicador de mastite subclínica, sendo aceita, também, como medida padrão para determinar a qualidade do leite (HARMON, 2001).

Na etapa inicial do mecanismo de infecção e inflamação da glândula mamária, a constituição do leite da glândula afetada tenderia a assemelhar-se à composição do plasma. Inicialmente os neutrófilos migram do sangue para o leite ocorrendo aumento da

permeabilidade vascular e formação de edema, passagem de proteínas sanguíneas ao leite, modificação da composição iônica (aumento do sódio, bicarbonato e cloro e diminuição de hidrogênio e potássio), aumento do potencial hidrogeniônico (pH), da eletrocondutividade e dos produtos da degradação celular, devido às lesões tissulares e conseqüente diminuição da síntese da gordura, caseína e lactose do leite (DELLA LIBERA, 1998).

De acordo com Coldebella (2003), a glândula mamária é protegida por grande variedade de mecanismos de defesa, os quais podem ser separados em duas categorias distintas: imunidade inata e imunidade específica. A imunidade inata ou inespecífica é a defesa predominante durante os estágios iniciais da infecção, sendo mediada por barreiras físicas na extremidade do teto, por certos fatores solúveis (lactoferrina, lactoperoxidase, lisozima e complemento) e por macrófagos, neutrófilos e células semelhantes às células matadoras naturais (“natural killer-like cells”) e o sistema específico, que reconhecem o patógeno e facilita a sua eliminação seletiva, sendo mediados por anticorpos, macrófagos e linfócitos.

As defesas celulares intramamárias são realizadas por dois grupos de leucócitos, os linfócitos B e T, que atuam na imunidade humoral e mediada por células, além dos fagócitos (neutrófilos e macrófagos) que atuam por meio da ingestão e digestão dos patógenos (PAAPE et al., 1995).

As diferenças existentes entre manejos e tipos de ordenha são refletidas na contagem de células somáticas e no *California Mastitis Test* (CMT). Rebanhos submetidos às técnicas adequadas de ordenha, desinfecção de tetos pré e pós-ordenha, secagem adequada de vacas, tratamento com antibióticos para mastite clínica, além dos cuidados higiênicos e suplementação mineral adequada demonstram baixos índices de mastite e, proporcionalmente, baixa CCS e reações negativas ou baixas no CMT (BARBOSA et al., 2002).

A CCS do leite de uma vaca indica de maneira quantitativa o grau de infecção da glândula mamária. Já a CCS do tanque de resfriamento do rebanho indica a incidência média de mastite no rebanho (MACHADO et al., 2000).

Barbosa et al. (2000), afirmam que o principal fator que influencia no aumento das células somáticas do leite é a mastite e, apesar de outros fatores como, período de lactação, idade do animal, estação do ano e outros tipos de estresses poderem influenciar na CCS, eles não possuem tanta importância como a infecção da glândula mamária.

Harmon (2001) afirmou que em animais saudáveis a CCS geralmente está abaixo de 200.000 células/mL, mas pode ser menor do que 100.000 células/mL em vacas primíparas. Assim, elevação acima de 200.000 células/mL é considerada anormal, sendo indicativo de

inflamação do úbere, sendo que esse valor pode chegar a milhões de células nos casos clínicos.

Smith (1996) relatou que, dependendo do estudo, os pontos de corte da CCS indicativos de inflamação ou mastite variam entre os valores 200.000 células/mL; 250.000 células/mL; 283.000 células/mL ou 300.000 células/mL, sendo o valor de 200.000 células/mL o mais utilizado.

Segundo Bueno et al. (2005), valores de CCS acima de 300.000 células/mL revelam a presença de mastite e, por extensão, redução na produção e alteração da composição do leite.

De acordo com Della Libera (1998) a CCS dependerá da origem da amostra (quarto mamário isoladamente, conjunto dos quartos ou leite total da fazenda), da técnica empregada para a contagem e da presença de bactérias.

A IN Nº 51/2002 (MAPA), estabeleceu o limite de CCS de 1.000.000 células/mL para as regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste do leite para consumo, a partir de 2005 e para as regiões Norte e Nordeste, este limite é a partir de julho de 2007, reduzindo em 2010 para 750.000 células/mL e em 2012 para 100.000 células/mL (BRASIL, 2002)

A produção e composição do leite variam de acordo com diversos fatores: fisiologia individual, alimentação, estágio de lactação, porção da ordenha, idade, raça, estação do ano, quantidade de leite produzido, estado de saúde da vaca, intervalo entre as ordenhas, persistência da lactação, tamanho da vaca, variação entre os quartos, temperatura ambiental e efeitos de doenças (SANTOS et al., 1998).

As características físico-químicas do leite podem ser alteradas devido às condições genéticas, nutricionais e ambientais das vacas, aos processos de obtenção, armazenamento, transporte e beneficiamento do leite e às fraudes (RHEINHEIMER et al., 2006).

Zafalon et al. (1999) ao avaliarem a produção láctea de quartos mamários com elevada contagem de células somáticas, evidenciaram que a queda da quantidade do leite secretado por quartos mamários afetados pela mastite subclínica, conjuntamente com a diminuição da qualidade do produto, verificada pelo aumento da contagem de células somáticas, faz com que haja a necessidade de serem buscadas medidas que visem o aumento dessa qualidade e redução das perdas acarretadas aos produtores pela queda da produção de leite.

Almeida et al. (2005) objetivando caracterizar a mastite bovina em 96 rebanhos, na região sul de Minas Gerais, realizaram análises microbiológicas e CCS, tendo sido aplicados questionários, visando conhecer as características sócio-econômicas e culturais. Na CCS, 71,87% dos rebanhos apresentaram contagens acima de 500.000 células/mL. Os autores observaram que os isolamentos de *Staphylococcus aureus* e *S. agalactiae*, associavam-se às

altas contagens de células somáticas e estatisticamente, comprovou-se que maiores índices de CCS foram observados nos rebanhos com manejo de ordenha deficiente relacionado ao uso de ordenhadeira mecânica e não realização de pré e pós-*dipping*.

Segundo Picinin (2003), para que o leite possa ser aceito e até mesmo pago de forma diferenciada por qualidade pelas indústrias de laticínios, torna-se necessário monitorá-lo visando garantir a recepção de matéria-prima de boa qualidade e bom rendimento industrial. Essa monitorização é realizada segundo parâmetros seguros que determinam a composição, fundamentados na porcentagem de gordura e proteínas, qualidade higiênica, associada à limpeza dos tetos, dos utensílios e mãos do ordenhador e a qualidade sanitária do rebanho relacionada à saúde do úbere.

De acordo com Sá (2003), retirando-se a água do leite, os demais componentes são denominados de extrato seco ou sólidos totais (EST). Estes por sua vez, são divididos em lipídeos ou gorduras e sólidos totais desengordurados ou sólidos não-gordurosos (SNIG), que contêm as proteínas, glicídeos (lactose) e sais minerais (cinzas). O teor de sólidos é importante na industrialização, principalmente na produção de queijo e iogurte. A fração protéica compreende a caseína (cerca de 80% das proteínas do leite), que é a proteína precipitada pela renina (coalho) na fabricação de queijo e as lactoalbuminas e lactoglobulinas, que são conhecidas como “proteínas do soro”, pois não são precipitadas pela renina, permanecendo no soro resultante da fabricação do queijo.

Devido à elevação do número de células somáticas no leite ocorrem alterações na sua composição em consequência da redução da atividade sintetizadora do tecido mamário, podendo-se observar diminuição da lactose, lactoalbumina e gordura. A quantidade de proteínas totais sofre pequena alteração, porém, o índice de proteínas se altera drasticamente (HARMON, 1994). E segundo Laranja (1998), o conteúdo de caseína, cálcio, fósforo, lactose e gordura se reduzem.

Vianni (1996) verificou que o leite proveniente de quartos infectados pelos agentes da mastite, quando comparado ao leite de quartos saudáveis, apresentava alterações físico-químicas, diminuindo a densidade, a acidez titulável, os sólidos totais, os sólidos não gordurosos e a caseína, elevando as unidades de pH e o teor de cloretos.

Ferreira et al. (2006) verificaram que o teor médio de gordura das amostras foi inferior para os animais que apresentavam CCS igual ou inferior a 250.000 células/mL e com CCS superior a 750.000 células/mL, a lactose, EST e ESD estavam fora dos padrões estabelecidos na IN N° 51/MAPA.

Segundo Harmon (1994), a redução na concentração de lactose no leite com alta CCS equivale a 10% do valor normal. Brito e Dias (1998) citaram que a intensidade da redução variava de 5 a 20%. Machado et al. (2000) observaram redução significativa na concentração de lactose em amostras colhidas em tanques de expansão com CCS acima de 500.000 células/mL. Silva et al. (2000) verificaram redução no teor de lactose de 4,68% para 4,49%, considerando amostras de leite de vacas com CCS abaixo e acima de 283.000 células/mL, respectivamente

Para as indústrias de laticínios, a CCS está diretamente ligada ao rendimento do leite para a fabricação de produtos lácteos, em especial, o queijo. A qualidade do produto é expressa principalmente através do tempo de vida de prateleira e pelas características organolépticas dos derivados lácteos. Mas para o consumidor, a CCS significa maior ou menor tempo de prateleira dos produtos lácteos, portanto, sua qualidade (FONSECA e NETO, 2005).

Della Libera et al. (2002) ao avaliarem a CCS em amostras de leite tipo A e B frente a diferentes associações de resultados da prova de CMT e do exame microbiológico, verificaram que a sensibilidade da CCS foi menor nas baixas contagens e maior com o aumento da celularidade, ocorrendo o inverso com a especificidade, os sistemas de produção estudados não interferiram na maior parte das CCS, mas foi significativa a variação da CCS quanto à presença e ao tipo de microrganismo isolados.

As alterações na composição do leite, associadas ao aumento da CCS, ocorreriam da seguinte maneira: a porcentagem de gordura normalmente é diminuída, no entanto, se a redução da produção de leite for mais acentuada que o decréscimo da produção de gordura ocorrerá concentração deste componente; a porcentagem de proteína é aumentada e as porcentagens de lactose e sólidos totais são reduzidas (MACHADO et al., 2000).

A garantia da permanência de pequenos produtores na cadeia produtiva do leite está atrelada ao volume de produção e a qualidade do leite produzido, tornando-se necessário uma maior especialização e adaptação às novas exigências do mercado (SILVA et al., 2005).

Para avaliação da saúde da glândula mamária e composição centesimal individual do leite, devem ser colhidas amostras representativas da produção diária. Os autores relataram que ao avaliarem a comparação das médias dos teores de gordura, proteínas, lactose, sólidos totais e CCS das amostras compostas, da primeira (04:00h), segunda (12:00h) e terceira ordenha (18:00h), concluíram que as amostras colhidas na segunda ordenha podem substituir as amostras compostas pelo leite das três ordenhas (MANSUR et al., 2005).

Ruela et al. (2005) ao avaliarem as características físico-químicas do leite pasteurizado e UAT comercializado em Minas Gerais, observaram índices de 46% e 16% de reprovação em um ou mais parâmetros (acidez em ácido láctico, gordura, ESD, EST, estabilidade ao etanol ou alizarol, índice crioscópico, provas de fosfatase e de peroxidase) quando comparados aos valores estabelecidos pela IN N° 51/MAPA para o leite pasteurizado e UAT, respectivamente.

Souza et al. (2005) avaliaram as características celulares de amostras de leite de tanques comunitários na região de Sacramento/MG, encontrando valores médios de CCS de 149.700 células /mL, estando portanto de acordo com a IN N° 51/MAPA.

Araújo et al. (2005) verificaram o efeito da sazonalidade na CCS em rebanhos leiteiros no Estado do Rio de Janeiro. Observaram que a média da CCS no período chuvoso foi estatisticamente superior àquela observada no período de estiagem. O maior valor médio mensal para CCS ocorreu no mês de maio/2005, em que o nível de 725.000 células/mL de leite foi alcançado com elevado índice de precipitação pluviométrica (cerca de 340 milímetros) e a menor média de CCS foi no mês de fevereiro/2005 (378.000 células/mL), período em que a precipitação pluviométrica foi de apenas 52 milímetros. Particularmente esse aumento no nível de células somáticas, para esse período do inverno, pode estar atrelado à ineficiência no manejo durante a ordenha, como tempo de ordenha e a desinfecção de tetos após a ordenha (*pós-dipping*).

Barcelos et al. (2006) avaliaram as características físico-químicas (acidez, densidade, gordura, EST e ESD) do leite fluido em Parauapebas/PA e comprovaram que todas as amostras estavam dentro dos limites estabelecidos pela IN N° 51/MAPA.

Mujica et al. (2005) analisaram as características físico-químicas do leite tipo “C” comercializado no município de Palma/TO, encontrando os valores de gordura variando de 3,3 a 3,5%, EST de 12,4 a 12,8% e ESD de 8,8 a 9,5%, estando portanto, dentro dos padrões propostos pela IN N°51.

De acordo com Arenales (2000) a relação entre perdas médias diárias de leite com CCS /mL de leite, varia entre 10 a 50 células/mL (0 kg de leite) e 801 a 1.600 células/mL (3,5 kg de leite) e a relação da CCS com a média de vacas com mastite em uma fazenda varia de 0-99.000 células/mL (5 a 6 % de animais infectados) a mais de 600.000 células /mL (61 a 79 % de animais infectados).

Brant e Figueiredo (1994) verificaram que a mastite subclínica causou reduções crescentes na produção de leite nos percentuais de 14,68%, 34,83% e 45%, para reações de +, ++ e +++ do CMT, respectivamente.

Lima et al. (2006) analisaram amostras de leite cru tipo “C” produzido na região agreste do Estado de Pernambuco e concluíram que a maioria apresentava CCS e valores dos parâmetros físico-químicos dentro dos padrões exigidos pela Instrução Normativa nº 51 do MAPA. Por outro lado, os resultados das análises microbiológicas sugeriram a ocorrência de falhas no manejo higiênico-sanitário na obtenção do leite. Enfatizaram que é necessário rever os procedimentos de ordenha e higienização de equipamentos, assim como a utilização de tanques refrigeradores, que associado ao manejo correto, podem proporcionar uma melhoria na qualidade do leite.

A adoção de um Programa de Higienização Ambiental nas propriedades leiteiras constitui um importante fator produtivo de leite “seguro” e em boas condições higiênico-sanitárias, além de controlar doenças nos animais e aumento de produtividade (VIEIRA, 2001).

Um dos fundamentos dos programas de controle de mastite é a identificação dos fatores necessários para a ocorrência de infecções da glândula mamária. De posse desta informação, podem-se prevenir as infecções, por meio de intervenções estratégicas que impedem tanto a sua instalação (ou introdução), quanto a sua disseminação entre os animais. Em qualquer programa de controle, atenção especial deve ser dada ao treinamento e capacitação da mão-de-obra (BRITO et al., 2006).

Já Costa et al. (1999) citaram que a principal perda devido à mastite subclínica é a redução de produção leiteira, geralmente correspondendo a 75% do prejuízo total, mas as perdas podem ser imperceptíveis ao produtor, enquanto que os custos com as medidas de controle são altamente visíveis.

O programa de seis pontos de controle de mastite tem sido largamente utilizado em rebanhos leiteiros com redução do índice de mastite dos rebanhos, redução da taxa de novas infecções e redução da duração das infecções. A resposta a um programa de controle de mastite pode ser baseada na redução da contagem de células somáticas, considerando que a CCS do leite de uma vaca indica de maneira quantitativa o grau de infecção da glândula mamária (VENTURA et al., 2005).

Várias medidas devem ser tomadas durante o processo de ordenha com a finalidade de minimizar a transmissão de agentes mastitogênicos e diminuir o número de microrganismos que podem ser transferidos ao leite, depreciando sua qualidade microbiológica. A higienização prévia dos tetos, mãos dos ordenhadores e do local de ordenha são de grande importância para reduzir o número de microrganismos patogênicos no leite e também para melhorar as condições higiênicas do mesmo (AMARAL et al., 2004).

## 2.4 Resíduos de Antimicrobianos no Leite

Os problemas derivados do consumo de alimentos durante os últimos anos impulsionaram a implementação de sistemas de qualidade e segurança alimentar nas explorações leiteiras, com a finalidade de utilizar práticas que minimizem a presença de resíduos químicos e contaminantes, a fim de responder às exigências dos consumidores e as regulamentações nacionais e internacionais relativas a resíduos de antibióticos no leite cru (THOMAS et al., 2004).

Os antibióticos fazem parte da categoria de contaminantes alimentares, pois são substâncias incluídas de forma não intencional nos alimentos, mas por meio da sua administração terapêutica em bovinos leiteiros. A maioria da população humana é frequentemente exposta a baixas doses destes contaminantes o que resulta em efeitos em longo prazo (BIACCHI et al., 2004).

Atualmente, com a disseminação de sistemas mais intensivos de produção de leite, o emprego de antibióticos é essencial para manutenção da saúde animal, da produtividade, do conforto e do bem-estar dos animais. As principais classes de antimicrobianos utilizados em Medicina Veterinária são: beta-lactâmicos (penicilinas, cefalosporinas); tetraciclina (oxitetraciclina e clortetraciclina); aminoglicosídeos (estreptomicina, neomicina, gentamicina); macrolídeos (eritromicina) e sulfonamidas (sulfametazina) (HORTET et al., 1999).

As doenças de origem bacteriana requerem tratamento com uma variedade de antibióticos que acarretam diversos benefícios: aliviam o sofrimento animal, apresentam impacto econômico ao aumentar o lucro dos produtores, aumentam a disponibilidade de alimentos a preços acessíveis e oferecem benefícios em termos de controle de doenças que de outra forma poderiam afetar o homem. Podem também ser eventualmente utilizados como promotores do crescimento (BIACCHI et al., 2004).

Segundo Franco et al. (1990), citado por Raia Júnior (2001), a terapia com antibióticos está em uso no manejo da saúde de animais produtores de alimentos há mais de 40 anos. Os antibióticos são administrados por diferentes vias: oral, intravenosa, intramuscular, subcutânea, intra-uterina e intramamária. Infelizmente todas essas vias podem acarretar o aparecimento de resíduos de antibióticos no leite.

Sabe-se que uma das principais causas da presença de antibióticos no leite é a mastite bovina, ou melhor, o tratamento de mastite em vacas durante a lactação, embora o uso de antibióticos sistêmicos em animais com processos infecciosos outros que não a mastite,

também possam determinar eliminação deste pelo leite. Por outro lado, nas glândulas mamárias com mastite, devido ao processo inflamatório, ocorre aumento de permeabilidade vascular, o que favorece uma maior concentração de antibióticos na glândula, mesmo quando estes são usados por via sistêmica (ALLISON, 1995).

A persistência de resíduos de antimicrobianos no leite varia com o produto e depende de vários fatores como, por exemplo, dose e via de administração, o excipiente utilizado e a solubilidade, entre outros (RAIA et al., 1999).

Os resíduos de anti-sépticos também podem estar presentes no leite em decorrência de medidas de anti-sepsia e/ou desinfecção de utensílios e recipientes ou por acidente tecnológico. Ou ainda, pela adição intencional, na tentativa de prolongar e/ou assegurar o tempo de vida do produto (tempo de prateleira), como resultado de práticas fraudulentas para mascarar a má qualidade (SANTOS e FONSECA, 2007).

A ocorrência de resíduos de antibióticos no leite tem sido objeto de preocupação constante por parte das autoridades sanitárias, devido, sobretudo, aos efeitos tóxicos destes compostos sobre a saúde humana, além da possibilidade de favorecer o desenvolvimento de formas resistentes de microrganismos patogênicos (CARLOS et al., 2004).

O risco à saúde do consumidor é representado por reações alérgicas, que podem até mesmo desencadear choque anafilático em indivíduos particularmente sensíveis, podendo ocorrer até mesmo casos fatais. As reações alérgicas são freqüentemente associadas aos antibióticos beta-lactâmicos, particularmente à penicilina, mas podem ser observadas também na administração de outros antimicrobianos. Alergias aos aminoglicosídeos são raras, mas às vezes ocorrem erupções cutâneas urticariformes após o uso desta e de outras classes de antibióticos. Além das reações alérgicas há ocorrência de outros problemas, como, por exemplo, discrasia sangüínea associada ao uso de cloranfenicol (COSTA et al., 1999).

Deve-se considerar que o fator idade é extremamente relevante em relação a algumas das reações adversas aos antimicrobianos, portanto a presença desses resíduos no leite, que é consumido principalmente na infância assume particular importância. Também devem ser considerados os riscos pelo consumo do leite com altos níveis de resíduos de antibióticos por gestantes. Uma vez que alguns antimicrobianos têm potencial teratogênico, como metronidazóis, rifampicina, trimetropim, estreptomicina e tetraciclina (BRANCHER e FAGUNDES, 1999).

Alguns antimicrobianos que apresentam efeitos adversos para gestantes e fetos: aminoglicosídeos (ototoxicidade), eritromicina (hepatite colestática), metronidazol (possível teratogenicidade), nitrofurantoína (anemia hemolítica), sulfonamidas (hemólise no recém-

nascido, podendo afetar desordens no sistema nervoso central), tetraciclinas (alterações no desenvolvimento ósseo do feto e alteração na coloração dos dentes, posteriormente), trimetropim (possível teratogenicidade), quinolonas (anormalidades na formação das cartilagens) e vancomicinas (possível ototoxicidade) (FOLLY e MACHADO, 2001).

Os antimicrobianos encontrados no leite, mesmo em pequenas doses, podem contribuir para a seleção de microrganismos antibiótico-resistentes e, além disso, o consumo prolongado pode reduzir a microbiota normal de forma a permitir a proliferação de microrganismos patogênicos (WILSON et al., 1997).

O resíduo total de uma determinada substância ingerida com os diversos alimentos da dieta de uma pessoa não deve ultrapassar a “ingestão diária aceitável” (IDA). A IDA é a quantidade de um agente químico presente no alimento que pode ser ingerido através da dieta diariamente, durante toda a vida do indivíduo, sem provocar risco de intoxicação. É calculada aplicando-se um fator de segurança (por exemplo: 100, 1000) sobre o valor do “nível de efeito não observado” (NOEL), ou seja, a quantidade de uma substância que quando administrada diariamente num período de tempo prolongado, não produz efeito tóxico aparente. Também é determinado o intervalo de tempo (período de carência) que deve ocorrer para que os resíduos diminuam, atingindo os limites máximos permitidos (LMP) ou níveis de tolerâncias (TETZNER et al., 2005).

Em alguns casos, o tempo de carência recomendado não é suficiente para evitar a presença de resíduos de antibióticos no leite. São necessários outros estudos, para avaliar o período para obter leite para consumo, sem resíduos de antibióticos, uma vez que os mecanismos de eliminação dos mesmos não estão totalmente esclarecidos, desconhecendo-se muitos fatores que influem sobre os períodos de eliminação destes. Muitos períodos de eliminação foram estabelecidos após tratamento de vacas sadias, havendo necessidade de se estudar melhor a influência do processo inflamatório na persistência de resíduos após o tratamento (RAIA et al., 1999).

O controle de resíduos de agentes antimicrobianos no leite é particularmente importante, também, para a indústria de produtos lácteos, devido aos prejuízos causados pela interferência destes compostos no desenvolvimento das culturas lácteas largamente empregadas em fábricas de laticínios (CORASSIN e OLIVEIRA, 2000).

Pode trazer problemas na fabricação de iogurtes, queijo e manteiga, além de favorecer a multiplicação de microrganismos indesejáveis como coliformes e bactérias putrefativas que crescem em pH próximo à neutralidade (SCHAIK et al., 2002).

A partir dos anos 50, o método de ensaio de disco com *Bacillus subtilis* e suas modificações foram usados para detectar resíduos de antimicrobianos no leite. Durante os anos 70 e 80 ocorreram o desenvolvimento de técnicas radioimunológicas e enzimáticas para determinar a presença de beta-lactâmicos e outros antimicrobianos, tais como tetraciclina, estreptomicina, eritromicina, novomicina e sulfonamidas. Outros testes determinam a presença de resíduos de beta-lactâmicos baseados na inibição da reação de enzimas específicas. E durante os anos 80 foram introduzidos testes utilizando anticorpos para resíduos específicos (CARRARO et al., 2007).

Nas últimas décadas, foram desenvolvidas diversas metodologias analíticas para a detecção rápida de resíduos de drogas antimicrobianas no leite. Estas técnicas encontram-se disponíveis no mercado sob a forma de conjuntos reativos prontos para uso em condições de campo. Os conjuntos foram inicialmente desenvolvidos para utilização em plataformas de recebimento de leite nas usinas, porém, têm sido aplicados, também, em propriedades rurais, para verificar a presença de resíduos no leite armazenado nos tanques ou proveniente de vacas mantidas sob tratamento com antibióticos (CORASSIN e OLIVEIRA, 2000).

O método de inibição microbiana utiliza uma cultura de microrganismo teste, geralmente *Bacillus stearothermophilus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *B. megaterium* ou *Streptococcus thermophilus*, semeada em meio de crescimento ágar ou líquido, que é inoculado com a amostra de leite e incubado por um período de algumas horas. Durante a incubação a amostra se difunde pelo meio e a presença de substâncias inibidoras impede ou reduz o crescimento do microrganismo indicador (MITCHELL et al., 1998).

Existem alguns testes disponíveis no mercado para detecção de resíduos de antibióticos no leite, tais como: BR teste (Brilian Black Reduction Test); Charm Farm Test; Delvotest; SnapMT (Beta-lactâmicos e tetraciclina); CITE Probe® gentamicina; CITE® Sulfa-trio (sulfametazina, sulfatiazol e sulfametoxina); Lactek (Beta-lactâmicos); Signal (gentamicina), Penzime® e ELISA (Enzyme linked immunoabsorbant assay) (COSTA, 1996; RAIÁ JÚNIOR, 2001).

Segundo Santos e Fonseca (2007), a prevenção e o monitoramento minimizam a ocorrência de resíduos nos alimentos e o aparecimento de resistência bacteriana. Sob o ponto de vista do uso terapêutico de antimicrobianos, algumas considerações podem ser sugeridas: devem ser utilizados apenas sob prescrição veterinária; só devem ser usados nos casos em que se suspeite ser o agente causal não apenas de natureza infecciosa como, também, sensível ao medicamento escolhido; escolha de antimicrobiano levando em consideração a relação risco x

benefício (a saúde animal e humana); seguir rigorosamente as instruções da bula quanto a dose, via de administração, intervalos entre as aplicações, períodos de carência e formas de armazenamento; manter um registro dos animais tratados, dos medicamentos usados, da posologia e do período em que foi feito o tratamento; monitoramento dos animais após tratamento, mesmo após período de carência recomendado, antes de liberar o leite para consumo.

Borges et al. (2000) pesquisaram a ocorrência de resíduos de antibióticos em 533 amostras de leite pasteurizado no estado de Goiás, utilizando o método de difusão de antibióticos em ágar, tendo o *Bacillus subtilis* e o *B. stearothermophilus* como “microrganismos-testes” e foram identificadas 53 (9,95%) amostras positivas.

Barros et al. (2001) identificaram 38,5% das amostras positivas para resíduos de antibióticos, através do método ADM (Antimicrobial Diffusion Method). Fato atribuído, ao uso indiscriminado de antibióticos para fins terapêuticos ou incorporados à alimentação como suplemento dietético.

Lopes et al. (2002) em pesquisa realizada com amostras de leite de Curitiba/PR, estimaram um percentual de 25% de resíduos de antibióticos.

Almeida et al. (2003) estimaram uma prevalência de amostras de leite com resíduos de antibióticos Beta-Lactâmicos, da ordem de 1,89%, em 158 propriedades leiteiras de Uberlândia/MG.

Picinin (2003) ao avaliar a qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais, observou a presença de resíduos de inibidores e/ou conservantes no leite em seis amostras (19,35%) pelo teste do cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolium, mais conhecido como TTS. Verificou ainda, que a CCS nesses leites variou de 211.000 a 787.000 células/mL. Portanto, os autores concluíram que o aumento na CCS pode acarretar maiores riscos de contaminação da matéria-prima com substâncias antimicrobianas usadas nos tratamentos dos animais infectados.

Kang et al. (2005) pesquisaram resíduos de antibióticos em 73 amostras de leite, coletadas de quartos individuais de vacas, após tratamento intramamário, usando o Delvotest. Os resultados obtidos foram 24, 20 e 12 amostras positivas para resíduos de antibióticos, respectivamente, no tempo de incubação de 150, 165 e 180 minutos a 82°C.

Rheinheimer et al. (2006) ao avaliarem a qualidade de leite fluido em Passo Fundo/RS, verificaram a presença de inibidores através do Delvotest, em cinco amostras de leite pasteurizado. Os autores observaram que havia um grande risco ao consumidor e indica falhas nos serviços de inspeção.

## 2.5 Qualidade da Água

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS (2007), a qualidade da água tem grande influência sobre a saúde. Se não for adequada pode ocasionar surtos de doenças e causar sérias epidemias. Os riscos à saúde, associados à água, podem ser de curto prazo (quando resultam da poluição de água causada por elementos microbiológicos ou químicos) ou de médio e longo prazo (quando resultam do consumo regular e contínuo, durante meses ou anos, de água contaminada com produtos químicos como certos metais ou pesticidas).

A água utilizada nas propriedades leiteiras são provenientes na sua maioria, de mananciais de superfícies, poços, açudes, minas, redes de abastecimento, riacho e cisternas, sendo que os microrganismos nela encontrados podem ser dela próprios ou originados do solo, das fezes ou de matéria orgânica. As águas subterrâneas de poços e fontes, ao atravessarem uma superfície de rocha e terra até atingir determinado nível perdem grande parte de suas bactérias e de matéria orgânica em suspensão (HOFFMANN et al., 1997).

Nos países em desenvolvimento onde se encontram áreas urbanas densamente povoadas com precárias condições de saneamento básico, a água é responsável por um grande número de doenças de veiculação hídrica (FREITAS et al., 2001).

A água é um elemento essencial à vida, porém pode trazer riscos à saúde em face de sua má qualidade, servindo de veículo para vários agentes biológicos e químicos, por isso, o homem deve estar atento aos fatores que podem interferir negativamente na qualidade da água que consome e no seu destino final (BARCELLOS et al., 2006).

Os coliformes totais são bactérias na forma de bastonetes, Gram negativos, não esporogênicos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, capazes de fermentar lactose com produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Os coliformes termotolerantes são bactérias semelhantes aos coliformes totais, mas capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5 – 45,5°C e incluem três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo que os dois últimos incluem cepas de origem não fecal. Por esse motivo, a presença de coliformes termotolerantes em alimentos é menos representativa como indicadora de contaminação fecal, do que enumeração direta de *E. coli*, porém, muito mais significativa do que a presença de coliformes totais, dada a alta incidência de *E. coli* dentro do grupo termotolerante (SILVA et al., 1997).

Estudos realizados pelo Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco - ITEP (1993) citado por Alves et al. (2002), avaliaram a potabilidade e traçaram o perfil higiênico-sanitário da água consumida em residências, empresas e hospitais da cidade. Observaram que os

maiores índices de contaminação foram de bactérias do grupo coliformes totais (64%), seguido de *Pseudomonas aeruginosa* (33%), coliformes termotolerantes (25%) e *Staphylococcus aureus* (13%). Evidenciou-se que as águas tratadas apresentavam altos índices de contaminação microbiológica devido às redes internas de fornecimento, ou seja, cisternas, caixa d'água, torneiras e bebedouros sem manutenção.

Ribeiro et al. (2000) avaliaram a qualidade microbiológica da água utilizada para lavagem dos equipamentos de ordenha e dos tetos dos animais antes da ordenha. Das amostras de água, 62,22% eram provenientes de minas, 20% de poços artesianos, 4,44% de córregos e 8,89% recebiam tratamento (cloração). Os resultados evidenciaram que 75,55% estavam acima dos padrões de potabilidade.

Cardoso et al. (2001) analisaram a qualidade de amostras coletadas em redes de distribuição na cidade de Descalvado/SP e estimaram 24 (2,73%) positivas para coliformes totais e 48 (5,47%) de coliformes termotolerantes.

Nogueira et al. (2003) avaliaram a qualidade microbiológica de águas tratadas e não tratadas provenientes de comunidades urbanas e rurais de Maringá/PR e observaram maior contaminação em águas não tratadas com 93% de coliformes totais e 48% de coliformes termotolerantes, sendo que no período quente e úmido os índices de contaminação foram maiores quando comparados ao período frio e úmido.

Gonzales et al. (2004) estudaram a água de consumo dos animais ou água de limpeza na bacia leiteira de Pelotas/RS, através do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e termotolerantes e contagem de aeróbios mesófilos, sendo que a contagem de coliformes totais apresentou valores superiores aos recomendados pela Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA) nº 20, de 18 de junho de 1986. A contagem de mesófilos variou de 387 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) /mL a 47.268 UFC/mL.

Segundo Rolim (2005) os altos índices de contaminação encontrados em poços e minas de propriedades rurais e peri-urbanas no município de Botucatu/SP representam riscos à saúde pública se não forem aplicadas medidas visando o tratamento e a preservação da qualidade microbiológica da água. Os resultados obtidos pelas análises revelaram 93% de coliformes totais e 82% de coliformes termotolerantes, concluindo que estava imprópria para consumo de acordo com a Portaria nº 518 do Ministério da Saúde.

Amaral et al. (2005) analisaram água de consumo humano das fontes de abastecimento, reservatórios e ponto de consumo em 13 propriedades produtoras de suíno situadas no nordeste de São Paulo. Os resultados evidenciaram que 23,1% das amostras das

fontes encontravam-se fora dos padrões de potabilidade no período da chuva e 38,4% no período da estiagem.

Polegato e Amaral (2005) realizaram inquérito em 20 propriedades leiteiras no município de Marília/SP, com o objetivo de verificar o nível de conhecimento do produtor rural quanto a importância da qualidade da água na cadeia produtiva. Os resultados revelaram que 90% das propriedades não efetuavam tratamento químico na água e nunca analisaram a água que consomem, 10% que tratavam a água faziam de maneira inadequada e 40% das propriedades não possuíam água no local de ordenha e os cuidados higiênicos para obtenção do leite deixavam a desejar na maioria das propriedades.

Jacinto et al. (2005) avaliaram amostras de água de poços e minas de propriedades rurais e suburbanas em Franca/SP, durante os períodos de inverno e verão. Entre as propriedades rurais, 77,4% estavam fora dos padrões de potabilidade no período de verão e 70% durante o período de inverno e nas propriedades suburbanas 90% encontravam-se fora dos padrões no verão e 96,7% no inverno.

Siqueira e Okura (2005) analisaram amostras de água de residências e de minas em Uberaba/MG. Observaram que 20% das residências apresentavam coliformes totais e termotolerantes e 100% das amostras de minas apresentavam-se impróprias para consumo.

### 3 REFERÊNCIAS

ALLISON, J. R. D. Antibiotic residues in milk. **British Veterinary Journal**, London, v.141, n.1, p. 9-16, 1995.

ALVES, N. C et al. Análise microbiológica de águas minerais e de água potável de abastecimento, Marília, SP. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.36, n.6, 2002.

ALMEIDA, L. P. et al. Resíduos de antibióticos em leite de propriedades da região de Uberlândia – MG. **Biosci. Journal**, Uberlândia, v.19, n.3, p.83-87, Set./Dez. 2003.

ALMEIDA, A. C. et al. Fatores determinantes da ocorrência de mastite bovina, detectada em rebanhos através da análise de leite de latões. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.134, p.81 – 88, 2005.

AMARAL, L. A. et al. Água utilizada em suinocultura como fator de risco à saúde humana e animal. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v.21, n.1, p.41- 46, 2005.

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

ARAÚJO, V. M.; SILVA, P. D. L.; CORREIA, R. T. P. Variação dos níveis de células somáticas no leite de rebanho bovino potiguar em diferentes períodos do ano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006. Goiânia. Anais...Goiânia, 2006.

ARCURI, E. F. et al. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, v.58, n.3, p. 440-446, 2006.

BARBOSA, C. P. et al. Relação entre contagem de células somáticas e os resultados do CMT no diagnóstico de mastite bovina. **Biosci Journal**, São Paulo, v.18, n.1, p.93-102, 2002.

BARBOSA, S. B. P. et al. Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Rev. Bras. Zootec.**, Brasília, v. 36, n. 1, p. 42-29, 2007.

BARCELLOS, C. M. et al. Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 1999-2000. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n.9, p.1967-1978, 2006.

BARROS, G. M. S. et al. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, Salvador, v.2, n.3, p.69-73, 2001.

BENTLEY INSTRUMENTS INS. **Bactocount 150 operator's manual**. Ckaska: Bentley Instruments Inc, 2002. 49p.

BIACCHI, N. C.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Detecção de resíduos antibióticos em leite bovino na região do Vale do Paraíba, São Paulo. **Rev. Biociênc.**, São Paulo, v.10, n.1-2, p.47-49, jan./jun. 2004.

BRAMLEY, A. J.; McKINNON, C. H. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R.K. **Dairy Microbiology: the microbiology of milk.** 2 ed. Barking: Elsevier Science Publishers, 1990. cap.5, p.163-208.

BRANCHER, C.; FAGUNDES, C. M. Adaptação do método da redutase para detectar antibióticos no leite. **Rev. Bras. de Agrociência**, Pelotas, v.2, n. 2, p.80-84, 1998.

BRANT, M. C.; FIGUEIREDO, J. B. Prevalência da mastite subclínica e perdas de produção em vacas leiteiras. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 46, n. 6, p. 595-606, 1994.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa n.º 51, de 18 de Setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade, Qualidade, Coleta e Transporte de Leite. Brasília, 2002. 48p. (Instrução Normativa n.º.51, 2002).

BRITO, J.R.F.; DIAS, J.C. **A qualidade do leite.** Juiz de Fora : Embrapa/Tortuga, 1998.

BRITO, J. R. F. et al. Contagem bacteriana d superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha anual com participação do bezerro para estimular a descida do leite. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.30, n.5, 2000.

BRITO, J. R. F. et al. Controle da mastite- ou como reduzir a contagem de células somáticas do rebanho leiteiro. Capturado em: [www. cnpqgl.embrapa.br/lab/controlarmastite.br](http://www.cnpqgl.embrapa.br/lab/controlarmastite.br). Acesso em 20 jan. 2006.

BORGES, G. T. et al. Ocorrência de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado integral e padronizado produzido e comercializado no estado de Goiás. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v.1, n.1, p.59-63, 2000.

BUENO, V. F. F. Contagem celular somática e bacteriana total do leite cru resfriado em tanques de expansão de uso individual no estado de Goiás. 2004. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2004.

BUENO, V. F. F. et al. Influência da temperatura de armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão na qualidade microbiológica do leite cru. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22; 2003, Florianópolis. Anais eletrônicos... [CD-ROM], Florianópolis:SBM, 2003.

BUENO, V. F. F. et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no estado de Goiás. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.4, 2005.

CARDOSO, A. L. S. et al. A técnica de membrana filtrante, aplicada ao estudo bacteriológico da água de rede de abastecimento, utilizada pela população de descavado, SP. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.15, n. 28, p.33-38, 2001.

CARRARO, C. N. M.; VEIGA, D, R. Avaliação do desempenho de três métodos utilizados para detecção de resíduos antibióticos no leite. Disponível em: <http://www.clinicadoleite.com.br>>. Acesso em: 4 abr. 2007.

CARLOS, L. A. et al. Avaliação físico-química, microbiológica e de resíduos de penicilina, em leite tipo C comercializado no município de Campos de Goytacazes - RJ. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.123, p.57-66, 2004.

CASSOLI, L. D. Validação da metodologia de citometria de fluxo para avaliação da contagem bacteriana do leite cru. 2005. 46 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba , 2005.

COLDEBELLA, A. Contagem de células somáticas e produção de leite de vacas holandesas confinadas. 2003. 97 f.Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura, Piracicaba, 2003.

CORASSIN, C. H.; OLIVEIRA, C. A. F. Aplicabilidade dos conjuntos para detecção de resíduos de antibióticos no leite em propriedades leiteiras. Disponível em: <[http://www.biologico.sp.gov.br/biológico/v.62\\_1/](http://www.biologico.sp.gov.br/biológico/v.62_1/)>. Acesso em: 15 de dez. 2000.

COSTA, E. O. Qualidade do leite: contagem de células somáticas e resíduos de antimicrobianos. Disponível em: <[http://www.nucleovet.com.br/matérias\\_arquivos/02.oc](http://www.nucleovet.com.br/matérias_arquivos/02.oc)>. Acesso em 20 dez. 2006.

COSTA, E. O. Resíduos de antibióticos no leite: um risco à saúde do consumidor. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.10, n.44, p.15-17, 1996.

COSTA, E. O. et al. Mastite subclínica:prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **NAPGAMA**, São Paulo, v. 2, n.2, p.16-20, 1999.

DELLA LIBERA, A. M. P. Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas com alta contagem de células somáticas. 1998. 79f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

DÜRR, J. W. Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite: uma oportunidade única. In: \_\_\_\_\_.O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo, 2004. p.331.

FAGAN, E. P. et al. Importância de boas práticas de higienização de tetos em rebanhos leiteiros na qualidade microbiológica do leite. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO, 2; e BRASILEIRO DE HIGIENISTA DE ALIMENTOS, 7, 2005. Búzios...Anais...Búzios, 2005.

FONSECA, M. M.; VIEIRA NETO, P. D. Qualidade sanitária do leite de vacas da bacia leiteira do Vale do Rio Preto avaliada por CCS. **Rev. Brasileira Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v.27, n.2, p.31-36, 2005.

FERREIRA, R. N. et al. Contagem de células somáticas influenciando a composição química do leite nos assentamentos rurais Palmares I e II. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006. Goiânia. Anais...Goiânia, 2006.

FOLLY, M. M.; MACHADO, S. C. A. Determinação de resíduos de antibióticos utilizando-se métodos de inibição microbiana, enzimático e imuno-ensaios no leite pasteurizado comercializado na região norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.1, p. 67-74, jan./ fev. 2001.

FREITAS, M. B. et al. Importância da análise de água para a saúde pública em duas regiões do Estado do Rio de Janeiro: enfoque para coliformes fecais, nitrato e alumínio. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.17, n.3, 2001.

GONZALES, H. L. et al. Avaliação da qualidade do leite da bacia leiteira de Pelotas, RS. Efeitos dos meses do ano. **Rev. Bras. Zootec**, Brasília, v.33, n.6, p.1531-1543, 2004.

GONZALO, C. et al. Fossomatic cell-counting on ewe milk: comparison with direct microscopy and study of variation factors. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.86, n.1, p.138-145, 2003.

HARMON, R. J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.77, n.7, p.2103-2112, 1994.

HARMON, R. J. Somatic cell counts: a primer. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings: National Mastitis Council, 2001. p. 3-9.

HOFFMANN, F. L. Qualidade microbiológica da água consumida na cidade de São José do Rio Preto – SP. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n.52, p.47- 49, 1999.

HORTET, P. et al. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600000 cells/ml in French Holstein cows without clinical mastitis. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.61, p.33-42, 1999.

HORST, J. A. Impacto da refrigeração na contagem bacteriana do leite. Passo Fundo, 2006.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**. New York International Thompson Publishing, 1996.

JACINTO, A. C. et al. Avaliação higiênico-sanitária, teores de nitrato, nitrito e cromo em águas de propriedades rurais e suburbanas em Franca, SP, Brasil. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.135, p.92-97, 2005.

KANG, J. H. et al. False-positive outcome and drug residue in milk samples over withdrawal times. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.88, n.3, p.980-913, 2005.

LANGONI, H. Estudos sobre contagem de células somáticas (CCS) no Brasil – uma revisão. In: \_\_\_\_\_ Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo, 2006. p. 352.

LARANJA, L. F.; AMARO, F. Contagem de células somáticas: conceitos e estratégias de controle. **Rev. Balde Branco**, São Paulo, n.408, p.28-34, 1998.

LIMA, M. C. G. Qualidade do leite produzido em propriedades do Agreste e Sertão de Pernambuco. 2003. 62f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2003.

LIMA, E. B et al. Implementação do índice de qualidade de água para consumo (IQAC) na área urbana do município de Rio Formoso, PE. **Rev Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.109, p.88-94, 2003.

LIMA, M. C. G. et al. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo “C” produzido na região agreste do estado de Pernambuco. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.1, p.89-95, 2006.

LIMA, M. C. Efeito de tratamentos térmicos do leite tipo C em grupos de microrganismos e em seu desenvolvimento e estocagem em diferentes temperaturas. Viçosa, 1998. 90p. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, 1998.

LIMA, L. L. et al. Avaliação do leite cru produzido na zona da mata, minas gerais e captado por estabelecimentos sob inspeção estadual. Qualidade de leite fluido de diferentes marcas comercializadas em Passo Fundo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006. Goiânia. Anais...Goiânia, 2006.

LOPES, M. O. et al. Levantamento do uso e detecção de resíduos de antimicrobianos no leite produzido na região metropolitana de Curitiba - PR. **Rev. do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.57, n.327, p.233-235, 2002.

MACHADO, P. F. et al. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo a contagem de células somáticas. **Rev. Bras. Zootec.**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MANSUR, J. R. G. et al. Amostragem da produção diária de leite para contagem de células somáticas e determinação da composição centesimal. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO, 2.; CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTA DE ALIMENTOS, 7., 2005, Búzios. Anais...Búzios, 2005.

MARTINS, P. R. et al. Produção e qualidade do leite na bacia leiteira de Pelotas – RS em diferentes meses do ano. **Rev. Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 1, p. 209-214, 2006.

MITCHELL, J. M. et al. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes, concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. **J. Food Prot.**, v. 61, p. 742-756, 1998.

MEDEIROS, M. I. M. Associação de agentes patogênicos isolados em análise microbiológica da água, com a presença de mastite clínica ou subclínica, em propriedades leiteiras da região de Cerqueira César-SP. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

NOGUEIRA, G. et al. Microbiological quality of drinking water of urban and rural communities, Brazil. **Rev. Bras. Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, p.232-236, 2003.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Água e Saúde. Disponível em: <<http://www.who.int/inf-fs/em/fact112.html>>. Acesso em 15 jun. 2007.

PAAPE, M. J. et al. Morphology, function and adaptation of mammary cells in normal and diseases states. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.1-17, 1995.

PARO, F. M. et al. Características microbiológicas do leite tipo B processado por micro-usina de beneficiamento do Estado de São Paulo. **Rev Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.104/105, p.66-70, 2003.

PELCZAR, M. et al. **Microbiologia**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1997

PICININ, L. C. A. Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais. 2003. 89f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

POLEGATO, E. P. S.; AMARAL, L. A. A qualidade da água na cadeia produtiva do leite nível de conhecimento do produtor rural. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.129, p.15-23, 2005.

RAIA, R. B. et al. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Rev NAPGAMA**, São Paulo, v. 2, n.1, p.4-8, 1999.

RAIA JUNIOR, R. B. Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite. 2001. 78f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises toxicológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

RHEINHEIMER, V. et al. Qualidade de leite fluido de diferentes marcas comercializadas em Passo Fundo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006. Goiânia. Anais...Goiânia, 2006.

RIBEIRO, A. R. et al. Análise microbiológica da qualidade da água utilizada na ordenha em propriedades leiteiras do estado de São Paulo e Minas Gerais. **Rev NAPGAMA**, São Paulo, v. 3, n.3, p.3-6, 2000.

ROLIM, R. G. Fatores relacionados ao uso e qualidade bacteriológica e físico-química das águas de poços e minas em propriedades rurais e peri-urbanas no município de Botucatu. 2005. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

RUELA, I. C. A. et al Avaliação físico-química do leite pasteurizado e UAT comercializado em Minas Gerais. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO, 2 ; VII CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTA DE ALIMENTOS, 7., 2005, Búzios. Anais...Búzios, 2005.

SÁ, E. Análises realizadas para controle da qualidade de leite "in natura" de acordo com os parâmetros legais. **Rev. Leite & Derivados**, Belo Horizonte, ano XII, n.70, p.67-72, 2003.

SANTOS, G. T. et al. Contagem de células somáticas do leite de vaca holandesa- Influência do mês de coleta e do estágio de lactação. Disponível em: <<http://www.cca.uem.br/anu1300.htm>>. Acesso em: 20 dez. 1998.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Pirassununga: Manole, 2007.

SANTOS, M. V. CCS e CBT siglas fundamentais para avaliar qualidade. **Rev. Balde Branco**, São Paulo, ano15, n. 490, p.48-51, 2005.

SANTOS, M. V. O uso da CCS em diferentes países. In: Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. Goiânia: Talento, 2006.

SCHAIK, G.; LOTEM, M.; SCHUKKEN, Y. H. Trends in somatic cell counts, bacterial counts and antibiotic residue violations in New York state during 1999 - 2000. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.85, n.4, p.782-789, nov. 2002.

SILVA, A. I. M. et al. Qualidade da água de poços destinada ao consumo humano, na cidade de Fortaleza, CE. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.134, p.70-74, 2005.

SILVA, L. F. P et al. Efeito do nível de células somáticas sobre a constituição do leite II – lactose e sólidos totais. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.37, n. 4, p.330-333, 2000.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análises microbiológicas de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997.

SIQUEIRA, K. B.; OKURA, M. H. Enumeração de coliformes totais, *E. coli* e *Cryptosporidium* spp. em água de abastecimento e de minas de Uberaba, MG. **Rev. Uberaba**, Uberaba, n.2, p.79-87, 2005.

SMITH, K. L. Standards for somatic cells in milk: physiological and regulatory. **Mastitis Newsletter**, v.21, p.7-9, 1996.

SPEXOTOL, A. A. et al. Aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle em propriedades leiteiras tipo A. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.6, 2005.

SOUZA, M. R. et al. Avaliação da qualidade do leite resfriado, estocado em propriedades rurais por 48 horas e recebido por uma indústria de laticínios. **Rev. do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v.54, n.309, p.238-241, 1999.

SOUZA, G. N. et al. Efeito da temperatura e do tempo de armazenamento sobre a CCS no leite. **Arq. Bra. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.57, n.5, p.830 - 834, 2005.

TETZNER, T. A. D. et al. Prevalência de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru na região do triângulo mineiro, MG. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.130, p.69-72, 2005.

THOMAS, J. A. et al. Garantia da qualidade para controle de resíduos de antibióticos no leite cru. In: O compromisso com a qualidade do leite no Brasil. Passo Fundo, 2004

VIDAL-MARTINS, A. M. C. et al. Características físico-químicas do leite UAT (Ultra alta temperatura) ao longo de seu processamento. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO, 2.; CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTA DE ALIMENTOS, 7., 2005, Búzios. Anais...Búzios, 2005.

VIANNI, M. C. E.; NADER, A. A variação das características físico-químicas e celulares de vacas com mastite subclínica. **Ciência Veterinária**, Jaboticabal, v.3, n.2, p.5 - 6, 1990.

VIANNI, M. C.E; NADER FILHO, A.; ROSSETI, D. J. G. et al. Eficiência do CMT na estimativa do número de células somáticas do leite bubalino. *Rev. Ciência Veterinária*, v. 4, p. 3-4, 1999.

VIEIRA, G. A. Programas de higienização em granjas leiteiras. Produção de leite seguro. **Rev. Leite & Derivados**, Ano X, n. 57, p.24-29, 2001

VOLPI, R. O Senar e a formação de recursos humanos em qualidade do leite: uma proposta. Passo Fundo, 2004.

WILSON, D. J. et al. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v.80, n.10, p. 2592-2598, 1997.

ZAFALON, L. F. et al. Produção láctea de quartos mamários de vacas com elevada contagem de células somáticas. **ARS Veterinária**, Jaboticabal, v.15, n.3, p.202-205, 1999.

ZAFALON, L.F. Mastite subclínica bovina por *Staphylococcus aureus*: qualidade e quantidade de leite secretado por quartos tratados e não tratados e relação custo/benefício do tratamento durante a lactação. 2003. 79 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.

## **4 EXPERIMENTO I**

### **4.1 CONTAGEM DE CÉLULAS SOMÁTICAS, COMPOSIÇÃO E CONTAGEM BACTERIANA TOTAL DO LEITE DE PROPRIEDADES LEITEIRAS NOS MUNICÍPIOS DE MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ - MIRIM E SANTA RITA, MARANHÃO**

#### **RESUMO**

Objetivou-se com este estudo avaliar a influência da contagem de células somáticas (CCS), composição e contagem bacteriana total (CBT) sobre a qualidade do leite produzido em propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Estado do Maranhão. Este trabalho foi realizado tendo em vista a instrução normativa N° 51, publicada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA). Foram coletadas 20 amostras de leite cru no período de verão (agosto a dezembro/2006) e 20 amostras no período de inverno (janeiro a julho/2007), representadas por pequenos, médios e grandes produtores, com ordenha manual e mecânica. Verificou-se no período de verão, que a média de CCS foi de 2.236.700 células/mL, gordura (%) de 3,87, proteína (%) de 3,19, lactose (%) de 4,36, EST (%) de 12,25, ESD (%) de 8,55 e CBT de 677,90 UFC/mL, e no inverno a média de CCS foi de 2.629.950 células/mL, gordura (%) de 3,87, proteína (%) de 3,27, lactose (%) de 4,45, EST (%) de 13,19, ESD (%) de 8,74 e CBT de 8421,35 UFC/mL. Quanto à sazonalidade, as médias de CCS e CBT foram mais elevadas na estação do inverno do que no verão. Entretanto, no verão, as médias de gordura, CCS e CBT foram mais elevadas entre as fazendas que produziam até 250 litros de leite e o contrário ocorreu para EST e ESD e no inverno, as médias de gordura, proteína, lactose, EST, ESD, CCS e CBT foram mais elevadas entre as fazendas que produziam até 250 litros de leite. Verificou-se ainda que no verão e inverno, as médias de gordura foram mais elevadas entre as amostras que apresentaram CCS maior que 1.000.000 células/mL; a média da lactose foi mais elevada entre as fazendas que tinham CCS até 1.000.000 células/mL no verão, enquanto que no inverno a média foi mais elevada entre as fazendas que tinham mais de 1.000.000 células/mL; as médias das variáveis: proteína, EST e ESD foram correspondentemente mais elevadas entre as fazendas com CCS até 1.000.000 células/mL, no inverno e no verão. É necessário um programa de educação sanitária junto aos produtores de leite das regiões estudadas, visando uma melhoria da qualidade do leite.

**PALAVRAS-CHAVE:** Contagem de células somáticas, leite, composição, Contagem bacteriana total.

## **ABSTRACT**

This paper aims at evaluating the influence of Somatic Cell Counting (SCC; CCS, in Portuguese) and Total Bacterial Counting (TBC; CBT, in Portuguese) over the quality of the milk of milk-producing facilities in the towns of Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim and Santa Rita, all located in Brazilian Maranhão state. It was produced under the orientations contained in the Ruling Protocol 51, issued by Brazilian Agriculture, Cattle-Raising and Supply Ministry (Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, in Portuguese). During summertime (August through December 2006) and wintertime (January through July 2007), 20 (twenty) samples of raw milk were collected in each season among small, medium and great producers, through both mechanical and manual milking procedures. Summertime ratings were 2,236,700 cells/mL SCC; 3.87% fat; 3.19% protein; 4.36% lactose; 12.25% EST; 8.55% ESD and 677.90 UFC/mL CBT. Wintertime ratings were 2,629,950 cells/mL; 3.87% fat; 3.27% protein; 4.45% lactose; 13.19% EST; 8.74% ESD and 8,421.35 UFC/mL TBC. As to sazonalidade, both SCC and TBC ratings were higher during wintertime than during summertime. However, during summertime, ratings for fat, SCC and TBC were higher among the facilities producing up to 250 liters of milk; variables *EST* and *ESD* showed inversed ratings. During wintertime, ratings for fat, protein, lactose, EST, ESD, SCC and TBC were higher among the facilities producing up to 250 liters of milk. The collected data confirmed that during, summertime and wintertime, ratings for fat were higher among the samples with SCC higher than 1,000,000 cells/mL; ratings for lactose were higher among the facilities with SCC up to 1,000,000 cells/mL during summertime, as long as during wintertime ratings were higher among facilities with ratings up to 1,000,000 cells /mL; ratings for variables protein, EST and ESD were correspondingly higher among the facilities with SCC up to 1,000,000 cells/mL, during both wintertime and summertime. Such results confirm the need for a sanitary educational effort involving milk producers in the regions studied, aiming at an improvement in the milk quality.

**KEYWORDS:** Somatic Cell Counting, milk, composition, Total Bacterial Counting.

## INTRODUÇÃO

As células somáticas do leite originam-se do sangue (linfócitos, macrófagos e neutrófilos) e células epiteliais de descamação da própria glândula mamária presentes no leite. Essas células são um indicativo da ocorrência de inflamação intramamária e podem ser usadas para distinguir uma glândula mamária infectada de uma não-infectada (SANTOS e FONSECA, 2007).

A contagem de células somáticas do rebanho e do tanque de expansão deve ser vista como ferramenta extremamente valiosa e que, entre outras finalidades, pode-se citar: o monitoramento da prevalência de mastite subclínica no rebanho, especialmente aquelas causadas por microrganismos contagiosos, denotativo da qualidade do leite cru para a indústria; indicação das condições higiênicas sob as quais o leite foi produzido nas propriedades; possibilidade de estimativas das perdas da produção de leite; orientação do produtor para tomada de decisões a fim de prevenir a transmissão da doença durante a lactação e a identificação de vacas para tratamento, secagem e descarte (LANGONI, 2000).

De acordo com Magalhães et al. (2004), altas contagens de células somáticas causam perdas econômicas consideráveis na produção de leite durante a lactação e estas perdas são mais significativas a partir da quarta parição. Quando o animal apresenta mastite clínica, as perdas econômicas são aparentemente maiores, devido aos custos adicionais do tratamento e descarte do leite. Entretanto, a mastite subclínica causa perdas que são preocupantes, pois estas não são visíveis ao produtor leiteiro.

Parâmetros de qualidade do leite são cada vez mais usados para detectar problemas com as práticas de produção e para determinar o valor do leite. Países que desejam competir no mercado internacional de produtos lácteos devem demonstrar a qualidade do produto que estão vendendo. Além da demanda dos consumidores por produtos de maior qualidade, também está ocorrendo uma mudança de responsabilidade do governo para com os produtores de alimentos, de forma a assegurar esta qualidade (FIGUEIREDO e PORTO, 2002).

O método do BactoCount IB (Bentley Instruments, Chaska, USA) foi desenvolvido para superar as limitações dos métodos oficiais de referência e consiste em uma técnica de citometria de fluxo rápida e sensível, desenvolvida para detectar bactérias individuais no leite cru após remoção dos componentes interferentes, o rompimento das colônias de bactérias e a coloração do DNA/RNA das bactérias por sonda fluorescente (HORST, 2006).

Com relação aos parâmetros Extrato Seco Total (EST), Extrato Seco Desengordurado (ESD) e lactose, apresentam espaço secundário nos sistemas de pagamento por qualidade,

muito aquém dos critérios relacionados à gordura e proteína. Os sólidos representam cerca de 12 a 13% da composição do leite e esses teores variam de acordo com a herança genética do animal e/ou rebanho, o estágio de lactação, a gestação, nutrição, idade, estação do ano, incidência de mastite, entre outros (FONSECA, 2001).

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) por intermédio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) publicou a Instrução Normativa Nº51 – IN Nº51 no Diário Oficial da União, em 18 de setembro de 2002. Esse regulamento normatiza a produção, estabelecendo os critérios e parâmetros de identidade e qualidade do leite, desde a ordenha, o resfriamento na propriedade rural e seu transporte a granel, incluindo requisitos físico-químicos e microbiológicos, contagem de células somáticas (CCS) e composição. Com isto acredita-se em uma melhor remuneração do produtor e melhoria da qualidade do leite consumido no Brasil, além da adequação do produto aos padrões internacionais visando ampliar as exportações (LIMA et al., 2006).

Os produtores das regiões norte/nordeste terão até 2010 para produzirem leite com CCS máxima de 1.000.000 células/mL, quando irão diminuir para 750.000 células/mL e a partir de 2011, o parâmetro será de 400.000 células/mL para todas as regiões do país (BRASIL, 2002).

O pagamento diferenciado do leite baseado em critérios de qualidade da matéria-prima fornecida aos laticínios é um assunto bastante relevante, pois consiste em evolução do sistema de comercialização do leite e de um aprimoramento das relações entre indústrias e produtores, além logicamente de premiar com uma bonificação extra aqueles produtores que dedicaram esforços, empenho e recursos financeiros para produzir uma matéria-prima superior (FONSECA, 2005).

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para determinação da qualidade do leite foram selecionadas não probabilisticamente por conveniência, 20 propriedades produtoras de leite, localizadas nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Estado do Maranhão, representando pequenos, médios e grandes produtores, com ordenha manual e mecânica, durante o período de verão (agosto a dezembro de 2006) e inverno (janeiro a julho de 2007).

A colheita das amostras de leite foi realizada em latões com auxílio de conchas de aço inoxidável desinfetadas com álcool a 70% e posteriormente enxutas com auxílio de toalhas de papel, sendo que os latões foram homogeneizados utilizando agitador manual de cabo longo,

com 10 movimentos verticais, segundo metodologia preconizada pela CLINICA DO LEITE (2006).

As amostras eram representadas por um “pool” de cada propriedade, sendo colhida aproximadamente 40 mL em frascos estéreis de 50 mL com pastilha Bronopol (2-bromo-2-nitropropano-1,3-diol e natamicina). Estas foram colocadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, mantidas na temperatura de 7 °C e enviadas ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Goiás - UFG, para serem submetidas às análises de teor de gordura, proteína, lactose, EST, ESD e contagem de células somáticas (CCS).

Para a contagem de células somáticas, utilizou-se o equipamento eletrônico - Fossomatic 5000 Basic (Foss Eletric A/S. Hillerod, Denmark) cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo. Os teores de gordura, proteína, lactose, EST e ESD foram determinados utilizando-se o equipamento eletrônico - Milkoscan 4000 (Foss Eletric A/S. Hillerod, Denmark) cujo princípio analítico baseia-se na absorção diferencial de ondas infravermelhas pelos diferentes componentes do leite (NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 1999).

Para CBT foram colhidas aproximadamente 40mL de leite, em frascos estéreis contendo quatro gotas do conservante azidiol (cloranfenicol, azida sódica, citrato de sódio e álcool etílico), em seguida os frascos foram tombados por 6 vezes, depois foram colocados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, mantidas a 7° C e enviados ao Laboratório de Qualidade do Leite do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Goiás - UFG, onde foram submetidas à análise de Contagem Bacteriana Total, por meio equipamento Bactoscan FC (Foss Eletric A/S. Hillerod, Denmark) com capacidade de análise de 50 amostras/hora e cujo princípio analítico baseia-se na citometria de fluxo (BROUNTIN, 2004).

Após ser automaticamente pipetadas para o interior do equipamento, uma alíquota da amostra de leite sofreu incubação a 50°C por 8 minutos. Durante a incubação misturou-se aos reagentes, ocorrendo a coloração do DNA bacteriano por brometo de etídio e a lise enzimática das células somáticas e componentes do leite. Transcorrido o tempo de incubação, o equipamento transferiu um alíquota da amostra para a célula de fluxo, onde um raio laser incidiu sobre as bactérias coradas, proporcionando a emissão de pulsos luminosos. Estes pulsos foram detectados, contados e o resultado equivale ao número de bactérias/mL. Empregando-se um fator de conversão obteve-se o resultado em UFC/mL (SANTOS e FONSECA, 2007)

Para a análise dos dados foram obtidas distribuições absolutas, percentuais e as medidas estatísticas: média, mediana, desvio padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e valor máximo e o valor de correlação de Pearson (Técnicas de estatística descritiva) e utilizados os teste: Wilcoxon de Postos Sinalizados, teste t-Student pareado e o teste t-Student para amostras independentes com variâncias iguais ou desiguais (Técnicas de estatística indiferencial) (ALTMAN e HALL, 1991; ZAR, 1999).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A CCS no verão variou de 168.000 células/mL a 6.211.000 células/mL, com média de 2.236.700 células/mL e no inverno variou de 767.000 células/mL a 10.198.000 células/mL com média de 2.629.950 células/mL, sendo que 65% das amostras no verão e 85% das amostras no inverno estavam acima dos padrões preconizados pela Instrução Normativa nº51/ MAPA (BRASIL, 2002) para a região nordeste, que estabelece um limite máximo de 1.000.000 células/mL a partir de junho de 2007.

O limite de CCS nos Estados Unidos é de 750.000 células/mL, no Canadá é de 500.000 células/mL, na Nova Zelândia, Austrália e Europa é de 400.000 células/mL (MACHADO et al., 2000). Considera-se, portanto que a qualidade do leite produzido nas propriedades estudadas está comprometida, causando perdas na produção de leite e de seus derivados.

A média de CCS encontra-se acima da média de 348.000 células/mL obtida por Bueno (2004) que avaliaram a qualidade do leite no estado de Goiás, e também acima da média de 492.555 células/mL observada por Fonseca e Neto (2005) na bacia leiteira do Vale do Rio Preto - RJ. Lima et al. (2006) verificaram que a média da CCS de leite de rebanhos do agreste do estado de Pernambuco correspondeu a 402.126 células/mL.

Com relação à sazonalidade, as médias e as medianas de CCS foram correspondentes mais elevadas no inverno do que no verão e a variabilidade expressa através do coeficiente de variação se mostrou bastante elevada desde que a referida medida foi no mínimo 78,01%. O aumento da CCS no inverno, observado nos municípios estudados pode ser justificado, por ser um período que apresenta temperaturas elevadas, alta umidade do ar e chuvas periódicas, resultando em maior exposição das extremidades dos tetos aos microrganismos, favorecendo o aparecimento de novas infecções.

Pode-se observar que a CCS na estação verão apresentou até 1.000.000 células/mL em sete (35,0%) propriedades e acima de 1.000.000 células/mL em 13 (65,0%) propriedades,

enquanto que na estação inverno apenas três (15,0%) propriedades apresentaram CCS até 1.000.000 células/mL e 17 (85%) propriedades tinham valores acima de 1.000.000 células/mL.

Resultados semelhantes foram observados por Araújo et al. (2006) que citam que a média da CCS no período inverno foi estatisticamente superior ( $p < 0,05$ ) àquela observada no verão e enfatizam que no período chuvoso há formação de áreas alagadas e presença de lamas no habitat das vacas, favorecendo as infecções por microrganismos ambientais.

Segundo Viana (2000) e Barbosa et al. (2007), além da presença de infecções intramamárias e fatores intrínsecos como raça, idade da vaca e estágio de lactação, outros fatores extrínsecos podem interferir na CCS, como época do ano e estresse climático.

As altas CCS e CBT observadas no presente estudo podem ser explicadas por falhas no manejo, principalmente no que se refere aos cuidados higiênico-sanitários na ordenha, pois das 20 propriedades estudadas, apenas 12 (60%) tinham como rotina a prática de realizar o pré e/ou pós-*dipping*, mas a maioria não utilizava desinfetantes adequados; algumas usavam na concentração errada e outras utilizavam somente a água para limpeza do úbere e dos tetos. Dessas 12 propriedades, somente três (15%) realizavam o pós-*dipping* pelo fato de ter bezerros ao pé e acharem que os mesmos podem ingerir o produto. Com relação à utilização de pano para secagem dos tetos das vacas, 12 (60%) propriedades fazem uso na rotina de ordenha, sendo um risco em potencial por poder veicular microrganismos patogênicos causadores de mastite e conseqüentemente o aumento da CCS. Somente 12 (60%) propriedades realizavam limpeza e desinfecção das instalações e o restante das propriedades fazia apenas a retirada dos dejetos nas instalações. Constatou-se no presente trabalho, que somente cinco (25%) propriedades utilizavam caneca telada e CMT para diagnóstico de mastite antes da ordenha e apenas dois (10%) proprietários afirmaram conhecer o significado de CCS, mas não souberam responder corretamente (Tabela 1).

Segundo Santos (2007) a desinfecção dos tetos antes e após a ordenha é uma medida eficaz para evitar o aparecimento de novas infecções intramamárias em vacas leiteiras, em particular para os agentes contagiosos. A prática do pré-*dipping* também melhora a estimulação da descida do leite, que é um reflexo neuro-hormonal que aumenta a velocidade de ordenha e a extração do leite.

Souza et al. (2005) observaram em propriedades da Zona da Mata – MG que os principais fatores de risco identificados para o aumento da CCS foram: ausência de anti-sepsia antes e após a ordenha, a não adoção de linha de ordenha e a não higienização dos equipamentos de ordenha (ausência de água quente e/ou treinamento dos ordenhadores).

Tabela 1 Distribuição das propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, analisadas segundo as variáveis relacionadas ao manejo da ordenha.

Variável	n	%
• Realização pré e/ou pós - <i>dipping</i>		
Sim	12	60,0
Não	8	40,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Utilização de pano para secagem dos tetos		
Sim	12	60,0
Não	8	40,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Limpeza e desinfecção das instalações		
Sim	12	60,0
Não	8	40,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Utilização de caneca telada e CMT para diagnóstico de mastite antes da ordenha		
Sim	5	25,0
Não	15	75,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Sabe o significado de CCS?		
Sim	2	10,0
Não	18	90,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>

Na tabela 2, verifica-se que com exceção do percentual de gordura que apresentou médias iguais entre as duas estações, as demais médias foram correspondentemente mais elevadas na estação do inverno do que na estação verão, entretanto diferença significativa ao nível de 5,0% entre as duas estações só foi verificada para EST ( $p < 0,05$ ); a variabilidade expressa através do coeficiente de variação se mostrou reduzida desde que o maior valor foi registrado para percentual de gordura (16,28%) em cada estação.

Tabela 2 Estatística das variáveis: percentual de gordura, proteína, lactose, EST e ESD segundo a estação do ano (verão e inverno), nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA

Variável	Estatísticas	Verão	Inverno	Valor de p
• Gordura (%)	Média	3,87	3,87	p (1) = 1,000
	Mediana	3,82	3,83	
	Desvio padrão	0,63	0,63	
	Coeficiente de variação	16,28	16,28	
	Mínimo	2,96	2,96	
	Máximo	5,41	5,41	
• Proteína (%)	Média	3,19	3,27	p (1) = 0,239
	Mediana	3,23	3,23	
	Desvio padrão	0,20	0,22	
	Coeficiente de variação	6,27	6,73	
	Mínimo	2,67	2,90	
	Máximo	3,42	3,76	
• Lactose (%)	Média	4,36	4,45	p (1) = 0,614
	Mediana	4,39	4,47	
	Desvio padrão	0,27	0,24	
	Coeficiente de variação	6,19	5,39	
	Mínimo	3,42	4,06	
	Máximo	4,74	5,11	
• EST (%)	Média	12,25	13,19	p (2) = 0,009*
	Mediana	12,36	13,26	
	Desvio padrão	0,76	1,06	
	Coeficiente de variação	6,20	8,04	
	Mínimo	10,61	11,07	
	Máximo	13,75	14,57	
• ESD (%)	Média	8,55	8,74	p (1) = 0,467
	Mediana	8,77	8,73	
	Desvio padrão	0,48	0,41	
	Coeficiente de variação	5,61	4,69	
	Mínimo	6,97	7,99	
	Máximo	9,17	9,93	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste de Wilcoxon de Postos Sinalizados para dados pareados.

(2): Através do teste t-Student pareado.

Observou-se que as médias de gordura, proteína, lactose, EST e ESD tanto no verão quanto no inverno, estavam de acordo com os valores preconizados pela IN N°51/MAPA.

Resultados semelhantes foram observados por Barcelos et al. (2006) em amostras de leite cru clandestino em Paruapebas – PA ; Silva et al. (2007) em propriedades leiteiras de Catalão – GO e Ferreira et al. (2006) em amostras de leite pasteurizado em Jaboticabal – SP. Contudo, diferem de Vidal-Martins et al. (2005) em amostras de leite UAT de São Paulo que observaram valores de EST e ESD fora dos padrões exigidos pela IN N°51/MAPA.

Lorenzetti et al. (2006) verificaram resultados opostos ao do presente trabalho, com 53,3% e 40% das amostras de leite tipo C comercializado em Curitiba – PR, fora dos padrões, respectivamente, para gordura e ESD.

A produção de leite variou de 45 litros a 1.100 litros, sendo que 15 (75%) fazendas produziam até 250 litros de leite por dia e cinco (25%) produziam um valor superior a 250 litros de leite.

Na tabela 3, observa-se que no verão as médias foram mais elevadas entre as propriedades que produziam até 250 litros de leite para as variáveis: gordura, CCS e CBT e o contrário ocorreu com as outras variáveis (proteína, lactose, EST e ESD) que apresentaram as médias mais elevadas entre as propriedades que produziam mais de 250 litros de leite, entretanto a 5,0% a única diferença significativa entre os dois subgrupos do volume de leite ocorreu para a CCS ( $p < 0,05$ ).

Tabela 3 Médias das variáveis: percentual de gordura, proteína, lactose, EST e ESD, CCS e CBT, segundo o volume de leite na estação do verão nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA

Variável	Estatísticas	Volume do leite (L)		Valor de p
		Até 250	> 250	
• Gordura (%)	Média	3,94	3,66	$P^{(1)} = 0,413$
	Mediana	3,89	3,60	
	Desvio padrão	0,69	0,37	
• Proteína (%)	Média	3,15	3,31	$P^{(1)} = 0,124$
	Mediana	3,15	3,36	
	Desvio padrão	0,21	0,10	
• Lactose (%)	Média	4,30	4,53	$P^{(1)} = 0,111$
	Mediana	4,34	4,50	
	Desvio padrão	0,29	0,16	
• EST (%)	Média	12,17	12,51	$P^{(1)} = 0,394$
	Mediana	12,16	12,77	
	Desvio padrão	0,84	0,40	
• ESD (%)	Média	8,45	8,85	$P^{(1)} = 0,114$
	Mediana	8,71	8,78	
	Desvio padrão	0,51	0,18	
• CCS X (1000cél./mL)	Média	2.644,47	1.013,40	$P^{(2)} = 0,012^*$
	Mediana	2.238,00	701,00	
	Desvio padrão	1.803,48	763,06	
CBT x (1000 UFC/mL)	Média	837,80	198,20	$P^{(2)} = 0,062$
	Mediana	343,00	112,00	
	Desvio padrão	1.188,56	194,67	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

(2): Através do teste t-Student com variâncias desiguais.

Na tabela 4, observa-se que no inverno, as médias de gordura, lactose, EST, ESD e CCS foram mais elevadas entre as fazendas que produziam até 250 litros de leite, entretanto a única diferença significativa entre os dois subgrupos do volume de leite ocorreu para CCS ( $p < 0,05$ ).

Tabela 4 Médias das variáveis: percentual de gordura, proteína, lactose, EST, ESD, CCS e CBT, segundo o volume de leite na estação do inverno nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA

Variável	Estatísticas	Volume do leite (L)		Valor de p
		Ate 250	> 250	
• <b>Gordura (%)</b>	Média	3,94	3,65	$p^{(1)} = 0,381$
	Mediana	3,88	3,58	
	Desvio padrão	0,69	0,38	
• <b>Proteína (%)</b>	Média	3,31	3,14	$p^{(1)} = 0,123$
	Mediana	3,35	3,17	
	Desvio padrão	0,21	0,18	
• <b>Lactose (%)</b>	Média	4,46	4,42	$p^{(1)} = 0,752$
	Mediana	4,47	4,46	
	Desvio padrão	0,26	0,20	
• <b>EST (%)</b>	Média	13,26	12,98	$p^{(1)} = 0,622$
	Mediana	13,38	12,49	
	Desvio padrão	0,99	1,35	
• <b>ESD (%)</b>	Média	8,79	8,60	$p^{(1)} = 0,377$
	Mediana	8,72	8,74	
	Desvio padrão	0,43	0,35	
• <b>CCS X (1000 céls./mL)</b>	Média	3.067,00	1.318,80	$p^{(2)} = 0,028^*$
	Mediana	2.059,00	1.102,00	
	Desvio padrão	2.650,66	533,06	
<b>CBT (1000 UFC/mL)</b>	Média	10.534,73	2.081,20	$p^{(1)} = 0,442$
	Mediana	1.379,00	1.546,00	
	Desvio padrão	23.569,63	2.089,58	

(\*): Diferença significativa a 5,0%.

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

(2): Através do teste t-Student com variâncias desiguais.

Os resultados da CBT no inverno corroboram com os de Bueno (2004) que observou que no período das chuvas as médias foram significativamente maiores do que no período das secas. O referido autor afirma que as chuvas favorecem o aumento da contaminação

ambiental, o acúmulo de lama nas instalações e maior ocorrência de tetos sujos no momento da ordenha e associando-se às falhas na rotina de ordenha, podem causar uma elevada contaminação do leite.

Araújo et al. (2006), observaram que as altas precipitações pluviométricas e média da contagem de células somáticas aumentam com a intensidade das chuvas, pois há formação de áreas alagadas e presença de lamas nas instalações dos animais, favorecendo, infecções por microrganismos ambientais.

Na Tabela 5, destaca-se que as médias para gordura foram mais elevadas entre as amostras que tinham mais de 1.000.000 células/mL, tanto no inverno quanto no verão; a média para lactose foi mais elevada entre as propriedades que tinham até 1.000.000 células/mL no verão, enquanto que no inverno a média foi mais elevada entre as propriedades que tinham mais de 1.000.000 células/mL; as médias das variáveis: proteína, EST e ESD foram correspondentemente mais elevados entre as propriedades com até 1.000.000 células/mL no verão e inverno, entretanto não se comprovou diferença significativa entre as propriedades com até 1.000.000 células/mL do que entre as propriedades que tinham mais de 1.000.000/mL células para nenhuma das variáveis analisadas no verão ou no inverno.

Tabela 5 Média e desvio padrão das variáveis: gordura, lactose, proteína, EST e ESD segundo a CCS por estação do ano (verão e inverno) nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA

Variável	CCS	Estação do Ano	
		Verão Média (DP)	Inverno Média (DP)
• Gordura	Até 1.000.000	3,65 (0,36)	3,74 (0,61)
	> 1.000.000	3,98 (0,72)	3,89 (0,65)
Valor de p		p <sup>(1)</sup> = 0,277	p <sup>(1)</sup> = 0,724
• Lactose	Até 1.000.000	3,21 (0,10)	3,19 (0,08)
	> 1.000.000	3,17 (0,24)	3,28 (0,23)
Valor de p		p <sup>(2)</sup> = 0,610	p <sup>(1)</sup> = 0,542
• Proteína	Até 1.000.000	4,43 (0,23)	4,49 (0,03)
	> 1.000.000	4,32 (0,30)	4,44 (0,26)
Valor de p		p <sup>(1)</sup> = 0,396	p <sup>(1)</sup> = 0,785
• EST	Até 1.000.000	12,30 (0,35)	13,83 (0,44)
	> 1.000.000	12,23 (0,92)	13,07 (1,10)
Valor de p		p <sup>(2)</sup> = 0,798	p <sup>(1)</sup> = 0,268
• ESD	Até 1.000.000	8,65 (0,32)	8,78 (0,07)
	> 1.000.000	8,50 (0,55)	8,74 (0,45)
Valor de p		p <sup>(1)</sup> = 0,530	p <sup>(1)</sup> = 0,868

(1): Através do teste t-Student com variâncias iguais.

(2): Através do teste t-Student com variâncias desiguais.

Com relação à gordura, resultados semelhantes foram observados por Lima et al. (2006) que verificaram aumento do teor de gordura à medida que a CCS aumentava. Os mesmo autores observaram um aumento de EST, ESD e proteína, com o aumento de CCS, mas uma diminuição quando a CCS estava acima de 1.000.000 células/ mL e aumento da lactose com o aumento da CCS. Ao contrário de Bueno et al. (2005) que verificaram uma redução significativa nos teores de proteína, lactose e EST com o aumento da CCS e com relação à gordura constatou-se que praticamente não houve variação entre os intervalos, com diferença significativa apenas entre os intervalos (CCS menor ou igual a 200.000 células/mL e entre 201.000 e 400.000 células/mL).

## CONCLUSÃO

A maioria das amostras de leite analisadas apresentam-se fora dos padrões exigidos pela Instrução Normativa Nº51 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento no que se refere à CCS e CBT e dentro dos padrões com relação à composição. Dessa forma, se faz necessário a introdução de um programa de educação sanitária, junto aos produtores de leite das regiões estudadas, visando à melhoria da qualidade do leite produzido.

## REFERÊNCIAS

ALTMAN, D. G.; HALL, C. **Practical Statistics for Medical Research**. London, Great Britain. 1991.

ARAÚJO, V. M.; SILVA, P. D. L.; CORREIA, R. T. P. Variação dos níveis de células somáticas no leite de rebanho bovino potiguar em diferentes períodos do ano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia, GO. Resumos... Goiânia, 2006.

BARBOSA, S. B. P.; MONARDES, H. G.; CUE, R. I. et al. Avaliação da contagem de células somáticas na primeira lactação de vacas holandesas no dia do controle mensal. **Rev. Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.1, 2007.

BARCELOS, S.S.; OLIVEIRA, L. R. S.; ALVES, K. S.; VÉRAS. et al. Caracterização físico-química do leite fluido exposto ao consumo no município de Parauapebas – PA. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. Anais... Goiânia, 2006.

BENVENGA, G. U.; D' ANGELINO, J. L. Avaliação celular do leite de vacas da raça jersey criadas no estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.17, n.110, p.101-108, 2003.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C, do Leite pasteurizado e do leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário

Oficial da União, Brasília, DF, 18 de set. de 2002. Secção 3. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/in51.htm>>. Acesso em: 25 set. 2002.

BUENO, V. F. F. Contagem de celular somática e bacteriana total do leite cru refrigerado em tanques de expansão de uso individual no estado de Goiás. 2004. 52f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Área de Sanidade Animal) – Universidade Federal do Goiás, Goiânia, 2004.

BUENO, V. F. F. et al. Contagem celular somática: relação com a composição centesimal do leite e período do ano no Estado de Goiás. **Rev. Ciência Rural**, Goiânia, v. 35, n. 4, p. 48-56, 2005.

BROUNTIN, P. Contagem individual de bactérias no leite no manejo da qualidade. In: DÜRR, J. W.; CARVALHO, M. P.; SANTOS, M. V. **O compromisso da qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo: UPF, cap. 26, 2004.

CASSOLI, L. D. Validação da metodologia de citometria de fluxo para avaliação da contagem bacteriana do leite cru. 2005. 46 p. Dissertação (Mestrado – Agronomia). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br>> Acesso em: 20 de jun. 2006.

CLÍNICA DO LEITE. Manual de Instruções para coleta e envio de amostras de leite para análise. Disponível em: <<http://www.clinicadoleite.com.br>>. Acesso em: 20 out. 2006.

COELHO, K. O.; MESQUITA, A. J.; MACHADO, P. F. Impacto dos níveis de CS e uréia sobre o rendimento e a qualidade do queijo tipo mussarela. In: CONGRESSO DE PESQUISA, ENSINO E EXTENSÃO DA UFG, 2., 2005, Goiânia. Anais... Goiânia, 2005.

FERREIRA, L. M. et al. Avaliação da qualidade físico-química de leite pasteurizado tipo C integral comercializado na cidade de Jaboticabal – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia, GO. Anais... Goiânia, 2006.

FIGUEIREDO, M. G.; PORTO, E. Avaliação do impacto da qualidade da matéria-prima no processamento industrial do iogurte natural. **Caderno Fazer Melhor**, p.76-80, 2002.

FONSECA, M. F. A. C. Cenário da produção e da comercialização dos alimentos orgânicos. In: FERNANDES, E. N.; BRESSAN, M.; VILELA, D. **Produção orgânica de leite no Brasil**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p. 93-111.

FONSECA, M. M.; NETO, P. D. V. Qualidade sanitária do leite de vacas da bacia leiteira do vale do Rio Preto avaliada por contagem de células somáticas. **Rev. Bras. Med. Vet.**, v.27, n.2, p.31-36, 2005.

FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. Qualidade do leite e controle de mastite. São Paulo: Lemos, 2000.

HORST, J. A. Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil. In: \_\_\_\_\_. Impacto da refrigeração na contagem bacteriana do leite. Goiânia: Talentos, 2006. p. 163-174.

LANGONI, H. Tendências de modernização do setor lácteo: monitoramento da qualidade do leite pela contagem de células somáticas. **Rev. Educação Continuada**, v.3, p.57-64, 2000.

LIMA, M. C. G. et al. Contagem de células somáticas e análises físico-químicas e microbiológicas do leite cru tipo C produzido na região agreste do estado de Pernambuco. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.73, n.1, p.89-95, 2006.

LORENZETTI, D. K. et al. Avaliação físico-química de leite tipo C comercializado em Curitiba e região metropolitana. **Rev. Higiene Alimentar**, v.20, n.138, p. 62-65, 2006.

MAGALHÃES, H. R. et al. Perdas econômicas decorrentes da contagem de células somáticas. In: V Simpósio da Sociedade Brasileira de Melhoramento Animal, 5., 2004, Pirassununga. Resumos... Pirassununga, 2004.

MACHADO, P. F. et al. Composição do leite de tanques de rebanhos brasileiros distribuídos segundo a contagem de células somáticas. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 29, n. 6, p. 1883-1886, 2000.

MARTINS, M. E. P. M. et al. Efeito do conservante bronopol e azidiol quanto binômio tempo temperatura sobre a contagem bacteriana total do leite cru. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. Resumos ... Goiânia, 2006.

NATIONAL MASTITIS COUNCIL. (Ed.). Current concepts of bovine mastitis. Madison, 1999.

PICINI, L. C. A. Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais. 2003. 89f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária- Área de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

SANTOS; M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Barueri: Manole, 2007.

SILVA, J. C.; BENEDETTI, E.; TETZER, T. A. Contagem de células somáticas em amostras de leite cru na região de Catalão, GO. **Rev. Higiene Alimentar**, v.21, n. 149, p. 73-81, 2007.

SOUZA, G. N. et al. Fatores de risco associados à alta contagem de células somáticas do leite do tanque em rebanhos leiteiro da Zona da Mata de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v. 57, suppl. 2, 2005.

VIANA, L. C. Duração das infecções naturais por estafilococos coagulase negativo e contagem de células somáticas em vacas primíparas. 2000, 89 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal), Universidade Estadual de Londrina.

VIDAL-MARTINS, A. M. C. et al. Características físico-químicas do leite UAT (ultra alta temperatura) ao longo do seu processamento. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, 2005.

VIEIRA, G. A. Programa de Higienização em Granjas Leiteiras. Produção de leite seguro. **Rev. Leite e Derivados**, v. 10, n. 57, p. 24-50, 2001.

ZAR, E. H. Biostatistical Analysis. New Jersey, Prentice Hall. 1999.

## 4.2 EXPERIMENTO II

### 4.2.1 QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA UTILIZADA EM PROPRIEDADES LEITEIRAS NOS MUNICÍPIOS DE MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ- MIRIM E SANTA RITA - MA.

#### RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar a qualidade da água utilizada na higienização do úbere dos animais e equipamentos e utensílios de ordenha em propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, através do NMP de coliformes totais e *E. coli*, pelo método Colilert. Foram coletadas 20 amostras de água no período de verão (agosto a dezembro/2006) e 20 amostras no período de inverno (janeiro a julho/2007), representadas por pequenos, médios e grandes produtores com ordenha manual e mecânica. Verificou-se no verão que coliformes totais variaram de ausência a contaminação máxima tabelada (> 2419,6 NMP) e *E. coli* variaram de ausência a 344,1 NMP e no inverno, coliformes totais variaram de ausência a contaminação máxima (>2419,6 NMP) e *E. coli* variou de ausência a 770,1 NMP. No verão 90% das amostras para coliformes totais e 75% de amostras para *E. coli* e no inverno, 90% das amostras para coliformes totais e 70% para *E. coli*, estavam em desacordo com a portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde. É necessário a realização de um trabalho de educação sanitária junto à população do meio rural, a adoção de medidas preventivas e tratamento das águas comprometidas, visando minimizar a ocorrência de enfermidades de veiculação hídrica e melhoria da qualidade do leite produzido nas propriedades leiteiras.

**PALAVRAS-CHAVE:** Água, Coliformes total, *E. coli*, Colilert.

#### ABSTRACT

### QUALITY MICROBIOLOGICAL WATER USE IN PROPIEDAD MILK PRODUCING IN THE TOWNS OF MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ-MIRIM AND SANTA RITA,

The present paper aims at evaluating the quality of the water used in the higienization of animal nipples, equipments and milking instruments in milk-producing facilities in the towns

of Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim and Santa Rita, all located in Brazilian Maranhão state, through NMP of total choliforms and *E. coli*, through Colilert method. During summertime (August through December 2006) and wintertime (January through July 2007), 20 (twenty) samples of water were collected in each season among small, medium and great producers, through both mechanical and manual milking procedures. Analysis showed that total choliforms ranged from absence to total charted contamination (> 2419.6 NMP) and *E. coli* ranged from absence to 344.1 NMP and during wintertime, total choliforms ranged from absence to maximum contamination (>2419.6 NMP) and *E. coli* ranged from absence to 770.1 NMP. During summertime, 90% of the samples for total choliforms and 75% of samples for *E. coli* and during wintertime, 90% of the samples for total choliforms and 70% of the samples for *E. coli* didn't meet the requirements of regulation 518/2004, issued by Brazilian Health Ministry. Conclusions obtained reinforce the need for a sanitary education effort involving the country population, the implementation of preventive measures and the treatment of the compromised waters, aimed at reducing the occurrences of water-transmitted diseases and at improving the quality of the milk produced in the facilities studied.

**KEYWORDS:** Walter, microbiology, colilert.

## INTRODUÇÃO

A água é considerada um dos elementos fundamentais para a existência do homem. Suas funções no abastecimento público, industrial e agropecuário, na preservação da vida aquática, na recreação e no transporte demonstram essa importância vital (GUILHERME et al., 2000).

Aliadas à falta de água potável estão a má distribuição e contaminação do recurso hídrico. Atualmente cerca de 1,4 bilhões de pessoas não têm acesso à água limpa e a cada oito segundos, morre uma criança por uma doença relacionada com água contaminada como disenteria e cólera. Cerca de 80% das enfermidades no mundo são contraídas devido à água poluída (LEITE et al., 2007).

BARCELLOS et al. (2006) estudaram a qualidade da água na zona rural de Lavras – MG e observaram contaminação fecal nos mananciais, inclusive os subterrâneos e sub-superficiais. Enfatizaram a necessidade da busca de conhecimentos da realidade sanitária no meio rural, caracterizada por populações com menor acesso às medidas de saneamento e pela presença de atividades agropecuárias altamente impactantes, podendo interferir na qualidade da água dos mananciais que abastecem a área urbana.

Segundo RIBEIRO et al. (2000) a água utilizada no ambiente de ordenha para limpeza, tanto dos tetos dos animais como dos equipamentos de ordenha (coletores, ordenhadeiras mecânicas, baldes, etc.) pode atuar como via de transmissão de microrganismos para a glândula mamária, bem como comprometer a qualidade do leite, uma vez que a água com alta contagem de bactérias, utilizada na limpeza dos equipamentos, possibilita a veiculação da população bacteriana diretamente para o leite quando este entra em contato com as superfícies contaminadas.

Embora seja evidente a importância que a água exerce sobre a qualidade do leite, poucos produtores e indústrias de laticínios têm monitorado a qualidade da água. Pode-se dizer que, seguramente, a baixa qualidade da água é um dos aspectos mais importantes que contribui para a produção de leite com alta contagem bacteriana total (CBT) (CERQUEIRA et al., 2006).

O sistema Colilert utilizado para enumeração de coliformes totais e *E. coli* na água, apresenta uma formulação específica que otimiza o desenvolvimento rápido dos microrganismos, pois têm afinidades por determinados nutrientes (ONPG (orto-nitrofenol- $\beta$ -galactopiranoside) e MUG (4-metil-umbeliferil-  $\beta$ -d-glucurônico) correspondentes ao seu metabolismo e utilizam estes nutrientes como fonte de carbono (GREGORIO, 2007).

Enfatizando a importância da qualidade da água e a ausência de pesquisas na literatura regional sobre o tema abordado, realizou-se este estudo, objetivando subsidiar a avaliação da qualidade da água utilizada na higienização do úbere dos animais, equipamentos e utensílios de ordenha em propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Estado do Maranhão.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para determinação da qualidade da água foram selecionadas não probabilisticamente por conveniência, 20 propriedades produtoras de leite, localizadas nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Estado do Maranhão, representando pequenos, médios e grandes produtores, com ordenha manual e mecânica, durante o período de verão (agosto a dezembro de 2006) e inverno (janeiro a julho de 2007).

A colheita da água foi realizada assepticamente nos pontos de saída (torneiras) localizadas na sala de ordenha das propriedades visitadas e em seguida acondicionadas em bolsas de polietileno (Thio-bag) contendo tiosulfato de sódio nas amostras de rede de distribuição e encaminhadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável, ao Laboratório

de Microbiologia de Alimentos da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), onde foram submetidas às análises de Pesquisa de coliformes totais e *E. coli* por meio do método rápido – Colilert (Tecnologia de substrato definido – IDEXX).

Durante as colheitas das amostras foram aplicados questionários investigativos, contendo questões fechadas, visando determinar a origem da água; tratamento dado à água; tipo de resíduos encontrados na água; a distância entre a fonte da água e fossas sépticas, lagoas, esterqueiras e currais; se a fonte de água está na parte mais elevada do terreno; qual o estado de conservação da fonte, se já efetuou limpeza da caixa d'água; frequência de problemas gastrointestinais (diarréia/vômitos) entre os moradores da comunidade; qual a opinião sobre a água da propriedade; se realizou alguma análise da água; frequência de vezes que a água foi analisada e qual o resultado obtido sobre a qualidade da água analisada.

Foi adicionado o reagente (ONPG e MUG) em 100ml de água e após uma homogeneização a amostra foi despejada na cartela Quanti-Tray para quantificação de Coliformes totais e *E. coli* em seguida a cartela foi lacrada e incubada por 24 horas a 35°C.

Os resultados foram verificados com a mudança de cor nas cavidades da cartela para amarelo nas amostras positivas para Coliformes totais e para *E. coli* as cavidades amarelas fluorescentes eram consideradas positivas na presença de luz UV de 365 nm. Contavam-se as cavidades positivas e comparava-se com uma tabela para NMP.

Para a análise dos dados foram obtidas as distribuições absolutas, percentuais e as medidas estatísticas: média, mediana, desvio padrão, coeficiente de variação, valor mínimo e valor máximo e o valor de correlação de Pearson (Técnicas de estatística descritiva) e teste de Wilcoxon de Postos Sinalizados (ALTMAN e HALL, 1991; ZAR, 1999).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na tabela 1 verifica-se que em 40% das propriedades estudadas a água utilizada era proveniente de açude, 40% de poços artesianos, 10% de poços cacimbas e 10% de rede de distribuição. Na maioria das propriedades (85%) não se fazia o tratamento da água e os tipos de resíduos encontrados na água eram 15% turvações, 15% partículas suspensas, 15% turvações e partículas suspensas, 10% presença de limo vermelho e 45% dos proprietários afirmavam que nunca observaram resíduos. Quando foram questionados se a fonte de água está situada a mais de 30 metros de distância de fossas sépticas, lagoas, esterqueiras e currais, 85% afirmaram que sim, enquanto 80% dos proprietários afirmaram que a fonte de água está

situada na parte mais elevada do terreno e 20% dos proprietários consideram ótimo, 55% bom e 25% ruim o estado da fonte da água utilizada nas propriedades leiteiras.

Tabela 1 Distribuição das propriedades leiteiras analisadas segundo as variáveis relativas a água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-mirim e Santa Rita – MA

<b>Variável</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>• Origem da água</b>		
Açude	8	40,0
Poço artesiano	8	40,0
Poço cacimba	2	10,0
Rede de distribuição	2	10,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
<b>• Tratamento da água</b>		
Sim	3	15,0
Não	17	85,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
<b>• Tipo de resíduos encontrados na água analisada</b>		
Turvações	3	15,0
Partículas suspensas	3	15,0
Partículas suspensas/turvações	3	15,0
Presença de limo vermelho	2	10,0
Nunca observou	9	45,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
<b>• A fonte da água está situada a mais de 30 metros de distância de</b>		
<b>Fossas sépticas, lagoas, esterqueiras, currais</b>		
Sim	17	85,0
Não	3	15,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
<b>• Fonte da água está situada na parte mais elevada do terreno</b>		
Sim	16	80,0
Não	4	20,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
<b>• Qual o estado de conservação da fonte</b>		
Ótimo	4	20,0
Bom	11	55,0
Ruim	5	25,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>

Na tabela 2, estão apresentados os resultados referentes ao armazenamento da água utilizada no processo de ordenha, sendo que apenas 40% dos proprietários afirmaram que já efetuou a limpeza da caixa d'água e a frequência de limpeza era de uma (5%), duas (15%) e mais de três vezes (20%). Quando foram questionados sobre a frequência de problemas gastrointestinais (diarréia/vômito) entre os moradores da comunidade, 10% afirmaram que nunca teve problemas e 90% não sabem responder. Apenas 30% dos proprietários afirmaram

que a água era ótima, 40% a consideravam boa e 30% regular, mas apenas 20% realizaram análise da água, sendo que 20% realizaram essa análise apenas uma vez. Desses 20% que realizaram análise, 5% afirmaram os resultados confirmaram que a água era de ótima qualidade, 10% que a água era boa e 5% não sabem informar.

Tabela 2 Distribuição das propriedades leiteiras analisadas segundo as variáveis relativas ao estado de armazenamento da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-mirim e Santa Rita – MA

Variável	n	%
• Já efetuou limpeza da caixa d'água?		
Sim	8	40,0
Não	12	60,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Freqüência de limpeza da caixa d'água		
Uma	1	5,0
Duas	3	15,0
Mais de três	4	20,0
Nunca efetuou limpeza	12	60,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Freqüência de problemas gastrointestinais (diarréia/ vômitos)		
Entre os moradores da comunidade		
Não	2	10,0
Não sabe	18	90,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Qual a sua opinião sobre a água da propriedade?		
Ótima	6	30,0
Boa	8	40,0
Regular	6	30,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Realizou alguma análise da água da propriedade		
Sim	4	20,0
Não	16	80,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Freqüência de vezes que a água foi analisada		
Uma vez	4	20,0
Não realizou análise	16	80,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>
• Qual o resultado obtido sobre a qualidade da água analisada?		
Ótimo	1	5,0
Bom	2	10,0
Não sabe informar	1	5,0
Não realizou análise	16	80,0
<b>TOTAL</b>	<b>20</b>	<b>100,0</b>

Em um estudo realizado por PICININ (2003) em propriedades leiteiras de Minas Gerais, 100% das propriedades que possuíam como origem, mina, cisterna, ou riacho,

apresentaram amostras de água impróprias ao consumo e outros fins, ou seja, a água não apresentava nenhum grau de potabilidade e nas propriedades que possuíam poço ou rede de distribuição, apresentaram 42,86% e 50,00% de água considerada potável e de boa qualidade, respectivamente. No entanto, os resultados estavam em desacordo com relação à distância da fonte de abastecimento em relação aos locais de contaminação, onde se observou apenas 21,88% das propriedades com distância mínima de 30 metros de local de risco de contaminação e 50,00% dos entrevistados afirmaram que faziam mais de três limpezas de caixas d'água por ano.

Apesar de não existir padrões específicos para a água empregada no processo de obtenção do leite, ROBINSON (1987) afirma ser necessário que este produto apresente características bacteriológicas semelhantes às da água potável, ou seja, ausência de coliformes totais e *Escherichia coli* em 100 mL de água, segundo a portaria nº 518/ 2004 do Ministério da Saúde.

Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo foram observados por POLEGATO e AMARAL (2005) em propriedades leiteiras do município de Marília – SP, onde 90% das propriedades não efetuavam tratamento químico da água e nunca analisaram a água que consomem e 10% que tratavam a água o faziam de maneira inadequada.

Segundo AMARAL (2001) o consumo prolongado de água das fontes sem problemas evidentes, somado às características estéticas da água, dá ao consumidor uma sensação de pureza da mesma, levando ao descaso com relação à adoção de medidas de preservação da qualidade da água consumida.

Devido a situações como estas, a baixa qualidade microbiológica da água utilizada nas fazendas, indica a necessidade de mais pesquisas e adoção de medidas corretivas, devido aos riscos de contaminação do leite, afetando consideravelmente sua qualidade final.

Na Tabela 3 estão descritos os resultados das análises microbiológicas da água utilizada no processo de ordenha no período de verão, onde coliformes totais variaram de ausência a contaminação máxima tabelada ( $> 2419,6$  NMP) e *E. coli* variaram de ausência a 344,1 NMP. Portanto, 90% das amostras para coliformes totais e 75% de amostras para *E. coli*, estavam em desacordo com a portaria nº 518/ do Ministério da Saúde que cita ausência de coliformes e *E. coli* em 100 mL de água potável.

GIATTI et al. (2007) utilizando a mesma metodologia do presente trabalho, evidenciaram em 65 amostras de água de áreas indígenas de São Gabriel da Cachoeira – AM, que 89,2% delas apresentaram coliformes termotolerantes.

Tabela 3 Resultado de análises microbiológicas da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, durante o período do verão.

AMOSTRAS	<i>Coliformes Total/NMP</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	1119,9	46,5
2	1046,3	23,5
3	648,8	3
4	2	<1
5	13,1	<1
6	1553,1	1
7	980,4	2
8	2419,6	344,1
9	>2419,6	13,1
10	>2419,6	12
11	>2419,6	13,1
12	>2419,6	12
13	14,6	<1
14	15,8	4,1
15	648,8	13,5
16	488,4	18,7
17	517,2	204,6
18	344,8	143
19	<1	<1
<b>20</b>	<1	<1

Na Tabela 4 observam-se os resultados de análises microbiológicas da água utilizada no processo de ordenha no período do inverno, onde coliformes totais variaram de ausência a contaminação máxima (>2419,6 NMP) e *E. coli* variou de ausência a 770,1 NMP, sendo que 90% das amostras de coliformes totais e 70% das amostras de *E. coli* estavam em desacordo com a portaria nº 518/2004 MS, para água potável.

Quando se comparou os valores médios dos NMP de coliformes totais e *E. coli* pelo teste de Wilcoxon com  $p = 5\%$  de probabilidade, verificou-se que não há diferença significativa para níveis de contaminação no período de verão e inverno.

Tabela 4 Resultados de análises microbiológicas da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, durante o período do inverno

AMOSTRAS	<i>Coliformes Total/NMP</i>	<i>Escherichia coli</i>
1	1553,1	1
2	>2419,6	15,5
3	>2419,6	<1
4	2	<1
5	<1	<1
6	>2419,6	19,1
7	>2419,6	8,4
8	2419,6	770,1
9	>2419,6	727
10	517,2	12,6
11	435,2	11,3
12	579,4	2
13	5,2	<1
14	461,1	6
15	>2419,6	308,8
16	920,8	14,5
17	25,9	23,1
18	5,2	<1
19	<1	<1
<b>20</b>	21,1	4,1

Resultados diferentes foram verificados por RAPINI et al. (2003) em propriedades leiteiras da região metropolitana de Belo Horizonte – MG, onde 76,8% e 60,9% da água utilizada na limpeza de equipamentos e utensílios de ordenha apresentavam coliformes totais e coliformes termotolerantes, respectivamente. Enfatizando a importância do monitoramento da qualidade da água, evitando a contaminação do leite.

Resultados inferiores também foram verificados por BLANCH et al. (2007) que observaram uma ocorrência de 2% de *Escherichia coli* em 16.576 amostras de água de uma rede de distribuição na cidade de Barcelona, na Espanha.

Os achados do presente trabalho corroboram com AMARAL et al. (2003) que estudaram a qualidade higiênico-sanitária de 180 amostras de águas de consumo humano em 30 propriedades rurais da região nordeste de São Paulo. Os resultados evidenciaram que 90% das amostras de água das fontes e dos reservatórios e 96,7% de água de consumo humano quando colhidas no período de chuvas e 83,3%, 96,7% e 90% daquelas colhidas respectivamente nos mesmos locais, durante a estiagem, estavam fora dos padrões microbiológicos de potabilidade para água de consumo humano.

Os resultados obtidos são superiores aos observados por COMBARRO et al. (1998) em 80 amostras de água de poço na zona rural de Galicia no Chile, onde verificaram a ocorrência de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *E. coli* em 63,75%, 23,75% e 21,25% das amostras de água, respectivamente.

Na tabela 5 estão apresentados os resultados das análises da água no período de verão e inverno. A média no verão foi de 974,66 e 42,96 para coliformes totais e *E. coli* e no inverno a média foi de 1073,27 e 96,48 para coliformes totais e *E. coli*. Portanto, no inverno, as médias foram maiores do que no verão, mas não houve diferenças significativas.

Tabela 5 Estatística das variáveis: Coliformes total e *E. coli* da água utilizada no processo de ordenha nas propriedades leiteiras de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, segundo a estação do ano (verão e inverno)

Variável	Estatísticas	Estação do ano		Valor de p
		Verão	Inverno	
• Coliformes total (NMP/mL)		211,73	179,71	p <sup>(1)</sup> = 0,679
	Média geométrica			
	Mediana	648,80	548,30	
	Média	974,66	1073,27	
	Desvio padrão	958,69	1081,17	
• <i>E. coli</i> (NMP/mL)		8,15	7,95	p <sup>(1)</sup> = 0,877
	Média geométrica			
	Mediana	12,00	7,20	
	Média	42,96	96,48	
	Desvio padrão	88,17	233,12	

(1): Através do teste de Wilcoxon de Postos Sinalizados para dados pareados.

Resultados diferentes ao presente trabalho foram observados por RIBEIRO et al.(2000) que avaliaram 34 amostras de água utilizadas na ordenha de propriedades leiteiras dos estados de Minas Gerais e São Paulo e encontraram 75,55% delas fora dos padrões para água potável, com média de 170 coliformes/ 100mL de água e variando de ausência a  $16 \times 10^3$ .

Resultados semelhantes aos obtidos neste estudo foram também observados por AMARAL et al. (2005) ao pesquisarem em água de consumo humano das fontes de abastecimento (poço e mina), reservatórios e pontos de consumo em 13 propriedades rurais

produtoras de suíno na região noroeste de São Paulo onde não houve diferença nas porcentagens de amostras fora dos padrões para *E. coli* entre os períodos de seca e chuva. Enfatizam ainda que a *E. coli* está presente na água sempre em decorrência do aporte de material fecal. Com relação aos coliformes totais, a maior ocorrência foi no período das chuvas nos reservatórios e no período da estiagem nas fontes de abastecimento.

Em um estudo sobre a qualidade microbiológica da água de propriedades rurais de Franca- SP, JACINTHO et al. (2005) verificaram resultados inferiores aos observados no presente trabalho com 77,4% das amostras fora dos padrões durante a estiagem e 70% das amostras no período de chuvas. Concluem que são necessárias melhorias na qualidade sanitária da água das propriedades para prevenir doenças de transmissão hídrica, garantindo melhorias na qualidade de vida da população rural.

GARBOGGINI e GALLO (1998) ao utilizarem o sistema Colilert para analisar a qualidade microbiológica de água de nascentes (bicas) na área urbana de Piracicaba- SP verificaram que 100% das amostras estavam contaminadas por coliformes totais. Os mesmos autores relacionaram a época de maior precipitação pluviométrica com a positividade para *E. coli*, bem como negatividade em épocas sem chuva, o que leva a crer que estas nascentes talvez estejam sofrendo contaminação por meio das águas das chuvas.

A preocupação com a qualidade da água utilizada no processo de ordenha deve ser constante. MEDEIROS (2005) analisou a água utilizada na ordenha, limpeza dos tetos e ordenhadeiras, em propriedades leiteiras no município de Cerqueira César – SP e concluiu que 94% da água estava fora dos padrões de potabilidade e que a *E. coli* foi isolada em 51% das amostras de água utilizada no processo de ordenha. Contudo não foi observada associação entre os agentes encontrados na água utilizada no processo de ordenha com os agentes isolados no leite mastítico analisados nas mesmas propriedades.

A água utilizada no processo de obtenção do leite pode representar um risco em potencial tanto para o estado sanitário da glândula mamária como para a qualidade microbiológica do leite, quando não atende aos padrões de potabilidades para consumo humano.

Provavelmente as altas contagens de coliformes totais e *E. coli* encontradas na água das propriedades leiteiras estudadas, sejam devido à disposição inadequada de resíduos orgânicos oriundos de atividades humana e animal, proporcionando contaminação nas fontes de captação e nas redes de distribuição, aliado à ausência de limpeza das caixas d'água e de tratamento químico e também pelo desconhecimento do produtor rural em relação ao risco à saúde decorrente do consumo de água contaminada. Os proprietários ainda acreditam que a

água de poço, açude e rede de distribuição são de boa qualidade e desta forma existe um descaso em relação à adoção de medidas de prevenção da qualidade da água consumida.

## CONCLUSÃO

A maioria da água utilizada na higienização do úbere dos animais, equipamentos e utensílios de ordenha em propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA está fora dos padrões microbiológicos para potabilidade, de acordo com a portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde.

É necessária a realização de um trabalho de promoção em saúde junto à população do meio rural, a adoção de medidas preventivas e tratamento das águas comprometidas, visando minimizar a ocorrência de enfermidades de veiculação hídrica e melhoria da qualidade do leite produzido nas propriedades leiteiras.

## REFERÊNCIAS

ALTMAN, D. G.; HALL, C. **Practical Statistics for Medical Research**. London: Great Britain, 1991, 611 p.

AMARAL, L. A. et al. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.37, n.4, p. 510-514, 2003.

AMARAL, L. A. et al. Água utilizada em suinocultura como fator de risco à saúde humana e animal. **Ars veterinária**, Jaboticabal, v.21, n.1, p.41- 46, 2005.

BARCELLOS, C. M. et al. Avaliação da qualidade da água e percepção higiênico-sanitária na área rural de Lavras, Minas Gerais, Brasil, 1999-2000. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.22, n. 9, p. 1967-1978, 2006.

BLANCH, A. R. et al. Characterization of bacterial coliform occurrences in different zones of drinking water distribution system. **Journal do Applied Microbiology**, v. 102, n.3, p. 711-721, 2007

CERQUEIRA, M. M. O. P.; PICININ, L. C. A.; FONSECA, L. M.; SOUZA et al. Qualidade da água e seu impacto na qualidade microbiológica do leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2., 2006, Goiânia. Resumos... Goiânia, 2006.

COMBARRO, M. P.; LONGO, E.; AGRELO, D. et al. Contaminación bacteriana em pozos de zonas rurales de Galicia. **Rev. San. Hig. Pub.**, Madri, v.62, p. 1561-1569, 1988.

GARBOGGINI, I. L. A.; GALLO, C. R. Pesquisa de *Salmonella*, *Campylobacter*, Coliformes totais e *Escherichia coli* em águas de nascentes (bicas) em Piracicaba, SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 16., 1998, Rio de Janeiro. Resumos...Rio de Janeiro, 1998.

GIATTI, L. L. Reflexões sobre água de abastecimento e saúde pública: um estudo na amazônia brasileira. **Rev. Saúde e Sociedade**, São Paulo, v. 16, n. 1, p. 134-144, 2007.

GUILHERME, E. F. M.; SILVA, J. A. M.; OTTO, S. S. *Pseudomonas aeruginosa* como indicador de contaminação hídrica. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n.76, p. 43- 46, 2000.

GREGÓRIO, D. Coliform bactéria analysis: Colilert 18 hr. method with Quanti-Trays. Capturado em: <http://www.swrcb.ca.gov/nps/docs/cwtguidance/4411sop.doc>. Acesso em: 12 dez. 2007

JACINTHO, A. C. B.; MIRANDA, A. P.; AMARAL, L. A. Avaliação higiênico-sanitária, teores de nitrato, nitrito e cromo em águas de propriedades rurais e suburbanas em Franca, SP, Brasil. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 19, n. 135, p. 92-97, 2005.

LEITE, M. O. et al. Controle de qualidade da água em indústrias de alimentos. Disponível em: <[http://www.dipemar.com.br/leite/69/materia\\_atecnico\\_leite.htm](http://www.dipemar.com.br/leite/69/materia_atecnico_leite.htm)>. Acesso em: 23 jun. 2007.

MEDEIROS, M. I. M. Associação de agentes patogênicos isolados em análise microbiológica da água, com a presença de mastite clínica ou subclínica, em propriedades leiteiras da região de Cerqueira César-SP. 2005. 73 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) -

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2005.

PICININ, L. C. A. Qualidade do leite e da água de algumas propriedades leiteiras de Minas Gerais. 2003. Belo Horizonte. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária – Área de Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2003.

POLEGATO, E. P. S.; AMARAL, L. A. A qualidade da água na cadeia produtiva do leite: nível de conhecimento do produtor rural. **Rev. Higiene Alimentar**, São Paulo, v.19, n.129, p. 15-24, 2005.

RAPINI, L. S. et al. Qualidade microbiológica da água de propriedades leiteiras na região metropolitana de Belo Horizonte – MG. **Rev. Instituto Laticínio Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 58, p.95-98, 2003.

RIBEIRO, A. R. et al. Análise microbiológica da qualidade da água utilizada na ordenha em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo e Minas Gerais. **Napgama**, São Paulo, v. 3, n. 3, p.3-6, 2000.

ROBINSON, R. K. **Microbiologia lactológica**. Zragoza: Acribia, 1987.

ZAR, E. H. **Biostatistical Analysis**. New Jersey, Prentice Hall. 1999.

### 4.3 EXPERIMENTO III

#### 4.3.1 PESQUISA DE RESÍDUOS DE ANTIBIÓTICOS EM LEITE BOVINO NOS MUNICÍPIOS DE MIRANDA DO NORTE, ITAPECURÚ- MIRIM E SANTA RITA, MARANHÃO.

##### RESUMO

Objetivou-se com este estudo, avaliar a ocorrência de resíduos de antibióticos através do método Delvotest, em leite bovino em 20 propriedades localizadas nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita, Maranhão. Foram coletadas 20 amostras de leite cru no período de verão (agosto a dezembro/2006) e 20 amostras no período de inverno (janeiro a julho/2007), representadas por pequenos, médios e grandes produtores com ordenha manual e mecânica. Utilizou-se para a pesquisa de inibidores em leite cru, Kit Delvotest - P, que utiliza a metodologia microbiana (cepas bacterianas de *Bacillus stearothermophilus*). As amostras analisadas quanto à presença de resíduos de antibióticos no leite foram negativas, representando 100%. Diante dos resultados obtidos conclui-se que o leite produzido nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, não representam riscos à saúde pública quanto à presença de resíduos de antibióticos, assim como não são responsáveis por perdas econômicas aos produtores e às indústrias de laticínios.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leite, Resíduos de Antibióticos, Delvotest - P.

##### ABSTRACT

The present paper aims at evaluating the occurrence of antibiotic residues through Delvotest method, in cow milk collected in 20 properties located in the towns of Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim and Santa Rita, in Brazilian Maranhão state. During summertime (August through December 2006) and wintertime (January through July 2007), 20 (twenty) samples of raw milk were collected in each season among small, medium and great producers, using both mechanical and manual milking procedures. In order to research inhibitors in raw milk, a Delvotest – P Kit – which uses the microbial methodology (bacterial cepas of *Bacillus stearothermophilus*) – was used. The samples analyzed considering the presence of antibiotic residues were negative, representing 100%. Such results confirm that the milk produced in Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim and Santa Rita towns represents no harm to public health

regarding the presence of antibiotic residues, as well as isn't responsible for economic losses for producers and dairy products industry.

**KEYWORDS:** Milk, antibiotic residues, Delvotest.

## **INTRODUÇÃO**

Os antibióticos são substâncias naturais com atividade antimicrobiana, produzidos por microrganismos (SANTOS e FONSECA, 2007).

São incorporados acidentalmente ou propositalmente e prolongam o tempo de conservação do leite pela inibição ou destruição da flora (FURTADO e VILELA, 1996).

O uso difundido de antibióticos pelos produtores e médicos veterinários no tratamento de doenças infecciosas de vacas leiteiras, principalmente as mastites, e a utilização de drogas na alimentação animal, como suplemento de dietas, têm contribuído para a presença de antimicrobianos no leite bovino (PEZZA et al., 2006).

A presença de resíduos de antibióticos no leite decorre principalmente do abuso destes medicamentos ou da sua utilização de maneira inadequada, como por exemplo, uso de medicamentos não recomendados e com farmacocinética não perfeitamente estabelecida; uso de doses excessivas e não obediência ao período de descarte do leite de animais em tratamento, além de problemas idiossincrásicos de animais que apresentam uma prolongada retenção do medicamento (CARLOS et al., 2004).

A resistência bacteriana a antibióticos é um sério problema na saúde pública, pois pode proporcionar problemas de saúde aos consumidores, como alergias, intoxicações e até mesmo alguns tipos de câncer; ainda pode inviabilizar o processamento lácteo na indústria, para a obtenção de iogurtes, bebida fermentada, queijos e outros produtos (ZAFALON et al., 2002).

Os resíduos de antibiótico são indesejáveis para as indústrias leiteiras, criando uma imagem negativa do produto frente ao consumidor. Além de ser considerado um alimento de elevado valor nutricional, o leite é utilizado por crianças e idosos e sua imagem de alimento seguro e livre de riscos à saúde deve ser mantida (SILKE et al, 2007).

A terapia de vacas secas ou tratamento de antibiótico no final da lactação é usada para eliminar infecções intramamárias e prevenir novas infecções durante o período seco, fazendo parte de um sistema de manejo recomendado no controle de mastite em vários países. No entanto, existem preocupações quanto ao uso indiscriminado de antibióticos, o que causa um aumento da incidência da doença e resistência bacteriana (BERRY e HILLERTON, 2002).

TETZNER et al. (2005) ao avaliarem a prevalência de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru na região do triângulo mineiro/MG, através do Delvotest, encontraram 33,3% de amostras positivas, sendo que todas as amostras de leite tinha CCS acima de 750.000 células/mL. Observou-se que das amostras que apresentaram resíduos de antibióticos, 23,8% foram de ordenhas “balde ao pé” e 9,5% da ordenha circuito fechado.

Considerando tais aspectos e a ausência de trabalhos na literatura regional sobre o tema abordado, realizou-se este estudo a fim de oferecer subsídios para a avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite cru produzido em propriedades leiteiras nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita do Estado do Maranhão.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Para a avaliação da presença de resíduos de antibióticos no leite cru foram escolhidas 20 propriedades leiteiras localizadas nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita no Estado do Maranhão, representadas por pequenos, médios e grandes produtores de leite, com ordenha do tipo manual e mecânica. As amostras foram coletadas de forma não probabilística por conveniência. Foram coletadas 20 amostras no período de verão (junho a dezembro/2006) e 20 amostras no período de inverno (janeiro a julho/2007).

As amostras eram constituídas por um “pool” de cada propriedade num volume de 50 mL de leite em frascos estéreis, dos latões, assepticamente com auxílio de conchas de aço inoxidável desinfetadas com álcool a 70% e posteriormente enxutas com auxílio de toalhas de papel, sendo que os latões foram homogeneizados utilizando agitador manual de cabo longo, com 10 movimentos verticais, segundo recomendação do Manual de Coleta da Clínica do Leite (2006).

Em seguida os frascos foram colocados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e encaminhados ao Laboratório da Clínica do Leite – ESALQ/USP, onde foram submetidas à Pesquisa de inibidores em leite cru, Kit Delvotest - P, que utiliza a metodologia microbiana (cepas bacterianas de *Bacillus stearothermophilus*), segundo a recomendação técnica.

Primeiramente separou-se o número desejado de ampolas com uma tesoura, desinfetada por álcool a 70%; abriram-se as ampolas perfurando o lacre de folha de alumínio com a seringa e marcando-se as ampolas para identificação das amostras; colocou-se uma nova pipeta descartável na seringa; inseriu-se a ponteira da pipeta na amostra de leite e deixou-se que o êmbolo voltar-se lentamente à sua posição inicial sob pressão da mola;

esvaziou-se o conteúdo da seringa na ampola marcada correspondente à amostra pressionando o êmbolo da seringa lentamente para baixo. Para cada amostra de leite utilizava-se uma nova pipeta descartável; colocou-se cada ampola dentro de um dos orifícios apropriados do incubador ( $64^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  / 3 horas); fez-se a leitura de cor da parte inferior correspondente a 2/3 do ágar sólido nas ampolas após o tempo de incubação requerido e verificou-se os resultados pela mudança de cor do ágar.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 20 amostras de leite analisadas no período de verão e 20 amostras no período de inverno quanto à presença de resíduos de antibióticos no leite, todas foram negativas, representando 100% (Tabela 1), estando em acordo a IN N°51/MAPA, que preconiza a ausência de resíduos de antibióticos e de outros agentes inibidores do crescimento bacteriano.

Tabela 1 Presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite cru de propriedades leiteiras dos municípios de Miranda do Norte, Itapecuru-Mirim e Santa Rita no Estado do Maranhão no período de verão e inverno

Amostras de leite	Verão	Inverno	%
Negativo	20	20	100
Positivo	-	-	-
<b>Total</b>	20	20	100

O Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) por intermédio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) publicou a Instrução Normativa N°51 – IN N°51 no Diário Oficial da União, em 18 de setembro de 2002. Esse regulamento normatiza a produção, estabelecendo os critérios e parâmetros de identidade e qualidade do leite, desde a ordenha, o resfriamento na propriedade rural e seu transporte a granel, incluindo requisitos físico-químicos e microbiológicos, contagem de células somáticas (CCS) e limites máximos de resíduos (LMR) de antimicrobianos. Com isto acredita-se em

melhor remuneração do produtor e melhoria da qualidade do leite consumido no Brasil, além da adequação do produto aos padrões internacionais visando ampliar as exportações (BRASIL, 2002).

A presença de resíduos de antibióticos no leite decorre principalmente do abuso do uso desses medicamentos e da sua utilização de maneira inadequada, como por exemplo, uso de drogas não recomendadas e com farmacocinética não perfeitamente estabelecida; uso de doses excessivas e não obediência ao período de descarte do leite de animais em tratamento, além de problemas idiossincrásicos de animais que apresentam uma prolongada retenção da droga (RAIA JÚNIOR et al., 1999).

Apesar da provável ocorrência de resíduos de antibióticos em leite, em alguns estados do Brasil – Minas Gerais (ALMEIDA et al., 2003), Bahia (BARROS et al., 2001), Rio Grande do Sul (BRANCHER e FAGUNDES, 1998) e São Paulo (RAIA JÚNIOR, 2001), este estudo não encontrou positividade de amostras. Portanto os achados foram compatíveis com os obtidos por VIEIRA e ALMEIDA, 2007, onde não se identificou a presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite “in natura” entregues em latões, em propriedades leiteiras de Uberlândia/ MG, entretanto no mesmo trabalho foram encontradas amostras positivas em leite “in natura” granelizado em grandes propriedades, com prevalência de 5,45%.

Os resultados deste estudo diferem de COSTA et al. (1999) em propriedades leiteiras do estado de São Paulo, onde utilizaram os teste de detecção de resíduos de antibióticos (Penzime®, Snap® para b-lactâmicos e CITE Pobre® para gentamicina) em 87 amostras de leite, sendo 6 (6,89%) positivas para a presença de resíduos de antibióticos. NASCIMENTO et al. (2001) em 96 amostras de leite pasteurizado adquiridos em Piracicaba/SP, observam 50% de positividade para resíduos de antibióticos, estando portanto acima dos limites estabelecidos pela IN N° 51/2002 do MAPA. SCHAIK et al. (2002) verificaram que a ocorrência de resíduos de antibióticos variou de 1,0 a 6,3% no leite, sendo ainda maior nas amostras com CCS acima de 750.000 células/mL. Necessitando de um controle da mastite nos rebanhos estudados, através de medidas preventivas.

A ocorrência de resíduos de antibióticos no leite tem sido objeto de preocupação constante por parte das autoridades sanitárias, devido aos efeitos tóxicos destes compostos sobre a saúde humana, além da possibilidade de favorecer o desenvolvimento de microrganismos patogênicos. Por esse motivo, recomenda-se o monitoramento freqüente de resíduos de medicamentos e seus derivados metabólicos no leite, adotando-se, como referência, os limites estabelecidos através das agências internacionais (FONSECA, 2001).

## CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos conclui-se que o leite produzido nos municípios de Miranda do Norte, Itapecurú-Mirim e Santa Rita – MA, não representam riscos à saúde pública quanto à presença de resíduos de antibióticos beta-lactâmicos, assim como não são responsáveis por perdas econômicas aos produtores e às indústrias de laticínios.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, L. P. et al. Resíduos de antibióticos em leite de propriedades da região de Uberlândia – MG. **Biosci. Journal**, v.19, n.3, p.83-87, 2003.

BARROS, G. M. S.; JESUS, N. M.; SILVA, M. H. Pesquisa de resíduos de antibióticos em leite pasteurizado tipo C, comercializado na cidade de Salvador. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.2, n.3, p.69-73, 2001.

BERRY, E. A.; HILLERTON, J. E. The effect of selective dry cow treatment on new intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, v.85, n.1, p.112-121, 2002.

BRANCHER, C.; FAGUNDES, C. M. Adaptação do método da redutase para detectar antibióticos no leite. **Rev. Bras. de Agrociência**, v.2, n. 2, p.80-84, 1998.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 51 de 18 de setembro de 2002. Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do leite Tipo A, do leite Tipo B, do leite Tipo C, do leite Pasteurizado e do leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da coleta de Leite cru Refrigerado e seu transporte a granel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de set. de 2002. Seção 3. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/das/dipoa/in51.htm>>. Acesso em: 25 de set. 2006.

CARLOS, L. A. et al. Avaliação físico-química, microbiológica e de resíduos de penicilina, em leite tipo C comercializado no município de Campos de Goytacazes - RJ. **Rev. Higiene Alimentar**, v.18, n.123, p.57-66, 2004.

COSTA, E. O. et al. Mastite subclínica: prejuízos causados e os custos de prevenção em propriedades leiteiras. **NAPGAMA**, v. 2, n.2, p.16-20, 1999.

FONSECA, L. F. L. Critérios no pagamento por qualidade. **Rev. Balde Branco**, v.37, n.444, p.28-34, 2001.

FURTADO, M. A. M.; VILELA, M. A. P. Fraudes em leite de consumo: limites de detecção. **Rev. Leite e Derivados**, n.29, p.14-18, 1996.

KANG, J. H. et al. False-positive outcome and drug residue in milk samples over withdrawal times. *Journal of Dairy Science*, v.88, n.3, p.980-913, 2005.

SILKE, K. E. U et al. Evaluation of commercial rapid tests for  $\beta$ -Lactam antibiotics in raw milk. Capturado em: <[http://www.euroresidue.nl/ER\\_IV/Contributions%20I-Z/Kroll%20693-697.pdf](http://www.euroresidue.nl/ER_IV/Contributions%20I-Z/Kroll%20693-697.pdf)>. Acesso em: 20 dez., 2007.

NASCIMENTO, G. G. F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M. S. P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba, SP. **Rev. Nutrição**, v.14, n. 2, 2001.

PEZZA, L. et al. Determinação simultânea de resíduos de cloranfenicol, tianfenicol e florfenicol em leite bovino por cromatografia eletrocínica micelar. **Química Nova**, v.29, n.5, p.926-931, 2006.

RAIA, R. B. et al. Estudo da persistência de eliminação de resíduos de antibióticos no leite após tratamento sistêmico e intramamário de mastite. **Rev NAPGAMA**, v. 2, n.1, p.4-8, 1999.

RAIA JUNIOR, R. B. Influência da mastite na ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite. 2001. 78f. Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, 2001.

SCHAIK, G.; LOTEM, M.; SHUKKEN, Y. H. Trends in Somatic Cell Counts, Bacterial Counts, and antibiotic residue violations in New York State during 1999-2000. **J. Dairy Sci.**, v.85, n.4, p.782-789, 2002.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite. Pirassununga: Manole, 314p., 2007.

TETZNER, T. A. D. et al. Prevalência de resíduos de antibióticos em amostras de leite cru na região do triângulo mineiro, MG. **Rev. Higiene Alimentar**, v.19, n.130, p.69-72, 2005.

VIEIRA, R. L.; ALMEIDA, L. P. Epidemiologia do uso de antibióticos entre produtores de leite da região de Uberlândia – Triângulo Mineiro – MG - Brasil. Disponível em: <[http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2004/biosaude/epidemiologia\\_do\\_uso.pdf](http://www.propp.ufu.br/revistaeletronica/edicao2004/biosaude/epidemiologia_do_uso.pdf)>. Acesso em: 20 jun. 2007.

ZAFALON, L. F. Influência do tratamento da mastite subclínica bovina sobre a CCS do leite. **Boletim da Indústria Animal**, v.59, n.1, p.53-59, 2002.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante dos resultados obtidos, permite concluir que:

1 – É necessário um maior investimento financeiro, educação e treinamento continuado dos produtores e ordenhadores, com vista à adequação às exigências da IN N°51 do MAPA no Estado do Maranhão;

2 – A qualidade da água utilizada no processo de ordenha é insatisfatória e preocupante, sendo importante a introdução de um programa de melhoria da qualidade da água para melhor eficiência dos processos de higienização e redução da contaminação do leite.

3. O leite não apresenta riscos em relação à saúde pública, no tocante aos resíduos de antibióticos beta-lactâmicos.

**6 APÊNDICE**

## QUESTIONÁRIO

### RELATIVO AO PROPRIETÁRIO:

Nome do proprietário: \_\_\_\_\_

### RELATIVO À PRODUÇÃO DE LEITE:

Volume de leite: \_\_\_\_\_ litros

Tipo de ordenha: ( ) mecânica ( ) manual

Horário da coleta: \_\_: \_\_ horas

Dia da coleta: \_\_/\_\_/\_\_

### RELATIVO À QUALIDADE DA ÁGUA E FONTE DE ABASTECIMENTO:

1. Qual a origem da água utilizada para lavagem dos equipamentos de ordenha?

( ) Rede de distribuição ( ) Poço artesiano ( ) Mina ( ) Riacho

( ) Cisterna ( ) Outros \_\_\_\_\_

2. Ela sofre algum tipo de tratamento?

( ) Sim ( ) Não

Qual? \_\_\_\_\_

3. Já foi observado:

( ) Turvação ( ) Nunca observei

( ) Presença de limo vermelho ( ) Partículas suspensas

( ) Algas

4- A fonte está situada a menos de 30 metros de distância de fossas sépticas, lagoas, esterqueiras, currais?

( ) sim ( ) não

5- A fonte está situada na parte mais elevada do terreno?

( ) Sim ( ) Não

6- Qual o estado da conservação da fonte?

( ) Ótimo ( ) Bom ( ) Ruim ( ) Péssimo

7- Já efetuou limpeza da caixa d'água?

( ) Não ( ) Sim

Quantas vezes por ano?

( ) Uma ( ) Duas ( ) Três ( ) + de 3

8- Qual a frequência de problemas gastrointestinais (diarréia, vômito, etc) nos moradores?

( ) Nunca houve nenhum problema ( ) De vez em quando ( ) Não sei

( ) Sempre

9- Qual sua opinião sobre a água da propriedade?

Ótima  Boa  Regular  Ruim  Péssima

10- Já realizou alguma análise desta água?

Nunca  Sim

Se sim, quantas vezes?

Uma  Duas  + de duas  Não sabe informar \_\_\_\_\_

11- Sobre os resultados obtidos, marque o resultado observado sobre a qualidade:

Ótima  Boa  Regular  Ruim  Péssima

#### RELATIVO AO MANEJO DE ORDENHA

1. Realiza pré e pós - dipping

Sim  Não

Se sim, o que utiliza? \_\_\_\_\_

2. Utiliza pano na secagem das tetas

Sim  Não

3. Realiza limpeza e desinfecção das instalações

Sim  Não

Se sim, o que utiliza? \_\_\_\_\_

4. Utiliza a caneca telada e CMT para diagnóstico de mastite antes da ordenha?

Sim  Não

Se sim, qual a frequência? \_\_\_\_\_

5. Sabe o significado de CCS

Sim  Não

6. Utiliza a antibioticoterapia no tratamento de mastite?

Sim  Não

Se sim, o que utiliza? \_\_\_\_\_

7. Realiza a antibioticoterapia em vacas secas?

Sim  Não

Se sim, o que utiliza? \_\_\_\_\_

Responsável pelo preenchimento do questionário: \_\_\_\_\_