



Universidade Federal do Espírito Santo
Centro de Ciências Agrárias
Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

FRANCISCA CARVALHO DO NASCIMENTO NETA

**PARÂMETROS DE QUALIDADE EM LEITE CRU REFRIGERADO EM
PROPRIEDADES DE BASE FAMILIAR NA REGIÃO SUL DO ESPÍRITO
SANTO**

ALEGRE – ES
JUNHO – 2013

FRANCISCA CARVALHO DO NASCIMENTO NETA

**PARÂMETROS DE QUALIDADE EM LEITE CRU REFRIGERADO EM
PROPRIEDADES DE BASE FAMILIAR NA REGIÃO SUL DO ESPÍRITO
SANTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Mateus da Silva Junqueira
Co-orientador: Prof. Dr. Joel Camilo Souza Carneiro

**ALEGRE – ES
JUNHO – 2013**

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Setorial de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

N244p Nascimento Neta, Francisca Carvalho do, 1963-
Parâmetros de qualidade em leite cru refrigerado em propriedades de base familiar na região sul do Espírito Santo / Francisca Carvalho do Nascimento Neta. – 2013.
82 f. : il.

Orientador: Mateus da Silva Junqueira.

Coorientador: Joel Camilo Souza Carneiro.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias.

1. Leite – Qualidade – Espírito Santo (Estado). 2. Leite – Microbiologia. 3. Coliformes fecais. 4. Segurança alimentar. 5. Psicotróficos. I. Junqueira, Mateus da Silva. II. Carneiro, Joel Camilo Souza. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. IV. Título.

CDU: 664

**PARÂMETROS DE QUALIDADE EM LEITE CRU REFRIGERADO OBTIDO EM
PROPRIEDADES DE BASE FAMILIAR NA REGIÃO SUL DO ESPÍRITO SANTO**

FRANCISCA CARVALHO DO NASCIMENTO NETA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Aprovada em 26 de junho de 2013.

Prof. Dr. Joel Camilo Souza Carneiro
Centro de Ciências Agrárias – UFES
(Co-orientador)

Prof.^a Dra. Maria da Penha Piccolo Ramos
Centro Universitário Norte do Espírito
Santo – UFES

Prof. Dr. Mateus da Silva Junqueira
Centro de Ciências Agrárias – UFES
(Orientador)

Dedico este trabalho primeiramente a DEUS, aos meus amados filhos Christian, Thiago e Geovanna e a meus pais.

AGRADECIMENTOS

A Deus luz que me conduz, sede de todo conhecimento, minha força.

Ao meu avô Coutinho (*in memorian*) pelo exemplo de amor e dedicação à profissão.

Aos meus pais, por terem permitido que eu estivesse aqui hoje escrevendo este trabalho de pesquisa.

Obrigada, Mãe, por sempre estar ao meu lado e me incentivar em todas as minhas decisões, pelo amor incondicional.

Aos grandes amores da minha vida, meus filhos, por eternizar o meu existir.

À Conceição e ao Evaristo e meus irmãos, que estão sempre ao meu lado me incentivando e apoiando, torcendo pelas minhas conquistas.

Ao INCAPER-ES, pela concessão de compensação de horário especial para estudante e por ser parceira neste trabalho de pesquisa.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, por tornar possível a realização do curso de mestrado.

Ao Fabrício, por estar sempre ao meu lado, obrigada pelo incentivo, por toda ajuda.

Ao Grande Homem, Mestre e Amigo Izaías dos Santos Bregonci, pela sua dedicação e ensinamentos que tornaram a jornada menos árdua e apoio incondicional para o resultado alcançado por este trabalho.

Ao meu colega de trabalho Roberto Pereira Pinto, pela disponibilidade em ajudar em todos os momentos que se fez necessário.

Ao José Gilberto Vial, referência em pecuária no Estado, pela sua orientação e colaboração.

À Prof.^a Dra. Maria da Penha Piccolo Ramos, pela grande amizade e carinho sincero e, principalmente, pelos ensinamentos que me acompanharam desde o início da trajetória, com quem eu tive o privilégio de conviver e desenvolver trabalhos científicos e aprender sobre microbiologia do leite, o meu eterno agradecimento.

Ao Prof. Dr. Luciano José Quintão Teixeira, por ser um grande mestre, pela sua dedicação e disponibilidade para transmitir conhecimento contribuindo muito para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luís César da Silva, pelo apoio inicial ao projeto, e ajuda contínua no desenvolvimento deste trabalho e pela oportunidade.

À Prof.^a Dra. Maria Isabel Shuet, pelo acolhimento carinhoso, pelas informações cedidas, ao suporte técnico prestado, pela colaboração e ajuda.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Mateus da Silva Junqueira, pela paciência e atenção, pelos ensinamentos, orientação, merecedor da minha grande admiração.

Ao meu co-orientador e grande mestre, Prof. Dr. Joel Camilo Souza Carneiro, pelos ensinamentos que foram preciosos para a realização deste trabalho, pela disponibilidade, sugestões sábias e pela preciosa colaboração.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Campus de Alegre-ES (IFES) que abriu as suas portas e contribuiu na execução da fase de análises disponibilizando o laboratório e todo conhecimento técnico em favor desta dissertação de mestrado.

À equipe do Laboratório de Microbiologia do IFES - Campus de Alegre-ES, especialmente na pessoa da Alessandra, pela disponibilidade, acompanhamento e auxílio técnico para o enriquecimento deste trabalho.

Aos estagiários, Denes e Camila, a colaboração de vocês foi imprescindível para a realização das análises laboratoriais.

Aos produtores, por terem aberto as porteiras de suas propriedades possibilitando a realização dos experimentos e pela confiança depositada.

Enfim, a todos que contribuíram, e foram muito importantes nesta conquista.

Muito Obrigada!

"Comece fazendo o que é necessário,
depois o que é possível, e
de repente você estará fazendo o impossível."

São Francisco de Assis

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Recepção mensal de leite, em 2012, por cooperativa e empresa atuantes no município de Alegre-ES.....	6
Tabela 2 -	Composição média do leite de vaca.....	9
Tabela 3 -	Atendimento à Instrução Normativa nº 62 de 29/12/2011, das respostas dos questionários aplicados aos agentes responsáveis pela recepção e estocagem de leite nos quatro tanques em Alegre-ES.....	32
Tabela 4 -	Análise de variância das características físico-químicas pH, Acidez, Densidade, Teor de Gordura e Extrato Seco Total encontrados em amostras de leite cru de quatro tanques de refrigeração.....	40
Tabela 5 -	Valores médios das características físico-químicas avaliadas: pH, Acidez, Densidade, Teor de Gordura e Extrato Seco e valor limite estipulado pela IN 62. Alegre-ES, 2012.....	41
Tabela 6 -	Valores médios da Contagem Bacteriana Total (CBT) expressos em UFC.mL ⁻¹ de amostras de leite cru de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012.....	43
Tabela 7 -	Valores médios da contagem de bactérias psicrófilas expressas em UFC.mL ⁻¹ de amostras de leite cru de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012.....	45
Tabela 8 -	Contagem média de <i>Staphylococcus</i> spp. em leite cru refrigerado de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012.....	47
Tabela 9 -	Contagem média de Coliformes Totais em leite cru refrigerado de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012.....	48
Tabela 10 -	Contagem média de <i>Escherichia coli</i> em leite cru refrigerado de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012.....	49

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Nível de escolaridade dos produtores rurais. Alegre, 2012.....	23
Figura 2 -	Estratificação dos produtores por classe de produção. Alegre, 2012.....	24
Figura 3 -	Vacinação realizada no gado leiteiro pertencente aos produtores rurais. Alegre, 2012.....	25
Figura 4 -	Tempo após a ordenha até a entrega no resfriador. Alegre, 2012..	26
Figura 5 -	Origem da água utilizada nas propriedades rurais. Alegre, 2012....	28
Figura 6 -	Materiais utilizados na limpeza de equipamentos e utensílios. Alegre, 2012.....	29
Figura 7 -	Dificuldades encontradas para adoção da IN 62. Alegre, 2012.....	30
Figura 8 -	Percentagem de requisitos, por ponto de coleta de leite cru refrigerado, que estão em conformidade com a IN 62.....	39

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Questionário usado para verificação da realidade socioeconômica, produtiva e higiênico-sanitária das propriedades rurais.....	63
APÊNDICE B - Questionário usado para verificação da realidade das condições relacionadas à estrutura física e higiênico-sanitária dos pontos de coleta de leite.....	66

SUMÁRIO

RESUMO	xii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	04
2.1. HISTÓRICO DO LEITE E ASPECTOS PRODUTIVOS.....	04
2.2. PECUÁRIA LEITEIRA NO ESPÍRITO SANTO.....	04
2.3. A CADEIA PRODUTIVA LEITEIRA REGIONAL.....	05
2.4. OBTENÇÃO HIGIÊNICA DO LEITE.....	07
2.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO LEITE.....	09
2.5.1. Generalidades	09
2.5.2. Composição e estrutura	09
2.6. MICROBIOLOGIA DO LEITE.....	10
2.6.1. Microrganismos de importância sanitária presentes no leite	12
2.6.2. Principais enfermidades dos bovinos leiteiros	14
2.6.3. Resíduos de antibióticos em leite	16
2.7. QUALIDADE DO LEITE.....	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
4. RESULTADO E DISCUSSÃO	23
4.1. DIAGNÓSTICO DA PRODUÇÃO DE LEITE CRU REFRIGERADO NO MUNICÍPIO DE ALEGRE.....	23
4.2. DIAGNÓSTICO DA COLETA DE LEITE CRU REFRIGERADO TRANSPORTADO A GRANEL NO MUNICÍPIO DE ALEGRE.....	31
4.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE LEITE CRU REFRIGERADO NOS TANQUES PERTENCENTES A QUATRO COMUNIDADES RURAIS.....	40
4.4. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE LEITE CRU REFRIGERADO NOS TANQUES PERTENCENTES A QUATRO COMUNIDADES RURAIS.....	42
5. CONCLUSÃO	51
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53
APÊNDICES	63

RESUMO

NETA, Francisca Carvalho do Nascimento, Universidade Federal do Espírito Santo, Junho, 2013. **Parâmetros de qualidade em leite cru refrigerado obtido em propriedades de base familiar na região sul do Espírito Santo.** Orientador: Prof. Dr. Mateus da Silva Junqueira. Co-Orientador: Prof. Dr. Joel Camilo Souza Carneiro.

A produção de leite exerce importância socioeconômica para produtores familiares do Estado do Espírito Santo e do município de Alegre-ES. O objetivo deste trabalho foi avaliar as condições de produção e a qualidade higiênico-sanitária do leite cru obtido de tanques de refrigeração localizado em comunidades rurais no município de Alegre-ES e investigar a presença de resíduos de antibiótico no leite. Aplicou-se um questionário previamente estruturado com base nas exigências da legislação do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2008) em 34 propriedades rurais entre fevereiro de 2012 a junho de 2012. Foram feitas coletas de dados sobre a limpeza e a estrutura física do estábulo, a origem e a existência de tratamento da água, tipo de ordenha, conduta e higiene dos manipuladores, controle de saúde dos manipuladores, procedimentos de higienização e sanitização dos tetos, tipo de material utilizado para secagem dos tetos e a realização do controle sanitário com relação à mastite, além do tratamento dado, e transporte do leite. Em resposta ao questionário aplicado aos produtores, observou-se que o baixo nível de escolaridade prepondera entre os produtores. A localização dos currais era boa: eram arejados, secos e limpos, todos os currais são cobertos e a minoria possuía piso cimentado e sala de ordenha. A quase totalidade das propriedades produzia menos de 100 litros.dia⁻¹ e usavam ordenha manual. Todos faziam controle de endoparasitos, ectoparasitos e vacinavam contra a febre aftosa, 94,1% contra a raiva e 91,2% contra brucelose. Metade fazia a higienização dos tetos e úbere antes da ordenha, poucos realizavam o *pré-dipping* e o *pós-dipping*. Todos faziam tratamento para mastite, mas apenas 1/5 faziam o teste da caneca para mastite. E não faziam nenhum tipo de tratamento da água usada nos currais. Todo o leite produzido é transportado através de caminhão isotérmico e a grande maioria dele tem as cooperativas como destino. Todos os equipamentos usados na ordenha eram higienizados, mas a minoria utilizava produtos sanitizantes. Já poucos ordenhadores adotavam o hábito de banhar-se antes de realizar a ordenha. Poucos tiveram treinamento ou palestras sobre as normas instituídas pela IN 62. No Diagnóstico da coleta de leite cru refrigerado junto aos trabalhadores e nos pontos de coleta, observou-se que nenhuma instalação tinha proteção contra entrada de insetos e roedores e contaminantes ambientais; não possuíam tanque para lavagem de latões e de utensílios de coleta; eram mal dimensionadas e não permitiam a aplicação de medidas sanitárias adequadas; as condições higiênicas eram extremamente deficitárias e prejudicavam a manutenção da qualidade do leite; não possuíam um procedimento adequado de higienização de equipamentos. Os trabalhadores dos tanques de expansão não se banhavam antes de iniciar as atividades e nem usavam roupas específicas; não realizavam exames de saúde pessoal com periodicidade; e não adotavam nenhum sistema de tratamento da água usada nos tanques. Avaliou-se também a qualidade higiênico-sanitária e físico-química de amostras

de leite cru pertencentes a quatro tanques de refrigeração denominados T1, T2, T3 e T4. Os resultados encontrados nas análises físico-químicas apresentaram-se em sua maioria em conformidade com as normas estabelecidas pela IN 62, com exceção do valor do pH que apresentou alteração, o que pode ser indicativo de adição de álcalis ou possível presença de mastite no rebanho. Os valores médios encontrados nas análises microbiológicas foram: Contagem Bacteriana Total CBT $1,4 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, bactérias psicotróficas $6,1 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, coliformes totais $8,5 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹, *Staphylococcus* spp. $2,9 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, e *Escherichia coli* $4,4 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹. Os resultados das análises do leite apresentaram-se fora dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação. Os valores encontrados para alguns tanques nas análises de CBT $6,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹, encontraram-se fora dos padrões estabelecidos pela IN 62, em 50% das amostras analisadas. Não havia resíduo de antibiótico no leite analisado. Existe a necessidade de adequações e melhorias nas características de produção de leite e nos tanques de refrigeração, bem como a implementação das Boas Práticas Pecuárias de Produção nas propriedades rurais de forma a garantir a segurança dos alimentos e a sustentabilidade da atividade leiteira da região.

Palavras-chave: leite cru, psicotróficos, coliformes, qualidade, segurança dos alimentos.

ABSTRACT

NETA, Francisca Carvalho Nascimento, Federal University of Espírito Santo, June, 2013. **Quality parameters in refrigerated raw milk obtained in family-based properties in the south of Espírito Santo.** Advisor: Mateus da Silva Junqueira. Co-Advisor: Joel Souza Carneiro Camilo.

Milk production has socioeconomic importance for family farmers in the State of Espírito Santo and the municipality of Alegre-ES. The aim of this study was to evaluate the conditions of production and hygienic-sanitary quality of raw milk obtained from cooling tanks located in rural communities in the municipality of Alegre-ES and to investigate the presence of antibiotic residues in milk. It was applied to a previously structured questionnaire based on the requirements of the legislation of the Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRAZIL, 2008) on 34 farms from February 2012 to June 2012. It was obtained data about the cleanliness and physical structure of barns, the origin and existence of water treatment, type of milking, conduct and hygiene of food handlers, health control of manipulators, cleaning and sanitizing procedures at cleaning of teats, type of material used for drying off teats and the realization of sanitary control in relation to mastitis, and the treatment and transport of milk. In response to the questionnaire, it was observed that low level of education prevails among producers. The location of the barn was good: they were airy, dry and clean; all barns are covered and minority owned cemented floor and milking parlor. Almost all of the properties produce less than 100 liters per day and practice manual milking. Every owners control for endoparasites and ectoparasites, and have vaccinate of cattle against foot and mouth disease (FMD), 94.1% against rabies and 91.2% against brucellosis. At half of the properties, teats are cleaned before milking; few performed the pre-dipping and post-dipping. At all properties have treatment for mastitis, but only, one fifth used strip cup for mastitis test. And there was no treatment of the water used in the barns. All milk produced is transported by milk tanker trailers and most of it has the cooperatives as a destination. All equipment used for milking is sanitized, but the minority used sanitizer. Few handlers had adopted the habit of bathing before performing milking. Few of them have had training or lectures about standards established by IN 62. In the evaluation of refrigerated raw milk with the workers, and reception facilities, it was observed that none had protection against entries of insects and rodents, and environmental contaminants; none had milk cans and utensil washer; facilities were poorly designed and not allow the appropriate application of sanitary practices; hygienic conditions are extremely poor and undermine the maintenance of milk quality; none has a proper procedure for cleaning equipment. Workers of collector points do not take baths before starting the activities or wear specific clothes; they do not perform regular health check up, and do not adopt any system for water treatment used in storage tanks. Also, It was evaluated the sanitary, physical chemical qualities of raw milk samples from four storage tanks called T1, T2, T3 and T4. The results in physical and chemical analyzes were presented mostly in accordance with the standards set by IN 62, except that the pH value showed a change, which may be indicative of the addition of alkali or possible presence of mastitis in the herd. The mean values detected in the microbiological analysis were: Total Bacterial Count CBT 1.4×10^6 CFU.mL⁻¹,

psychotropic 6.1×10^5 CFU.mL⁻¹, total Coliforms 8.5×10^4 CFU.mL⁻¹, *Staphylococcus* spp. CFU.mL⁻¹ 2.9×10^5 and *Escherichia coli* CFU.mL⁻¹ 4.4×10^4 . The results about analyzes of milk showed up outside the microbiological standards required by law. The values detected for some tanks in analyzes, CBT 6.0×10^5 CFU.mL⁻¹, is outside the standards of IN 62 in 50% of samples. There was no antibiotic residue in milk analyzed. There is a need for adjustments and improvements in production traits and milk cooling tanks, as well the implementation of the Good Practice Livestock Production on farms to ensure food safety and sustainability of dairy farming at region.

Keywords: raw milk, psychotropic, Coliforms, quality and safety of food.

1. INTRODUÇÃO

A pecuária de leite é uma atividade de grande expressão socioeconômica para o Brasil e para o Espírito Santo, pois representa um dos principais setores do agronegócio na geração de renda e arrecadação tributária. No ano de 2010, a produção nacional foi de aproximadamente 30,7 bilhões de litros de leite (IBGE, 2010). Nesse mesmo ano, o Estado produziu em torno de 400 milhões, o que representa 1,3% do volume total produzido no país. O Estado mobiliza aproximadamente 16 mil produtores e gera mais de 30 mil postos de trabalhos diretos para atingir essa produção. Ressalta-se que 80% da produção estadual é fornecida por pequenas propriedades, com produção média diária inferior a 100 litros (ESPÍRITO SANTO, 2007; INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL, 2011).

Haja vista a importância econômica do agronegócio leiteiro e os problemas relacionados à qualidade do leite no país, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011) aprovou a Instrução Normativa nº 62 de 29 de dezembro de 2011, entrando em vigor a partir de janeiro de 2012 para as regiões Sul e Sudeste do país. Ela preconiza escalonar os prazos de vigências para os parâmetros físico-químicos, microbiológicos, contagem de células somáticas, e resíduos químicos para o leite cru refrigerado. Ela exige a refrigeração do leite logo após a ordenha e na própria propriedade, bem como o seu transporte a granel até aos laticínios. Também exigiu o controle de brucelose e tuberculose, respeitando normas e procedimentos estabelecidos no Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (BRASIL, 2011). Mesmo com adoção dessas medidas, o leite ordenhado em condições inadequadas de higiene pode apresentar contaminação por mesófilos aeróbios e por grande número de bactérias psicrotróficas. Esses microrganismos têm como característica comum a capacidade de se multiplicarem na faixa de temperatura compreendida entre 0 °C e 15 °C. Segundo Moura et al. (1999), Santana (2001) e Serra (2004), em algumas regiões do Brasil, o leite cru apresenta, de uma maneira geral, valores não conformes de microrganismos

aeróbios mesófilos, psicotróficos e coliformes.

A qualidade microbiológica do leite cru exerce impacto significativo na qualidade final do produto, pois a quantidade e a diversidade de microrganismos presentes influenciam diretamente a qualidade e a vida de prateleira dos produtos lácteos (MUIR, 1996; PINTO et al., 2003). Portanto, se não obtido corretamente, o leite torna-se veículo carreador de doenças para animais e para humanos, expondo dessa forma riscos à saúde do consumidor.

Após a secreção, o leite pode ser contaminado principalmente por microrganismos presentes no interior da glândula mamária, mas pode também ser contaminado ainda: pela superfície exterior do úbere e tetos, superfície dos equipamentos, utensílios de ordenha e tanques de refrigeração (SANTOS, FONSECA, 2001).

Os principais fatores que afetam e contribuem diretamente para alteração da microbiota presente no leite cru são: a saúde da glândula mamária, a sanidade do rebanho, a higiene no processo de ordenha, o ambiente em que os animais ficam alojados, a qualidade microbiológica da água, os procedimentos de higiene pessoal e limpeza de equipamentos empregados (PINTO; MARTINS, VANETTI, 2006; ARCURI et al., 2008).

São igualmente importantes a temperatura e o período de tempo de armazenagem sob refrigeração. Esses dois fatores estão diretamente ligados à multiplicação dos microrganismos presentes no leite, especialmente pelas bactérias mesófilas aeróbias e por bactérias psicotróficas (GUIMARÃES, 2002).

A contaminação do leite por mesófilos e psicotróficos não depende somente do sistema de produção ou tipo de ordenha utilizado nas propriedades rurais. Assim, é preciso a implementação e a adoção das boas práticas em todo o processo de produção leiteira.

Outro parâmetro da qualidade do leite cru a destacar é a ausência de resíduos químicos no leite. Nero et al. (2007) afirmaram que é verificada com frequência, tanto no Brasil quanto em outros países, a presença de resíduos químicos no leite. Uma das principais fontes desses resíduos são os antibióticos. A presença deles no leite advém do manejo inadequado de drogas no controle de infecções das glândulas mamárias (mastite). Essas substâncias

são eliminadas do organismo por meio do leite durante alguns dias após aplicação. É necessária a retirada desse leite separadamente do restante da produção, bem como o seu posterior descarte.

A melhoria da qualidade do leite é um grande desafio ao setor, pois uma matéria-prima de boa qualidade contribui para um maior rendimento dos produtos lácteos, agregando valor para a indústria e para o produtor. O objetivo deste trabalho foi avaliar as condições de produção e a qualidade higiênico-sanitária do leite cru obtido de tanques de refrigeração localizado em comunidades rurais no município de Alegre-ES e investigar a presença de resíduos de antibiótico no leite.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. HISTÓRICO DO LEITE E ASPECTOS PRODUTIVOS

O leite é fonte alimentar desde a era pré-histórica, iniciando o consumo humano há cerca de 11.000 anos no Oriente Médio.

No Brasil, a introdução de bovinos ocorreu em 1534 por Martin Afonso de Souza, e em 1550 por Tomé de Souza. Duarte da Costa trouxe algumas cabeças de gado para Pernambuco e Garcia D'Ávila para Bahia de onde se espalharam para o Nordeste e daí para o centro do país (ABREU, 2005).

A atividade leiteira destaca-se como um dos sistemas produtivos com maiores perspectivas de crescimento no Brasil, se associada à utilização de tecnologias. E, reveste-se de grande importância econômica e social para o país (GUIMARÃES; LANGONI, 2009).

Em 2010, a produção mundial de leite atingiu 710 milhões de toneladas, um incremento de 2,8% na produção média obtida nos três anos anteriores. Em 2011, a produção foi de 723,8 milhões de toneladas, 1,9% maior que a produção de 2010. Já em 2012, ela foi de 760 milhões de toneladas, correspondendo a um crescimento de 3% (FAO, 2011).

Em relação ao aspecto social, a atividade emprega em torno de 12 a 14% da população mundial, ou seja, 750 a 900 milhões de pessoas ou famílias vivem em fazendas leiteiras (HEMME; OTTE, 2010).

A produção de leite bovino no Brasil chegou a 32 bilhões de litros em 2011, registrando aumento de 4,5% em relação a 2010 (IBGE, 2011).

O Brasil possui o segundo maior rebanho leiteiro mundial (21,2 milhões animais), ficando atrás apenas da Índia (38.5 milhões animais), mas apresenta índices de produtividade bastante desfavoráveis, pois, quando comparado aos índices de produtividade da França, uma vaca no Brasil produz o equivalente a 20% do que produz uma vaca na França (ALVES et al., 2010).

2.2. PECUÁRIA LEITEIRA NO ESPÍRITO SANTO

A pecuária de leite no estado, em termo social, geração de emprego e renda segue cenário semelhante ao nacional. Essa atividade é desenvolvida

em 17.829 estabelecimentos rurais capixabas (IBGE, 2007), respondendo por 30.000 empregos diretos e 25.000 indiretos, o que representa cerca de 8% da demanda de mão-de-obra no meio rural. Em 2007, 80% dos produtores se enquadravam como Agricultores de Base Familiar¹, com estrato produtivo de 100 litros de leite por dia (INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL, 2011).

O Espírito Santo possui 1.800.000 hectares de pastagens (IBGE, 2006), correspondendo à maior área de cobertura do solo capixaba. Boa parte das áreas com pastagens apresentam-se degradada². Acrescenta-se ainda que elas são formadas por gramíneas de baixo valor nutritivo: esse binômio se traduz em baixas produtividades; evidenciado pela baixa capacidade de suporte animal por hectare/ano, e na baixa produtividade de 947 kg de leite por hectare/ano. (INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL, 2011).

A produção leiteira tem maior concentração na Mesorregião Sul Espírito-Santense com 35,9%, seguida da Mesorregião Noroeste Espírito-Santense, com 22,4%, Central Espírito-Santense com 22,3% e Litoral Norte Espírito-Santense com 19,4% (ESPÍRITO SANTO, 2007).

Dados de produção do IBGE, relativos ao ano de 2011, demonstraram crescimento na ordem de 1,4% com relação ao ano anterior, atingindo 441,2 milhões de litros de leite.

2.3. A CADEIA PRODUTIVA LEITEIRA REGIONAL

A cidade de Alegre-ES possui a atividade leiteira como sustentabilidade econômica e social da maioria da população rural ativa, com 1.368 propriedades cadastradas junto ao Instituto de Defesa Agropecuária e Florestal do Espírito Santo, com uma população bovina de 65.242 animais. Com 17.786 vacas em produção de acordo com dados do Levantamento do Volume de

¹Agricultores Familiares são aqueles agricultores inseridos no Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar, segundo a Lei nº 11.326, de 24 de julho de 2006.

²Pastagem degradada, segundo Macedo (1993) e Macedo e Zimmer (1993) é um processo evolutivo da perda de vigor, de produtividade, de capacidade de recuperação natural das pastagens para sustentar os níveis de produção e qualidade exigida pelos animais, assim como, o de superar os efeitos nocivos de pragas, doenças e invasoras, culminando com a degradação avançada dos recursos naturais, em razão de manejos inadequados.

Bovinos totais cadastrados em Alegre de 01/01/2012 à 01/01/2013 (INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA E FLORESTAL DO ESPÍRITO SANTO, 2013). Segundo a Coordenação de Desenvolvimento Rural e Eventos Agropecuários, em documento de 28/01/2013, a captação de leite pelas empresas e cooperativas atuantes no município de Alegre-ES em 2012 são as seguintes (Tabela 1):

Tabela 1. Recepção mensal de leite, em 2012, por cooperativa e empresa atuantes no município de Alegre-ES

Instituição	Especificação	Recepção de leite (L)
Leite Brasil - LBR	Empresa	265.060
Laticínio Porto Alegre	Empresa	3.719.036
Colagua	Cooperativa	341.083
Colamisul	Cooperativa	216.435
Selita	Cooperativa	8.399.107
Total	-	12.940.721

Fonte: Adaptado de INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA E FLORESTAL DO ESPÍRITO SANTO, 2013.

No município de Alegre, as regiões de Araraí, Santa Angélica e Anutíba apresentam as maiores concentrações da atividade leiteira. No município, a produtividade anual por vaca leiteira está em torno de 2.367 litros/ano e é desenvolvida em sua grande maioria por Agricultores de Base Familiar (INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL, 2011). A produção de leite em Alegre no ano de 2010 foi da ordem de 16,2 milhões de litros (IBGE, 2010).

Três cooperativas e duas empresas atuam no município e administram a logística da recepção do leite baseado no conhecimento do fluxo de mercado e comercialização. A região do Caparaó, do qual Alegre faz parte, está distante dos grandes centros consumidores, possuindo como alternativa de comercialização os pequenos nichos de mercado, representados pelas cidades pequenas. Como o consumo nesse nicho de mercado é baixo, as sobras da produção são comercializadas principalmente para os estados da Bahia, Minas Gerais e Rio de Janeiro. O mecanismo de logística das empresas e das cooperativas de leite é alicerçado em centrais de distribuição e de

atravessadores, os quais fazem um importante papel na sustentabilidade da cadeia produtiva. (BOLETIM SELITA, nº 749/12/2012).

2.4. OBTENÇÃO HIGIÊNICA DO LEITE

O leite é o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, obtido em condições de higiene e de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. O leite de outras espécies animais deve denominar-se segundo a espécie da qual A qualidade do leite cru está relacionada ao número inicial de bactérias no úbere do animal e no ambiente externo no momento da ordenha. Em atendimento às exigências higiênico-sanitárias, alguns procedimentos necessitam ser observados para a obtenção de leite com qualidade, a saber: o local de ordenha arejado, sem ventos fortes, seco, em nível elevado, com acomodações adequadas ao serviço; as salas de ordenha devem dispor de piso cimentado, água potável para a higiene dos animais e dos ordenhadores, isoladas de currais, pocilgas e aviários, e serem de uso exclusivo da ordenha (ABREU, 2005; FAO, 2013); e os animais devem estar saudáveis, imunizados contra brucelose e febre aftosa. Além disso, os pelos da cauda e das proximidades do úbere devem ser aparados, por constituírem os maiores disseminadores de microrganismos; as vacas devem ser banhadas diariamente e no momento da ordenha os úberes precisam ser higienizados, realizar o *pré-dipping*, que é um procedimento de desinfecção dos tetos antes da ordenha; as vacas portadoras de mastite devem ser ordenhadas por último, e seu leite descartado; o colostro é secretado no período de 8 a 10 dias após o parto, não devendo durante esse período ser misturado ao leite normal, por ser um leite de fácil deterioração; o ordenhador deve ter boa saúde, portar roupas e mãos limpas com unhas aparadas e cabelos curtos, evitar fumar ou cuspir no chão, durante a ordenha. Esse profissional deve ser exclusivo para ordenha, tendo treinamento e conhecimento sobre a importância da qualidade do leite na saúde humana; os utensílios devem ser higienizados e sanitizados; a lavagem e a desinfecção de equipamentos de ordenha devem seguir as instruções do fabricante; na ordenha manual, os utensílios deverão ser lavados com água corrente e detergente, colocados virados para baixo em local limpo para

secarem naturalmente. Os procedimentos realizados na ordenha podem contribuir para contaminações do leite, por essa razão o ordenhador deve adotar medidas profiláticas, pois a maior parte desta contaminação é de origem externa.

É necessário também analisar alguns parâmetros importantes da ordenha: os primeiros três ou quatro jatos de leite devem ser descartados, pois, ao deitar-se o animal encosta os tetos no solo, possibilitando a entrada de microrganismos. É essencial fazer higienização e assepsia dos tetos dos animais e realizar o teste da caneca de fundo preto para diagnóstico da mastite clínica. Verificar se há alguma alteração no leite, como grumos ou pus e se há presença de sangue ou coloração alterada. O diagnóstico de mastite subclínica é realizado principalmente com o teste Califórnia Mastite Teste (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS). O teste de CMT ou CCS deve ser realizado pelo menos duas vezes por mês. Após a ordenha deve ser realizado o *pós-dipping*, que corresponde ao procedimento de desinfecção dos tetos após a ordenha. A ordenha termina com o esgotamento completo de todo o leite do úbere. E, é importante utilizar baldes de boca estreita para redução da carga microbiana. Uma vez terminada a ordenha deverá fornecer alimento às vacas e mantê-las em pé, o que evita a mastite ambiental. Após a ordenha, o leite deve ser filtrado em coadores próprios de tela fina e resfriado à temperatura de 4 °C a 7 °C.

O tempo para resfriamento não deve ultrapassar um período de 2 horas após a ordenha, pois, após esse tempo finaliza a capacidade bactericida natural à temperatura ambiente. Esse procedimento pós-ordenha contribui para a conservação do leite. O leite cru refrigerado deverá ser transportado a granel da propriedade para a indústria em caminhões tanques isotérmicos, com bombas e medidores, e o transporte deverá ocorrer no período máximo de 48 horas de estocagem no tanque de refrigeração. Na coleta do leite para transporte, observar a temperatura do leite estocado e realizar análise sensorial (cheiro) do leite. Também deverão ser coletadas amostras, em pequenos frascos, as quais devem ser mantidas no gelo e em recipientes isotérmicos, sendo encaminhadas para realização das análises bacteriológicas e físico-químicas. Para a decisão da indústria de coletar ou não o leite para o

transporte, o único teste a ser realizado é o do Alizarol na concentração mínima de 72% v/v (BRASIL, 2011).

2.5. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO LEITE

2.5.1 Generalidades

O leite é um alimento de alto valor biológico cuja principal finalidade é nutrir os mamíferos em seus primeiros estágios de vida, e fornecer proteção imunológica através de substâncias, tais como: as imunoglobulinas que são transferidas através do colostro, (ABREU, 2005) e sua importância é fundamentada em seu elevado valor nutritivo, e por possuir compostos de alta digestibilidade (MARQUES et al., 2005).

2.5.2 Composição e estrutura

O leite é uma mistura homogênea de grande número de substâncias que se encontram como emulsão (gordura e substâncias associadas), em suspensão (micela de caseína). É uma dissolução verdadeira de lactose, vitaminas hidrossolúveis, sais e proteínas do soro.

Em geral, a composição do leite bovino é de 87% água, 4% gordura, 4,6% lactose, 3,3% proteína, 0,7% minerais, entre outros (Tabela 2), sendo secretado como uma mistura desses componentes. Essa composição varia de acordo com diversos fatores, como a espécie e a raça animal, a idade, a alimentação e o estágio de lactação (WALSTRA, WOUTERS, GEURTS, 2006; NORO et al., 2006; RIBEIRO et al., 2008; 2009; GALVÃO JÚNIOR et al., 2010).

Tabela 2. Composição média do leite de vaca

Constituinte	Teor (g/kg)	Varição (g/kg)
Água	876	855-887
Lactose	46	38-53
Gordura	39	24-55
Proteínas	32,5	23-44
Substâncias minerais	6,5	5,3-8,0
Ácidos orgânicos	1,8	1,3-2,2
Outros	1,4	-

Fonte: Adaptado de Walstra e Jenness, 1984.

A gordura é o componente que apresenta maior variabilidade, e apresenta valores de 2,2% a 4,0%; muito influenciada por genética e fatores ambientais (CORRÊA, 2010). Devido a essa variabilidade a gordura foi o primeiro componente do leite incluído no sistema de pagamento do leite (BURCHARD, BLOCK, 1998; BRITO et al., 2009) uma vez que influencia diretamente no teor de sólidos totais.

2.6. MICROBIOLOGIA DO LEITE

Nas últimas décadas tem sido notória a preocupação com a qualidade e inocuidade dos produtos e subprodutos de origem animal consumidos pela população, e entre estes produtos encontra-se o leite (RIBEIRO et al., 2009).

O leite é um dos alimentos mais completos, e é considerado um dos melhores meios de cultura para multiplicação microbiana. Quando mantido em temperatura ótima de crescimento e multiplicação a 37 °C contribui favoravelmente para a multiplicação rápida, em poucas horas, apresentando milhões de microrganismos em cada centímetro cúbico de leite (BEHMER, 1991).

Os microrganismos encontrados no leite cru são os mesmos que estão presentes no úbere e na pele desses animais, nos utensílios utilizados no procedimento de ordenha ou nas tubulações da coleta (JAY, 2005).

Desde que o animal esteja sadio, o leite secretado e confinado no úbere é praticamente estéril, mas contamina-se a partir da ordenha. Desde que seja bem conduzida, a carga microbiana inicial poderá ser controlada e a qualidade do leite poderá ser mantida (LORENZETTI, 2006).

As principais fontes de contaminação são: fezes do animal (principal fonte); ar contaminado por poeira (principal fonte, veículo); sujidades provenientes de cuidados inadequados com o animal; ordenha conduzida sem o emprego das boas práticas de produção; e falta de bons hábitos de higiene dos ordenhadores e tratadores, bem como os vasilhames mal higienizados com água contaminada e exposto em ambientes impróprios (FAO, 2013).

Pelos motivos apresentados acima, há necessidade de se realizar ordenha em local separado de onde ficam as vacas. A contaminação

microbiológica do leite pode resultar em acidificação, que geralmente é provocada por bactérias de diferentes tipos. Esse fenômeno ocorre geralmente quando o leite é mantido em temperaturas acima de 10 °C. A recusa do leite nos postos de recepção pode acontecer em função das análises acusarem a transformação da lactose em ácido láctico, o que pode indicar contaminação na origem. Além da lactose, os microrganismos podem atuar sobre a caseína, causando o fenômeno da fermentação proteolítica, que pode ser observado quando as coalhadas exibem grande quantidade de soro e perda quase total da caseína, isto é, da massa sólida (TEIXEIRA, 2006; FONSECA, SANTOS, 2000).

Os principais microrganismos envolvidos na contaminação do leite são bactérias, vírus, fungos e leveduras. Com relação às bactérias, há três categorias distintas, segundo a faixa de temperatura ótima para o crescimento e multiplicação. São as bactérias psicotróficas, mesófilas e termófilas. A faixa ótima de crescimento da microbiota psicotróficas se encontra entre 0 e 40 °C; as mesófilas entre 20 e 40 °C e estas predominam em situações em que há negligência das condições básicas de higiene, bem como falta de refrigeração do leite; e das termófilas entre 44 e 55 °C. Além dessas, outra categoria de microrganismos importante, as bactérias termodúricas. As bactérias psicotróficas, por definição, são aquelas capazes de crescer a baixas temperaturas, menor ou igual a 7 °C, independente da sua temperatura ótima de crescimento (COLLINS,1981). As bactérias termodúricas são aquelas capazes de resistir à pasteurização (FONSECA e SANTOS, 2000). *Pseudomonas* spp, *Bacillus* spp, *Serratia* spp, *Listeria* spp, *Yersinia* spp, *Lactobacillus* spp, *Flavobacterium* spp, *Corynebacterium* spp, *Micrococcus* spp e *Clostridium* spp são os principais gêneros de bactérias psicotróficas. Alguns microrganismos do gênero *Listeria*, *Yersinia* e *Bacillus* são capazes de causar doenças em seres humanos pela veiculação de leite cru. O maior problema relacionado às bactérias psicotróficas resulta da capacidade de produzirem enzimas que resistem ao tratamento térmico, sendo estas principalmente as proteases, as lipases e as fosfolipases. As lipases e as proteases são capazes de hidrolisar as gorduras e proteínas principalmente a caseína do leite, respectivamente, provocando rancificação e alterações físicas (geleificação do

leite UHT, por exemplo) e sensoriais (MENDES, 2006; TONDO, 2004).

No leite não são encontradas apenas bactérias mesofílicas. A microbiota predominante no leite cru geralmente inclui espécies de bactérias do ácido láctico (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*, *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à família Micrococcaceae (*Micrococcus* e *Staphylococcus* spp.) e leveduras. Outros grupos microbianos presentes no leite cru incluem *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. e enterobactérias (TEBALDI et al., 2008).

O leite pode ser uma importante fonte veiculadora de microrganismos patogênicos, entre os mais frequentes é *Escherichia coli*, predominante nas fezes dos animais. Esse microrganismo produz ácido e gás quando utiliza a lactose, razão pela qual torna o leite impróprio para a produção de derivados lácteos (JAY, 2005).

2.6.1. Microrganismos de importância sanitária presentes no leite

As bactérias pertencentes ao grupo coliforme são consideradas os principais indicadores de contaminação fecal. Essas bactérias são utilizadas em larga escala em avaliações microbiológicas que testam a qualidade da água e de alimentos para que as pessoas os consumam sem maiores riscos. A determinação da presença de coliformes em amostras de leite assume importância como parâmetro indicador da possibilidade da existência de microrganismos patogênicos. Esses microrganismos são responsáveis pela transmissão de doenças de veiculação hídrica, tais como: febre tifóide, febre paratífóide, desintéria bacilar e cólera. Estes estão associados com as fezes de animais de sangue quente e com o solo. As espécies comumente encontradas são a *Escherichia coli* e a *Enterobacter aerogenes*. Na contaminação do leite por coliformes, a lactose é fermentada e resulta em produtos finais, como ácidos, gases e produtos neutros (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Micrococcus

Este gênero pertence à família Micrococcaceae. São Gram-positivas, oxidase-positiva, aeróbios ou anaeróbios facultativos e os cocos estritamente

aeróbicos. Geralmente são imóveis e não formadoras de esporos. São encontrados no solo, água, pó, utensílios, fômites, especialmente no leite e derivados, nos dutos das glândulas mamárias e várias fontes ambientais, fontes marinha e pele de seres humanos (sobretudo em regiões expostas do corpo). São importantes agentes de deterioração destes alimentos, e as principais espécies são *Micrococcus luteus*, e *Micrococcus varians*. Produzem pequenas quantidades de ácidos a partir da lactose e são também fracamente proteolíticos, moderadamente resistentes ao calor, e algumas bactérias sobrevivem à temperatura de 60 °C, durante 30 minutos (CARVALHO, 2004).

Clostridium

Pertencem à família Bacillaceae, são bacilos retos, isolados, em pares ou em cadeias, são anaeróbios estritos, Gram-positivos, formadores de endósporo que são resistentes ao calor. Dentro do gênero encontram-se representantes imóveis ou móveis por flagelos laterais ou peritríquios. Metabolicamente são muito distintos, com temperatura ótima de crescimento e multiplicação entre 10 °C e 65 °C. Estão presentes no solo, na água, estrume, rações, no esgoto e na microbiota normal do trato gastrointestinal de animais e do homem. Uma das principais espécies é o *Clostridium butyricum*, fermentam a lactose e resulta em acúmulo de gás e ácido butírico.

Fermentação Filamentosa ou Viscosa

Microrganismos representativos: *Alcaligenes viscolactis*, *Enterobacter aerogenes* e *Lactococcus lactis*. São encontrados no solo, água, instalações e rações. Sintetizam uma substância polissacarídica viscosa que produz uma camada limosa ou cápsula sobre as células. O leite contribui favoravelmente para formação do material capsular.

Proteolíticos

Microrganismos representativos: *Bacillus* sp, *Bacillus subtilis* e *Bacillus cereus*, *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. e *Serratia liquefaciens*. Encontrados

no solo, água e utensílios. Decompõem a caseína a peptídeos, os quais podem ter sua estrutura simplificada a aminoácidos. A coagulação da caseína pela ação enzimática da renina poderá anteceder o fenômeno da proteólise. Os resultantes da proteólise podem atribuir odor ou sabor incomum ao leite, há espécies de *Pseudomonas* que podem conferir coloração ao leite.

Lipolíticos

Microrganismos representativos: *Pseudomonas fluorescens*, *Achromobacter* sp, *Candida lipolytica* e *Penicillium* spp. Comumente encontrados no solo, água e utensílios. Os germes lipolíticos hidrolisam a gordura do leite a compostos mais simples até glicerol e ácidos graxos. Alguns ácidos de cadeia curta conferem odor e gosto rançoso ao leite.

2.6.2. Principais enfermidades que acometem os bovinos leiteiros

Mastite

A perda na produção de leite e derivados lácteos devido à presença de mastite aguda representa aproximadamente de 8% a 10% de produção anual e na mastite crônica ao redor de 5% sobre a produção láctea, uma vez que daí resulta prejuízos na produção de derivados lácteos a partir do leite com mastite ou com antibióticos (FONSECA; SANTOS, 2000).

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária, e sua ocorrência em rebanhos leiteiros de todo o mundo causa grandes prejuízos econômicos e sanitários para produtores e laticínios. A mastite pode ainda representar um risco potencial à saúde de homens e bezerros, pois o leite pode servir como um transmissor de microrganismos patogênicos e formação de enterotoxinas (ZAFALON et al., 2009).

Sua presença causa aumento no número de células somáticas, alterações significativas na composição do leite e, conseqüentemente, grande impacto econômico.

São causadores de mastite: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*,

Corynebacterium bovis, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. e outros, como *Mycoplasma* spp., *Mycobacterium bovis*, *Brucella abortus* e *Listeria monocytogenes*. (LANGONI et al., 1998; MARTINS et al., 2010). Valores elevados de Células Somáticas no leite são responsáveis pela redução da concentração de lactose no leite. A concentração de potássio diminui, devido ao dano celular, enquanto há uma elevação nos níveis de sódio e cloro que passam do sangue para o leite (KITCHEN, 1981; HARMON, 1998; PEREIRA et al. 1999; SCHÄELLIBAUM, 2000), o que confere a este sabor salgado, e a ação de enzimas causam alterações na proteína e na gordura.

Tuberculose

É uma zoonose causada por *Mycobacterium bovis* de evolução crônica que acomete principalmente bovinos e bubalinos. Caracteriza-se pelo aparecimento de lesões nodulares, que podem se localizar em qualquer órgão ou tecido. As bactérias causadoras da tuberculose pertencem à família Mycobacteraceae, gênero *Mycobacterium* e *Mycobacterium bovis* e com menor frequência por *Mycobacterium avium* e *Mycobacterium tuberculosis* e apresenta patogenicidade para os bovinos e bubalinos (BEER, 1988; CORRÊA, CORRÊA, 1992; JONES et al., 2000; RADOSTITS et al., 2002).

É disseminada entre os bovinos principalmente por via oral e respiratória. A transmissão para o homem ocorre pela ingestão de leite e derivados não pasteurizados de vacas infectadas, via cutânea e por via respiratória (CASTRO, K.G. et al., 2009). Essas bactérias são destruídas pela pasteurização do leite. A ocorrência de tuberculose por *Mycobacterium bovis* no homem depende do predomínio dessas espécies nos bovinos, hábitos alimentares da população, condições socioeconômicas, procedimentos adotados na manipulação e conservação dos alimentos e das medidas de prevenção e controle adotadas nas propriedades.

Brucelose

É uma zoonose de bovinos e bubalinos, causada pela *Brucella abortus*, cocobacilo Gram-negativo, aeróbio facultativo e imóvel que atinge os bovinos. A

manifestação clínica é caracterizada por abortos no terço final da gestação e nascimento de bezerros fracos (THOEN et al., 1993; ACHA, SZYFRES, 2003).

A sua principal via de transmissão é oral, sendo também muito significativa a via aerógena (CRAWFORD et al., 1990; ACHA, SZYFRES, 2003).

A brucelose provoca grande impacto nos setores produtores de leite, sobretudo nas exportações de produtos derivados (FAVERO et al., 2008).

Febre Q

Agente responsável *Coxiella burnetti*, parasita intracelular obrigatório e cresce preferentemente nos vacúolos das células do hospedeiro. Os artrópodes atuam como vetores para a transmissão da enfermidade aos vertebrados (CARVALHO, 2004).

A principal fonte de infecção para o homem ocorre através do contato com mamíferos domésticos principalmente o gado bovino, ovino e caprino. Nos animais infectados, a *Coxiella burnetti* é eliminada via leite, mas especialmente nos materiais expelidos durante o aborto ou parto (MAURIN, RAOULT, 1999; RAOULT et al., 2000; SANTOS et al., 2006).

2.6.3. Resíduos de antibióticos em leite

Antibióticos são compostos químicos específicos produzidos por fermentos, fungos e bactérias com ação bacteriostática ou bactericida, fungistática ou fungicida (ENGLERT, 1982; BRASIL, 1999).

Diversas drogas são utilizadas no gado leiteiro com o objetivo profilático, na prevenção de mastite, tais como: antimicrobianos, antiparasitários e anti-inflamatórios não esteroidais. Período de carência, dosagem, via de administração desses antibióticos se desconsiderados, geram resíduos de antibióticos no leite e riscos à saúde humana (PONTES NETTO et al., 2005; BRABANDER et al., 2009).

É importante conhecer a dimensão da exposição da população a esses compostos para nortear as ações de controle visando à proteção do consumidor (ANVISA, 2003).

Os Limites Máximos permitidos para resíduos de drogas para uso

veterinário em alimentos são determinados pelo Codex Alimentarius, da FAO e pela Organização Mundial da Saúde (OMS), sendo referências fundamentais para o comércio internacional de alimentos (FONSECA, SANTOS, 2000).

De 5% a 10% das pessoas são alérgicas às penicilinas e metabólitos, e esse princípio ativo está presente em vários antibióticos (WEAVER, 1992; NERO et al., 2005).

Os antibióticos do grupo beta lactâmicos (penicilinas) são os medicamentos comumente administrados às vacas leiteiras para fins terapêuticos. Considerando o índice elevado de pessoas alérgicas à penicilina, os resíduos de penicilina constituem a maior preocupação referente aos riscos oferecidos aos humanos (LARANJA, MACHADO, 1994; SCHÄELLIBAUM, 2000).

A carência varia de acordo com cada medicamento, e o descumprimento desse período é que gera resíduos de antibiótico no leite (BRITO, LANGE, 2005; ALMEIDA, 2004; SANTOS, FONSECA, 2004).

O controle de resíduos de medicamentos veterinários representa uma importante medida para garantir proteção ao consumidor. A Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011, (BRASIL, 2011), exige a pesquisa periódica de resíduos de antibióticos em leite, que não devem ser superiores aos Limites Máximos de Resíduos (LMRs) previstos para cada grupo químico específico. Em conformidade com a Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, é atribuição da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a regulamentação, o controle e a fiscalização de alimentos, no que se refere a limites de resíduos de medicamentos veterinários (BRASIL, 1999).

2.7. QUALIDADE DO LEITE

A qualidade do leite e de seus derivados ganha importância de forma crescente em toda cadeia produtiva dessa atividade, incluindo também o consumidor, o qual está cada vez mais atento à qualidade dos produtos, que associado ao preço, determina o seu aceite no mercado (ABREU, 2005).

Ao se referir à qualidade do leite, consideram-se os seus parâmetros físico-químicos e microbiológicos, os quais afetam direta ou indiretamente a

segurança, a aceitação do consumidor e a demanda de produtos.

O Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011) através da Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), que alterou a IN 51 de 18, de setembro de 2002 (BRASIL, 2002), estabelece normas que devem ser observadas para a produção, a identidade e a qualidade do leite, visando adequar às exigências mínimas de qualidade do leite cru e industrializado previstas na legislação internacional.

Entre os padrões de qualidade da IN 62, de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), encontram-se o regulamento técnico da coleta do leite cru refrigerado e seu transporte a granel, padrões para contagem de células somáticas (CCS), para contagem bacteriana total (CBT), composição química e caracterização física, além de exigir o controle sanitário de brucelose e tuberculose e a obrigatoriedade da realização de análise para pesquisa de resíduos de inibidores e antibióticos.

A qualidade do leite pode ser alterada durante a produção, processamento ou sua distribuição, sendo que a fase de produção é a etapa mais importante, pois a qualidade pode ser mantida nas etapas subsequentes, mas não pode ser incorporada posteriormente (RICHTER, 1992), sendo então de responsabilidade, em primeiro lugar, do produtor. A qualidade pode ser reduzida por práticas inadequadas de ordenha, manipulação, adulteração e falta de resfriamento imediato após a ordenha (ABREU, 2005; RANGEL et al. 2009; GALVÃO JÚNIOR et al., 2010).

O conhecimento da contaminação microbiana do leite cru é importante tanto para a indústria como para o consumidor, tendo em vista sua grande influência na qualidade dos derivados lácteos e, conseqüentemente, nos hábitos de consumo. Altas contagens totais de bactérias prejudicam a aceitabilidade, o valor nutricional, o rendimento e a vida de prateleira do leite fluido e dos produtos lácteos. Há implicações adicionais para a saúde pública se bactérias patogênicas ou seus produtos contaminam o leite e derivados (MORAES et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2011; ORTOLANI et al., 2010; GIACOMETTI et al., 2012; HILL et al., 2012).

Em função da importância da melhoria da qualidade do leite e por ser

um grande desafio para o setor leiteiro, pois uma matéria-prima de boa qualidade contribui para um maior rendimento dos produtos lácteos, agregando valor para a indústria e o produtor. E como a produção de leite em Alegre-ES exerce uma importância socioeconômica significativa para os produtores familiares e para o estado. Propôs-se realizar este trabalho para investigar e avaliar a qualidade do leite produzida no município de Alegre-ES.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A fase inicial deste trabalho foi o cadastramento de 34 produtores rurais voluntários, realizado por meio de visita técnica e aplicação de questionário estruturado (Apêndice 1 e 2), com base nas exigências da legislação do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2008). Os produtores pertenciam ao município de Alegre-ES, e estavam localizados em quatro diferentes comunidades, denominadas de: comunidade A (Tanque 1), comunidade B (Tanque 2), comunidade C (Tanque 3) e comunidade D (Tanque 4), com 6 propriedades avaliadas na comunidade A, 12 na comunidade B, 5 na comunidade C e 11 na comunidade D. O questionário continha perguntas relacionadas às práticas de obtenção higiênica do leite cru adotadas antes, durante e após o processo de ordenha relativo a: tipo de ordenha; volume de produção leiteira diária e mensal; raça dos animais; antibióticos usualmente utilizados e períodos de carência; origem da água utilizada; limpeza do estábulo; limpeza de equipamentos e tetos; asseio do ordenhador; horário das ordenhas; higienização e sanitização dos equipamentos; utilização de latões; destino do leite; armazenamento pós-coleta; saúde de pessoal; e controle sanitário do rebanho com relação à mastite, endoparasitas e ectoparasitas.

Um questionário para verificação de conformidades ou não conformidades dos quatro tanques comunitários à Instrução Normativa nº 62, nos diversos aspectos abordados por essa legislação. O questionário foi aplicado aos trabalhadores responsáveis pela recepção e estocagem de leite nos tanques de expansão.

Na fase seguinte foram coletadas amostras de leite cru com periodicidade mensal durante o período de dois meses em quatro (4) tanques de refrigeração localizados nas comunidades rurais selecionadas (Tanque 1, Tanque 2, Tanque 3 e Tanque 4). Os resultados obtidos em cada tanque foram analisados e comparados entre si, representando os produtores avaliados. Todas as amostras foram coletadas em frascos estéreis, as quais foram encaminhadas em caixas isotérmicas com gelo reciclável para o Laboratório de Microbiologia e Química de Alimentos do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo – Campus de Alegre-ES (IFES).

As análises microbiológicas realizadas foram: Contagem Bacteriana Total (CBT); bactérias psicrotróficas; *Staphylococcus* spp.; coliformes totais; e *Escherichia coli*. As análises microbiológicas de Contagem Bacteriana Total, bactérias psicrotróficas e *Staphylococcus* spp. foram realizadas de acordo com o Compêndio dos Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (APHA, 2001). Análises de coliformes totais e contagem de *Escherichia coli* foram realizadas por meio da utilização de Placa Petrifilm™ da 3M™ e foram realizadas de acordo com técnica descrita pelo fabricante.

No preparo das diluições sucessivas foi retirada uma alíquota de 1 mL da amostra e transferida para um tubo contendo 9 mL de água peptonada (0,1%), obtendo a diluição 10^{-1} . Para obter a diluição 10^{-2} foi retirada uma alíquota de 1 mL da diluição anterior (10^{-1}) e transferida para um tubo contendo água peptonada (0,1%). Esse processo foi repetido para obter as demais diluições.

Para Contagem Bacteriana Total (CBT), 1 mL das diluições apropriadas foram transferidos para placa de Petri, em seguida aproximadamente 15 mL de Agar padrão para contagem (PCA) foi adicionado nas placas, homogeneizado e foram incubadas em estufas bacteriológicas a 35 °C/48 horas.

Para contagem de *Staphylococcus* spp., 0,1 mL das diluições apropriadas foram transferidos para placas de Petri contendo Agar Baird Parker (BPA) acrescido de solução de gema de ovo e telurito de potássio. A amostra foi espalhada na superfície do ágar com alça de Drigalski e as placas foram incubadas invertidas em estufas bacteriológicas a 35 °C/ 48 horas.

Para contagem de Coliformes totais e *Escherichia coli* foram realizadas em placas de Petrifilm® e foram inoculadas com alíquotas de 1,0 mL das diluições apropriadas, seguindo as instruções do fabricante. Após incubar as placas 35 °C por 24 a 48 h, as colônias azuis e vermelhas com gás foram consideradas colônias de coliformes totais e colônias azuis com gás foram consideradas *Escherichia coli*.

As análises físico-químicas de pH foram realizadas pelo método potenciométrico; densidade e teste de Alizarol foi utilizado um termolactodensímetro de Quevenne, calibrado a 20 °C; teor de gordura pelo método de Gerber; extrato seco total e desengordurado pelo método do Disco

de Ackermann e acidez titulável foi realizada de acordo com a Instrução Normativa nº 22, de 14 de abril de 2003 do Diário Oficial da União (BRASIL, 2003).

Para análise de detecção de antibiótico, as amostras de leite cru foram analisadas em triplicata, utilizando-se o kit BetaStar® 250 05-03-2013, seguindo as instruções do fabricante. O teste é baseado num receptor específico de β -lactâmico® e uma proteína ligada a partículas de ouro. Este kit detecta resíduos de β -lactâmicos (penicilina, ampicilina, amoxicilina, cloxacilina e cefapirina) utilizados com frequência em gado leiteiro.

A determinação da presença de antibióticos foi realizada através da adição de 200 μ L da amostra de leite ao tubo que continha o receptor β -lactâmico, que foi agitado e incubado por 3 minutos a 47,5 °C. Após a etapa de incubação, foi introduzida uma tira reagente no frasco, e incubada novamente por mais 2 minutos. Decorrido este tempo, foi retirada a tira reagente do tubo e realizada a leitura do resultado imediatamente.

O experimento foi conduzido segundo o delineamento em blocos casualizados, sendo cada coleta de leite considerada como um bloco. Os dados coletados foram submetidos à análise estatística utilizando-se o programa “Sistema para análises estatísticas e genéticas – SAEG”, versão 9.1 (SAEG, 2007), para os parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

Os dados obtidos através da aplicação do questionário aos produtores de leite foram analisados através da análise de estatística descritiva.

Os resultados referentes às análises microbiológicas, das análises físico-químicas e de resíduos de antibióticos encontrados nas amostras de leite cru refrigerado foram comparados com a legislação federal vigente, que é a IN 62, (BRASIL, 2011).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. DIAGNÓSTICO DA PRODUÇÃO DE LEITE CRU REFRIGERADO NO MUNICÍPIO DE ALEGRE-ES

Ao observar o nível de escolaridade dos produtores de leite (Figura 1) constatou-se que o percentual do número dos analfabetos e aqueles com ensino fundamental incompleto correspondiam a 65% do total dos entrevistados. É possível que essa predominância da baixa escolaridade possa ser um fator limitante ao acesso às informações pertinentes à atividade leiteira, contribuindo desse modo para a prática de uma pecuária tradicional, com hábitos culturalmente arraigados, dificultando a adoção de boas práticas de produção. Pois, Vicente (2004); Khan e Silva (2005) ao verificarem a eficiência econômica da agricultura, ressaltaram a educação como fator que influencia e contribui para o aumento da eficiência na produção e na qualidade de vida da população.

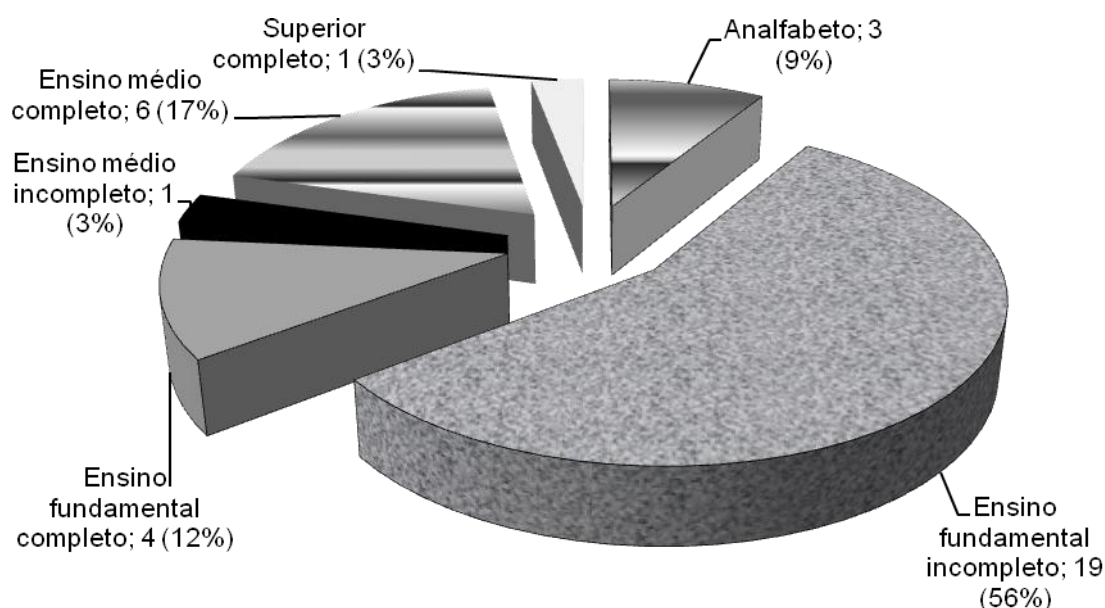


Figura 1. Nível de escolaridade dos produtores rurais. Alegre, 2012.

Neste trabalho, em relação à estrutura física, foi possível observar que 100% dos currais tinham cobertura e 79,4% possuíam piso, em contrapartida 85% dos produtores tinham curral com parede à meia altura, mas ao verificar o

item sala de ordenha, somente 2,9% dos entrevistados responderam sim, não caracterizando, portanto, ambiente de sala de ordenha. Já 91,2% dos entrevistados consideraram o ambiente seco e limpo, sendo constatado que 100% dos locais visitados apresentavam-se arejados e distantes de fontes de mau cheiro.

O volume diário de leite produzido pelas propriedades variou de menor ou igual a 100L (94,1%) a 200 litros diários (5,9%), sendo que todos utilizavam tanque de expansão (Figura 2).

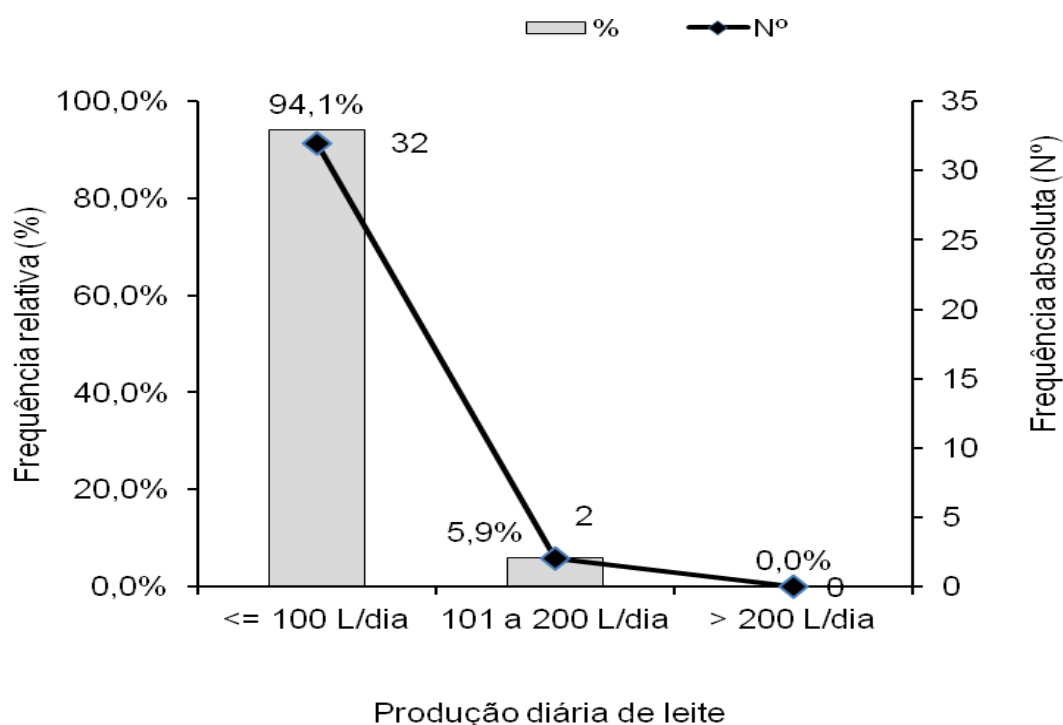


Figura 2. Estratificação dos produtores por classe de produção. Alegre, 2012.

Entre as propriedades visitadas, 97,1% dos produtores usavam ordenha manual e 2,9% ordenha mecânica em sistema semifechado com balde ao pé. Guerreiro et al. (2005); Santos, Fonseca (2007) destacaram que o nível tecnológico utilizado na ordenha não implica necessariamente em leite com melhor qualidade microbiológica, já que suas tubulações podem representar um item a ser considerado como possível fonte de contaminação bacteriana. Em relação ao controle sanitário os produtores rurais o realizavam de acordo com o demonstrado na Figura 3. Observou-se que todos vacinavam contra a

febre aftosa, 94,1% contra a raiva e 91,2% imunizavam contra brucelose.

A vacinação é uma medida efetiva de prevenção de doenças, porque aumenta a resistência dos animais contra uma determinada doença, estimulando a produção de anticorpos (LERCHE, 1969).

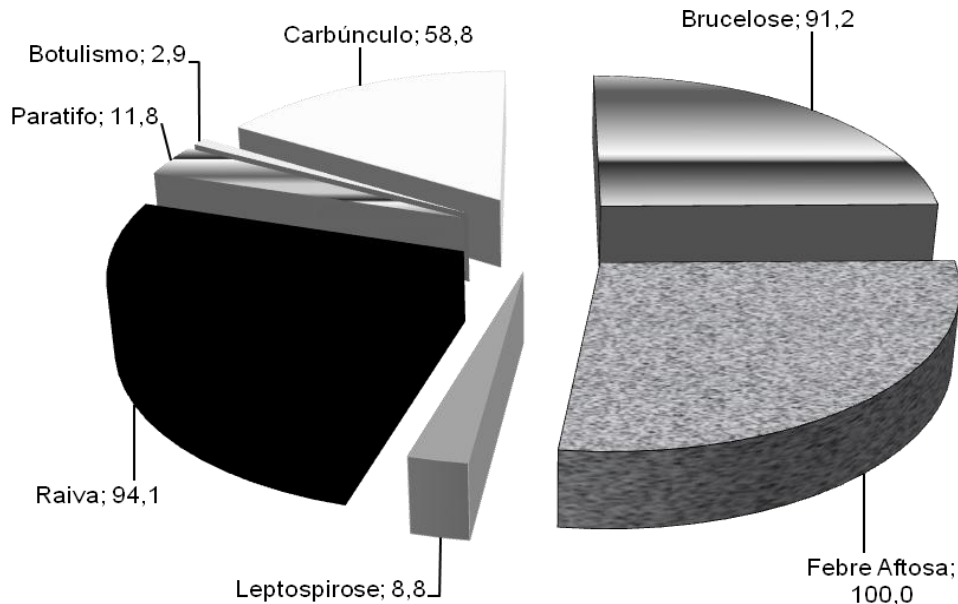


Figura 3. Vacinação realizada no gado leiteiro pertencente aos produtores rurais. Alegre, 2012.

Em todas as propriedades rurais em que foram realizadas as entrevistas, verificou-se que era feito o controle de endoparasitos e ectoparasitos. Todos os produtores entrevistados disseram fazer o uso dessas praticas visto que o uso dessas, de maneira racional, contribui favoravelmente para o animal ter uma boa produção e qualidade do leite. O controle de endoparasitos e ectoparasitos é indispensável na produção leiteira a qual depende da sanidade do animal na produção como também na qualidade do produto e, conseqüentemente, na produção de renda no estabelecimento (CENAGRI, 2004).

A condução da ordenha era realizada nas propriedades rurais em horários fixos estabelecidos pelo produtor, habitualmente das 5 horas às 8 horas, e o tempo para que ocorresse o resfriamento do leite é apresentado na Figura 4.

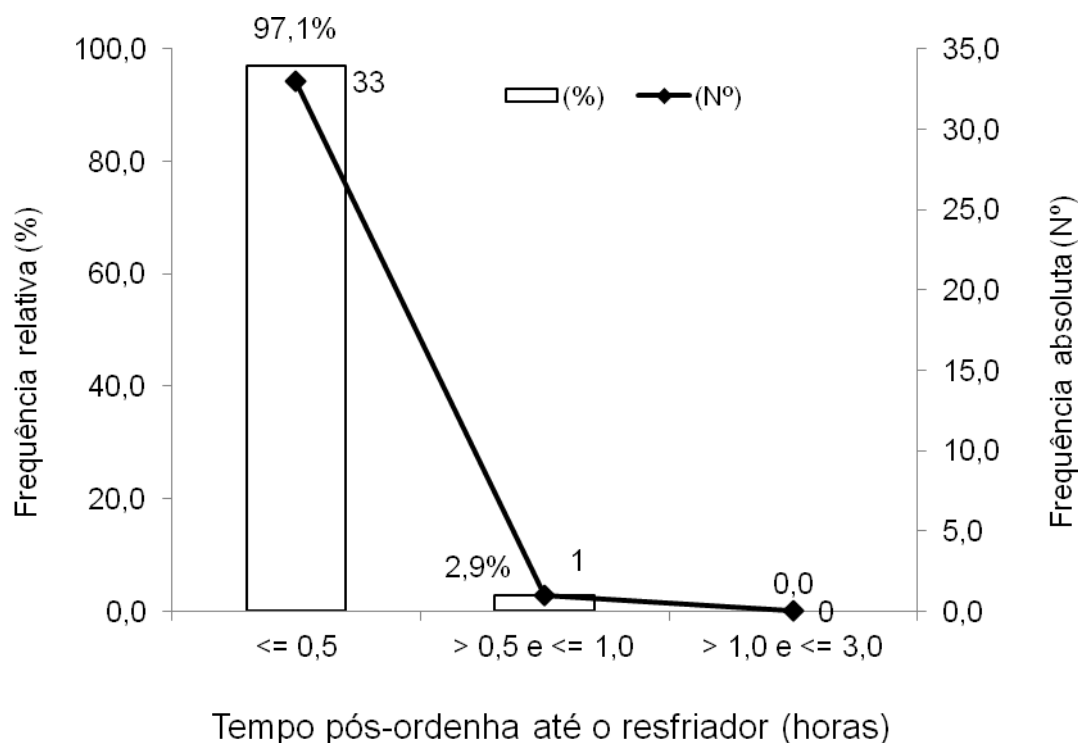


Figura 4. Tempo após a ordenha até a entrega no resfriador. Alegre, 2012.

O intervalo máximo entre a condução da ordenha e o resfriamento do leite foi de 0,5 hora para 97,1% dos produtores rurais e o período máximo de permanência do leite no tanque de expansão foi de 48 horas. Esse fator foi determinante para que não ocorressem alterações físico-químicas perceptíveis no leite, já que as contagens de CBT para o Tanque 2 e 4 estavam fora dos padrões determinados pela IN 62 (BRASIL, 2011).

No que diz respeito à higienização dos animais, 52,9% higienizavam os tetos e úbere, 20,6% realizavam o *pré-dipping* e 5,9% o *pós-dipping*, que é o uso de produtos anti-sépticos para desinfecção do úbere e tetos. O hábito de secar o úbere e tetos antes da ordenha era realizado por 52,9% dos entrevistados, e destes: 29,4% utilizavam papel toalha e 23,5 % o faziam por

intermédio de panos, o que não é permitido pela legislação.

A secagem dos tetos com papel toalha descartável é muito importante na rotina de ordenha, pois contribui para a saúde da glândula mamária e para a qualidade do leite (SILVA et al., 2008).

Araújo et al. (2009) afirmaram que o uso de pano contribui para disseminação de microrganismos causadores de mastite entre os animais do rebanho.

Observou-se que 23,5% faziam o teste da caneca para prevenção da mastite clínica, enquanto os outros 76,5% não adotavam o teste da caneca. Esses procedimentos são importantes para manter a qualidade do leite, pois tetos com sujidades podem contaminar o leite com elevadas cargas bacterianas, causando o aumento da acidez e, conseqüentemente, a aceleração no processo de deterioração. Quando se adota o teste da caneca, a detecção de animais com mastite clínica torna-se eficaz. O animal com mastite representa perda produtiva e econômica e, se não tratado, pode causar prejuízos ainda maiores como a perda dos tetos ou, até mesmo, descarte do animal.

Foi relatada a presença de 32,4% de mastite nos rebanhos e 99,9% dos entrevistados faziam o tratamento com administração de antibióticos. E destes, 63,6% não respeitavam o período de carência e somente 54,5% realizavam o descarte do leite. No entanto o resultado das análises de resíduo de antibiótico apresentou-se negativo para todas as amostras analisadas neste trabalho. É possível que o período de coleta do leite não coincidiu com a administração desses medicamentos nos animais.

Pontes Netto et al. (2005); Brabander et al. (2009) relataram que diversas drogas são utilizadas no gado leiteiro com o objetivo profilático, na prevenção de mastite, tais como antimicrobianos, antiparasitários e anti-inflamatórios não esteroidais. Período de carência, dosagem, via de administração dos antibióticos se desconsiderados, geram resíduos de antibióticos no leite e riscos à saúde humana.

Do total de entrevistados 96,5% alimentavam o animal durante a ordenha e 100% não possuíam o hábito de passar o rabo do animal no úbere e tetas. Em relação ao controle de insetos e roedores, 66,5% o realizavam

sempre que se fazia necessário. A ordenha era realizada sem interrupção em 94,1% e todos esgotavam por completo o leite das vacas.

A origem da água utilizada em 82% das propriedades era da nascente, 3% de poços e 15% eram de córrego onde 94,1% não faziam nenhum tipo de tratamento (Figura 5). Em concordância com a portaria nº 2914 do Ministério da Saúde, a água utilizada na obtenção do leite deve ter a mesma potabilidade que a água para consumo humano (BRASIL, 2011).

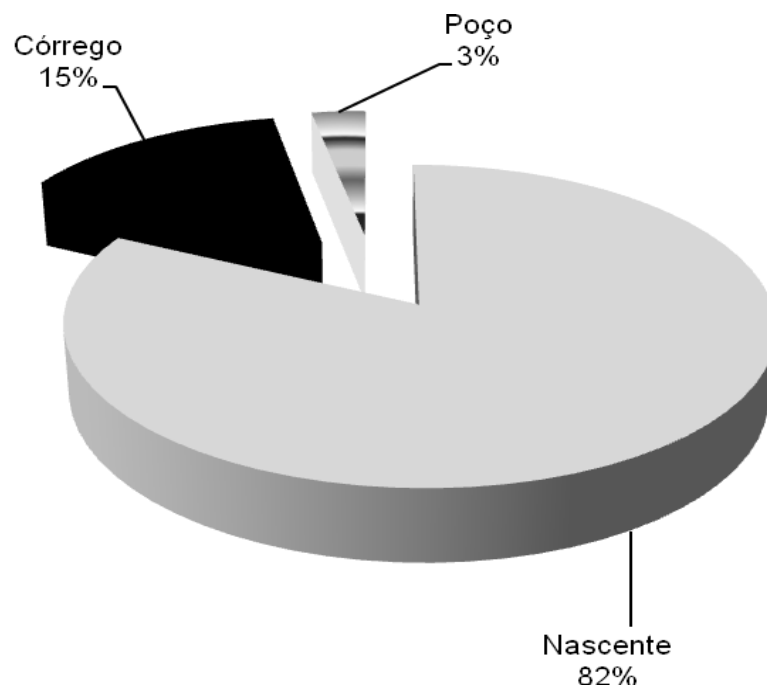


Figura 5. Origem da água utilizada nas propriedades rurais. Alegre, 2012.

Todos utilizavam vasilhames exclusivos para a ordenha. Do total de leite produzido, 97,1% era destinado às cooperativas e todos transportavam o leite através de caminhão isotérmico.

Quanto ao uso de latões, 91,2% dos produtores adotavam o procedimento de usá-los e de mantê-los à sombra até serem destinados ao ponto de coleta (tanque de expansão) para descarga do leite. E, do total de produtores entrevistados, 70,6% dispunham os latões sobre estrados de madeira.

Quanto à limpeza do estábulo e de equipamentos, observou-se que 73,5% possuíam água no curral, e em relação aos equipamentos, todos os

higienizavam após a ordenha, enquanto que 5,0% utilizavam produtos sanitizantes conforme apresentado na Figura 6.

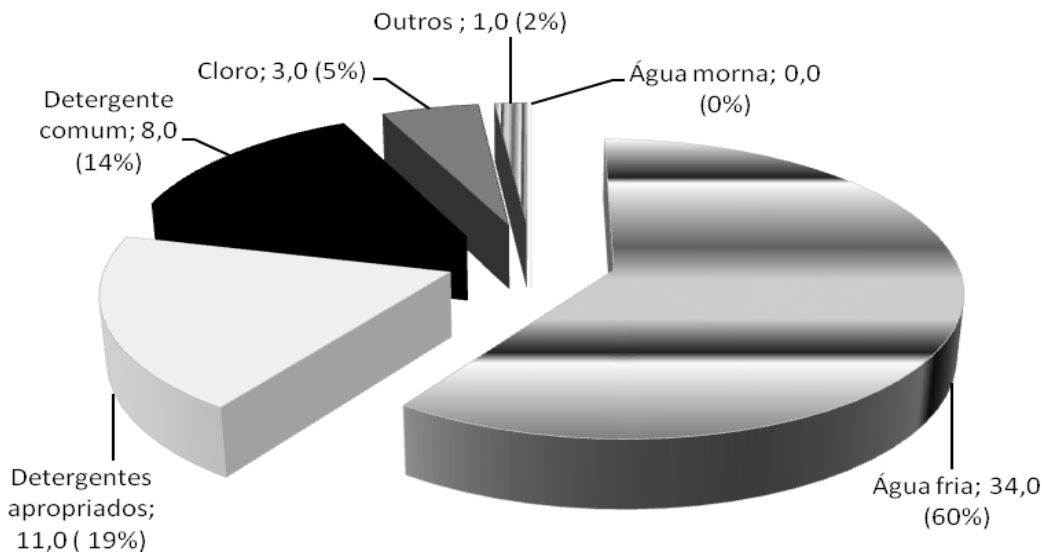


Figura 6. Materiais utilizados na limpeza de equipamentos e utensílios. Alegre, 2012.

Em diversos trabalhos realizados sobre contagem bacteriana, quase 95% das contagens microbianas elevadas em leite cru eram provenientes de falhas na lavagem e sanitização dos equipamentos e utensílios de ordenha, falta de higiene na ordenha e sistema de resfriamento inadequado (TRONCO, 2003).

Neste trabalho, observou-se que os resíduos sólidos eram destinados em 91,2% das propriedades à adubação das capineiras e os 8,8% restantes utilizavam-no para compostagem. Já os efluentes corriam a céu aberto em 100% das propriedades entrevistadas. O destino não correto dos dejetos gera poluição ambiental, com liberação de odores fétidos, proliferação de microrganismos, causando encharcamento do terreno o que pode provocar doenças de cascos nos animais e, conseqüentemente, danos para qualidade do leite e prejuízos financeiros para o produtor além, da possibilidade dos efluentes alcançarem os cursos d'água e provocarem contaminação química e microbiológica resultando em perturbação de todo ambiente.

No item higiene pessoal, 91,2% dos ordenhadores não adotavam o hábito de banhar-se antes de realizar a ordenha, já 94,1% mantinham as unhas aparadas.

Os produtores relataram que 73,5% dos ordenhadores lavavam as mãos e antebraço e não usavam soluções antissépticas. Observou-se que não se fazia uso de roupas específicas para ordenhar. Dados coletados mostraram que 94,1% não possuíam o hábito de fumar durante a ordenha, 97,1% não tinham o hábito de cuspir e escarrar durante a ordenha e 76,5% não realizavam exames periódicos de saúde.

Foi relatado por 91,2% dos entrevistados que não tinham recebido nenhum tipo de treinamento ou palestras sobre as normas instituídas pela IN nº 62. Ao observar o percentual de 8,8% dos produtores treinados, verificou-se que 66,7% destes receberam treinamento de instituição pública e 33,3% de cooperativa. A principal dificuldade relatada pelos produtores de leite entrevistados para se adequarem à Instrução Normativa nº 62 foi a falta de capacitação em educação sanitária e qualidade do leite (Figura 7).

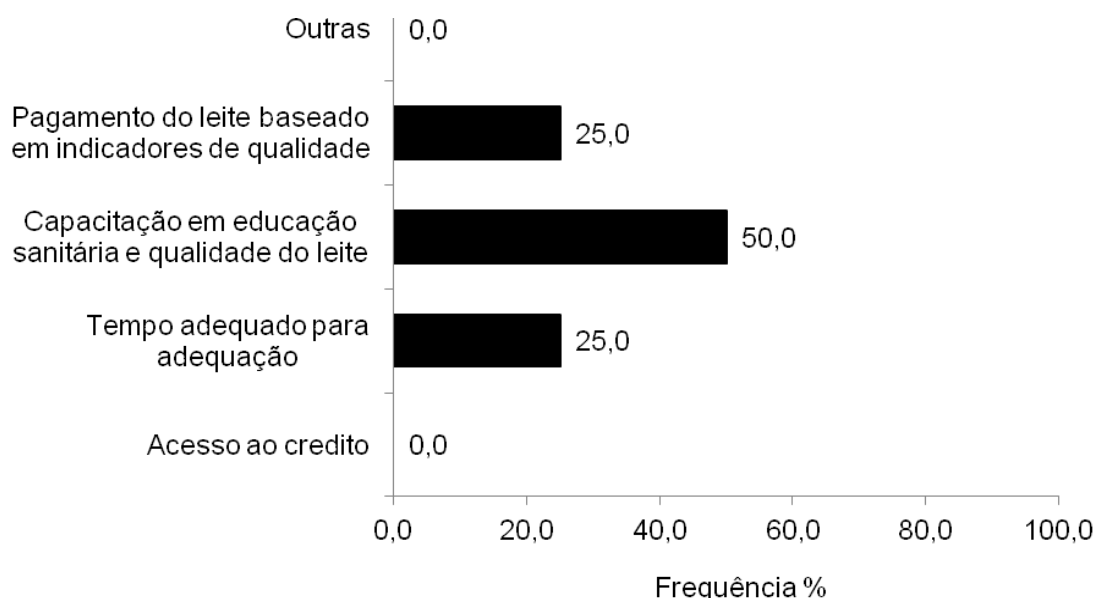


Figura 7. Dificuldades encontradas para adoção da IN 62. Alegre, 2012.

Para sanar essas deficiências, as instituições públicas, cooperativas e representantes de classe precisam estar mais próximas dos produtores para

identificarem as suas dificuldades e desenvolverem conjuntamente um programa efetivo de desenvolvimento no setor pecuário com ênfase em qualidade do leite.

O índice de rejeição do leite foi baixo, (11,8%), se comparado às condições de obtenção do leite não conformes com a legislação vigente, resultado este que confirma a influência do fator binômio tempo x temperatura na multiplicação dos microrganismos. Já que o leite era ordenhado nas horas mais frescas do dia (5h às 8h) e o tempo máximo de refrigeração ocorreu no espaço máximo de 1 hora após a ordenha, o que permite afirmar que não havia condições favoráveis para que ocorressem transformações físico-químicas perceptíveis no leite.

4.2. DIAGNÓSTICO DA COLETA DE LEITE CRU REFRIGERADO TRANSPORTADO A GRANEL NO MUNICÍPIO DE ALEGRE- ES

A Instrução Normativa nº 62 é um regulamento técnico de produção, identidade e qualidade do Leite. Ela abrange também o regulamento técnico da coleta de Leite Cru Refrigerado e seu transporte a granel. A seguir apresenta-se o resultado do questionário elaborado a partir da IN 62 para o Leite cru refrigerado, aplicado em pesquisa de campo em quatro tanques de expansão comunitários localizados em comunidades rurais do município de Alegre-Es (Tabela 3).

Tabela 3 - Atendimento à Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011, das respostas dos questionários aplicados aos trabalhadores responsáveis pela recepção e estocagem de leite nos quatro tanques em Alegre-ES

Nº	Ítem	Conformidade		Resposta por Ponto de coleta ¹			
		Sim	Não	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4
1.0	Instalações						
	Localizado em zona isenta de contaminantes e inundações:	T3;T4	T1;T2			1	1
	Possui cobertura:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Piso cimentado:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Isolamento por paredes:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Arejado:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Possui paredes impermeáveis:	T1;T3	T2;T4	1		1	
	Proteção contra entrada de insetos e roedores:		T1;T2;T3;T4				
	Proteção contra contaminantes ambientais:		T1;T2;T3;T4				
	Possui sistema eficaz de evacuação de efluentes e águas residuais:	T2	T1;T3;T4		1		
	Possui iluminação natural e artificial adequadas:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Possui ventilação suficiente:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Tem ponto de água corrente de boa qualidade:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Possui tanque para lavagem de latões e de utensílios de coleta:		T1;T2;T3;T4				
	Possui lavabo para higienização das mãos:	T3	T1;T2;T4			1	
	Tem bancada de apoio:	T3	T1;T2;T4			1	
	Tem fácil acesso ao veículo coletor:	T1;T2;T3	T4	1	1	1	
2.0	Equipamentos de refrigeração:						
	O tanque é de refrigeração por expansão direta:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1

Tabela 3 - Atendimento à Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011, das respostas dos questionários aplicados aos trabalhadores responsáveis pela recepção e estocagem de leite nos quatro tanques em Alegre-ES, continuação:

Nº	Ítem	Conformidade		Resposta por Ponto de coleta ¹			
		Sim	Não	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4
	Temperatura de refrigeração igual ou inferior a 4 °C:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	No tempo máximo de 3h (três horas) após o término da ordenha:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	O motor do refrigerador é instalado em local arejado:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	A produção de cada ordenha é enviada uma única vez por dia:	T2	T1;T3;T4		1		
3.0	Procedimentos de Controle de Qualidade:						
	Recebeu treinamento básico sobre higiene:	T1;T4	T2;T3	1			1
	Recebeu treinamento sobre análises preliminares do produto e coleta de amostras:	T3;T4	T1;T2			1	1
	Faz seleção diária do leite em cada latão através do teste de alizarol:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Faz coleta de amostra do tanque antes do recolhimento pelo carro-tanque:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Faz coleta individualizada de cada produtor antes do leite ser depositado no tanque:			T1;T2;T3;T4			
	A temperatura e o volume do leite são registrados em formulários próprios:	T1;T2;T4	T3	1	1		1
4.0	Higienização do Tanque e Equipamentos:						
	Os latões são higienizados logo após a entrega do leite:	T2;T3;T4	T1		1	1	1
	O tanque é higienizado logo após a descarga do leite:	T2;T3;T4	T1		1	1	1
	Após a coleta, a mangueira e os demais utensílios utilizados são higienizados:	T2;T3;T4	T1		1	1	1

Tabela 3 - Atendimento à Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011, das respostas dos questionários aplicados aos trabalhadores responsáveis pela recepção e estocagem de leite nos quatro tanques em Alegre-ES, continuação:

Nº	Ítem	Conformidade		Resposta por Ponto de coleta ¹			
		Sim	Não	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4
	Após a coleta do leite é realizada a sanitização do engate da mangueira:	T3;T4	T1;T2			1	1
	Após a coleta do leite é realizada a sanitização da saída do tanque de expansão:	T3;T4	T1;T2			1	1
	Forma de limpeza do tanque e utensílios:						
	Faz uso de detergente inodoro e incolor ou biodegradável	T1;T3;T4	T2	1		1	1
	Utiliza escovas apropriadas:	T2;T3;T4	T1		1	1	1
	A vassoura de limpar piso é utilizada apenas para esse fim:	T1;T2;T3	T4	1	1	1	
	As instalações são limpas diariamente:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
5.0	Higienização do Receptor do Leite:						
	Possui o hábito de banhar-se antes de iniciar as atividades:		T1;T2;T3;T4				
	Faz a lavagem das mãos antes das operações:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Faz a desinfecção das mãos antes das operações:	T3	T1;T2;T4			1	
	Possui unhas limpas e aparadas:	T1;T2	T3;T4	1	1		
	Está devidamente uniformizado:		T1;T2;T3;T4				
	Realiza exames para avaliar seu estado de saúde periodicamente:		T1;T2;T3;T4				
6.0	Recursos Hídricos e Meio Ambiente:						
	Destino dos dejetos é realizado em local adequado (esgoto ou capineira)	T1,T2	T3,T4	1	1		
	Destino dos efluentes é realizado em local adequado (esgoto)	T2	T1,T2,T3		1		
	Origem da água para higienização das instalações e equipamentos:						
	Estação de tratamento	T2	T1;T3;T4		1		
	Faz análise da água:						
	Química	T2	T1;T3;T4		1		

Tabela 3 - Atendimento à Instrução Normativa nº 62, de 29/12/2011, das respostas dos questionários aplicados aos trabalhadores responsáveis pela recepção e estocagem de leite nos quatro tanques em Alegre-ES continuação:

Nº	Ítem	Conformidade		Resposta por Ponto de coleta ¹			
		Sim	Não	Tanque 1	Tanque 2	Tanque 3	Tanque 4
	Bacteriológica	T2	T1;T3;T4		1		
7.0	Seleção e Transporte						
	Intervalo de coleta do leite no resfriador em no máximo 48 horas:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	O leite é transportado em caminhão isotérmico:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	A transferência do leite do tanque de refrigeração para o carro-tanque é realizada em circuito fechado:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	A coleta do leite é realizada no local de refrigeração e armazenagem:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Antes do início da coleta, o leite é agitado com utensílio próprio:	T2;T4	T1;T3		1		1
	A temperatura é anotada:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	Realiza-se a prova de alizarol na concentração mínima de 72% v/v:	T1;T2;T3;T4		1	1	1	1
	O leite não conforme ou não refrigerado até a temperatura máxima admitida não é coletado a granel:	T2;T3;T4	T1		1	1	1
8.0	Assistência Técnica:						
	Recebe algum tipo de assistência técnica	T1;T2;T4	T3	1	1		1
	Recebeu treinamento sobre as Instruções Normativas Nº 51 e Nº 62:	T1	T2;T3;T4	1			
Somatório das respostas em conformidade				31	39	37	35
Total de perguntas: 57				57	57	57	57
Porcentagem (%)				54,39	68,42	64,91	61,40

¹ Conformidade = 1 e não conforme em branco; T1 = Tanque 1; T2 = Tanque 2; T3 = Tanque 3; T4 = Tanque 4.

Considerando o item relacionado às instalações, observou-se que a proteção contra entrada de insetos e roedores, contaminantes ambientais e a existência de tanque para lavagem de latões e de utensílios de coleta não era atendido por nenhum dos tanques. Estando de acordo com de Nero et al. (2005), onde os autores citam que a adoção de medidas isoladas, como compra de tanques e aquisição de tecnologias não é suficiente para a produção de leite de boa qualidade microbiológica.

As estruturas físicas eram desprovidas de instalações básicas e eram mal dimensionadas não permitindo a aplicação de medidas sanitárias de forma adequada, tornando as condições higiênicas extremamente deficitárias prejudicando assim a manutenção da qualidade do leite.

No item referente ao uso dos equipamentos de refrigeração constatou-se que a produção diária de leite era enviada uma única vez por dia para Tanque 2, o que pode ser um indício de manejo pouco desenvolvido resultando em baixa produtividade, mas por outro lado uma nova entrada de leite no tanque resulta em oscilações de temperatura e poderá aumentar a contagem de microrganismos. Fato este constatado no estudo realizado por Silva et al. (2010), para avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em Umuarama (Paraná), onde a entrada constante de leite em temperatura ambiente no tanque levou a redução da eficiência da refrigeração e observaram também um aumento nas contagens de todos os grupos de microrganismos em 24 horas, exceto *Escherichia coli* e Estafilococos coagulase positiva.

O procedimento mais eficaz para a conservação do leite é quando o tempo de coleta pós-ordenha ocorre num espaço máximo de 2 horas. É nesse período que finaliza a sua capacidade bactericida natural à temperatura ambiente. Assim também o curto tempo de armazenamento no período máximo de 48 horas não permite a proliferação bacteriana do leite (quando o mesmo é coletado e transportado para a indústria de laticínios no período preconizado pela legislação).

Para Bueno et al. (2004), a utilização de tanques comunitários, que é uma alternativa para pequenos produtores, pode acumular falhas individuais, o que prejudica a qualidade do leite refrigerado.

No item referente a Procedimentos de Controle de Qualidade foi verificado que os trabalhadores responsáveis pelo Tanque 1 e 4 receberam treinamento básico sobre higiene. Esse fato desqualifica os trabalhadores dos tanques 2 e 3 para identificar e controlar os pontos críticos que interferem diretamente na qualidade microbiológica do leite. Para alcançar a melhoria do padrão de qualidade do leite, é necessário investir na conscientização e no treinamento de pessoas, como melhoria da higiene de produção e adequada limpeza de utensílios e equipamentos.

Referente à higienização dos tanques e equipamentos, foi possível observar que não possuíam um procedimento adequado de higienização de equipamentos. Eles realizavam a limpeza dos mesmos de maneira incorreta e insuficiente para garantir a remoção de resíduos e o arraste dos microrganismos presentes.

Scalco, Machado e Queiróz (2007) afirmaram que muitas propriedades, em torno de 66%, não utilizam os procedimentos adequados de higiene do equipamento, o que contribui para a redução de qualidade e a falta de segurança do leite entregue aos laticínios.

Portanto, a aplicação de boas práticas nos pontos de coleta, baseadas em lavagem: do tanque e da saída do tanque; das mangueiras e engates; e latões, usando bucha; detergente neutro ou escovas, cloro e água potável, e limpeza diária do ambiente determinará o sucesso da atividade com resultados positivos para melhoria da qualidade do leite.

Ao se verificar a higienização do trabalhador responsável pela recepção e estocagem do leite no ponto de coleta observou-se que todos trabalhadores não possuíam o hábito de banhar-se antes de iniciar as atividades bem como o uso de roupas específicas, procedimentos este que viabilizam a transmissão de microrganismos presentes na superfície corporal e nas vestes, contaminando as superfícies de contato e, conseqüentemente, o leite. Outro fator preocupante foi a não realização de exames de saúde periódicos podendo, os trabalhadores, serem portadores assintomáticos de patogenias e, causarem sérios danos à saúde pública.

Ao avaliar o comportamento e o tratamento destinados aos recursos hídricos e ao meio ambiente, verificou-se que a água utilizada nos pontos de

coleta provinha de poços e nascentes sem qualquer proteção contra o acesso de animais e poluentes, e sem adoção de qualquer sistema de tratamento de água, tornando a sua origem duvidosa. Fato comprovado pela presença de coliformes totais e *Escherichia coli* nas amostras coletadas, exceção do Tanque 1, no qual não foi detectado *Escherichia coli*.

Estes resultados indicaram contaminação ambiental e fecal o que torna o produto impróprio para o consumo. Vale ressaltar que informações prestadas pelo agente do Tanque 2 foi falha ao relatar que recebia água da estação distribuidora, o que não era real. Os resultados obtidos condizem com a presença de contaminação em alguma fase de produção.

As enterobactérias, *Escherichia coli*, são microrganismos mesófilos que estão presentes devido à falta de higiene e pertencem à família Enterobacteriaceae. No ambiente, alguns microrganismos estão presentes na água, solo e cama dos animais, sendo que são capazes de provocar doenças em seres humanos pela ingestão do leite não pasteurizado, em condições especiais (FONSECA et al., 2000).

Quanto ao destino dos efluentes, estes corriam a céu aberto, podendo originar contaminações nos mananciais de água por cargas de resíduos orgânicos e causar aumento da DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio), além da emissão de resíduos químicos utilizados no processo de lavagem geral.

No item referente à seleção e transporte, verificou-se um maior número de atendimento aos requisitos instituídos pela legislação vigente, no entanto, verificou-se que no Tanque 1 e 3 não realizavam a agitação do leite antes da coleta, o que poderia comprometer os resultados das análises.

Os trabalhadores responsáveis pelos Tanques 2, 3 e 4 relataram que o leite fora do padrão de produção ou não refrigerado até a temperatura máxima de 7 °C admitida era coletado a granel pela cooperativa. O que caracterizava o descumprimento das normas preconizadas pela IN 62, podendo causar prejuízos financeiros para a indústria ou o incentivo a ações fraudulentas. E o maior prejudicado é o consumidor que adquire um produto que acredita ser de qualidade, pois o leite é um alimento consumido em todas as fases da vida humana, mas principalmente é utilizado na alimentação de crianças e idosos, o que aumenta os riscos para saúde, já que estes são grupos vulneráveis.

No item referente à assistência técnica, observou-se que os trabalhadores responsáveis pelos Tanques 1, 2 e 4 receberam algum tipo de assistência técnica, mas ao verificar que somente o Tanque 1 relatou ter recebido orientações sobre a IN 51, ficou evidente a importância e a necessidade de investir em treinamentos e acompanhamento técnico para possibilitar a adoção das normas instituídas pela legislação sanitária vigente no país.

Resumidamente e de forma relativa, são apresentados na Figura 9 os resultados obtidos nos quatro pontos de coleta de leite cru refrigerado (tanque de expansão), referentes aos requisitos de atendimento ao regulamento técnico da coleta de Leite Cru Refrigerado e seu transporte a granel instituído pela IN nº 62 (BRASIL, 2011).

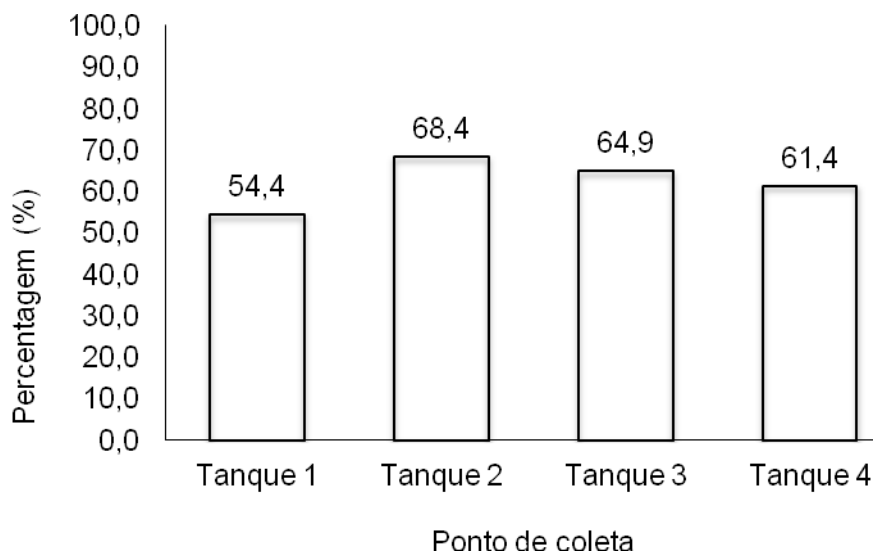


Figura 8. Percentagem de requisitos, por ponto de coleta de leite cru refrigerado, que estão em conformidade com a IN 62.

O Tanque 2 foi o que apresentou a maior porcentagem de atendimento à legislação vigente. Mas ao verificar os resultados encontrados nas suas análises de CBT, e se comparados aos padrões estabelecidos pela IN 62, constatou-se que ele apresentou contagem superior para leite cru refrigerado, sendo um indicativo de deficiência higiênica na produção, necessitando de mais atenção às práticas sanitárias de forma a evitar a contaminação por mesófilos aeróbios.

Ao avaliar os demais tanques, são evidentes as falhas higiênico-

sanitárias, quando comparadas aos resultados encontrados nas análises microbiológicas, reforçando a ideia de que não é suficiente o esforço de elos isolados da cadeia produtiva, mas é necessário que todos os segmentos sejam capacitados e adotem medidas profiláticas sanitárias para obtenção de um leite com padrão de qualidade microbiológica.

4.3. ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS DE LEITE CRU REFRIGERADO DOS TANQUES PERTENCENTES A QUATRO COMUNIDADES RURAIS

Os resultados da análise de variância das características físico-químicas: pH, Acidez, Densidade, Teor de Gordura e Extrato Seco encontram-se na Tabela 4. Verificou-se que não houve diferença significativa entre os valores médios das características físico-químicas estudadas.

Tabela 4. Análise de variância das características físico-químicas pH, acidez, densidade, teor de gordura e Extrato Seco Total encontrados em amostras de leite cru de quatro tanques de refrigeração

FV	GL	Quadrado médio				
		pH	Acidez	Densidade	Teor Gordura	Extrato Seco Total
Bloco	1	0,0162000	3,12500	0,0000000	0,0000451	0,0000738
Tanque	3	0,0002166 ns	1,12500 ns	0,0000001 ns	0,0000155 ns	0,0000324 ns
Resíduo	3	0,0003000	0,12500	0,0000003	0,0000095	0,0000056
CV (%)		0,26	2,10	0,06	8,40	2,00

ns = não significativo pelo teste F ao nível de 5% de probabilidade.

Os valores médios das características físico-químicas das amostras analisadas encontram-se na Tabela 5. Verificou-se que os valores dessas características apresentaram-se em conformidade com as normas estabelecidas pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011), com exceção do valor do pH que apresentou valor acima do padrão estipulado, o que pode ser explicado pela possível presença de mastite no rebanho, que ocasiona o aumento de cloretos, sódio e do pH, promovendo a tendência para a alcalinidade do leite.

Tabela 5. Valores médios das características físico-químicas avaliadas: pH, Acidez, Densidade, Teor de Gordura e Extrato Seco e valor limite estipulado pela IN 62. Alegre-ES, 2012

Característica	Valor médio	Valor limite
pH	6,7125*	6,00 a 6,50
Acidez (g ácido láctico/100 mL)	0,16875	0,14 a 0,18
Densidade (g/mL)	1,02825	1,028 a 1,034
Teor Gordura (g/100g)	3,625	mínimo 3,0
Extrato Seco (g/100g)	11,785	mínimo 8,4

* Não conformidade com a Instrução Normativa Nº 62 de 29/12/2011 (BRASIL, 2011).

Diante desses resultados foi possível observar que em nenhum dos tanques ocorreu fraude, quer por adição de água ou por desnate prévio, ações que comprometem e desqualificam o produto final ao consumidor.

De acordo com Silva (2002), o EST é importante para o rendimento dos produtos derivados, quanto maior a quantidade de sólidos totais, melhor o rendimento deste leite para a indústria de laticínios. O Extrato Seco Desengordurado (ESD) reflete o mesmo comportamento, uma vez que esta variável é obtida pela diferença entre o EST e o teor de gordura, que deve ser no mínimo de 3%.

Não foram detectados resíduos antimicrobianos nas amostras de leite cru pelo [kit] *BetaStar® 250*. A regulamentação nacional (BRASIL, 2002), determina que a pesquisa de resíduos de antimicrobianos deva ser realizada pelo menos uma vez ao mês, devendo seguir os limites máximos de resíduos (LMR) previstos na Instrução Normativa 42 (BRASIL, 1999).

Em trabalho realizado por Nero et al. (2007) para avaliar a presença de resíduos de antibióticos em leite cru em quatro regiões leiteiras (Viçosa-MG, Pelotas-RS, Londrina-PR, Botucatu-SP) em amostras de leite cru coletadas dos tanques resfriadores, constataram resíduos de antibióticos nas amostras de leite cru analisadas. Essas substâncias foram detectadas em 24 amostras (11,4%), sendo mais frequentes nas amostras da região de Londrina – PR, com 13 amostras (20,6%) contaminadas. Nas demais regiões, resíduos de antibióticos foram detectados em quatro amostras (8,0%) da região de Botucatu-SP, quatro (8,5%) da região de Viçosa-MG, e três (6,0%) da região de

Pelotas-RS. Os resultados obtidos neste estudo sugerem problemas em relação à utilização de antibióticos em animais em lactação, indicando o não cumprimento da legislação e a não observância do período de carência do antibiótico utilizado.

Rodrigues et al. (2012) realizaram levantamento para estabelecer a ocorrência de resíduos de antibióticos em leite cru na região dos Campos Gerais no estado do Paraná no período de implantação e pós-implantação da política de pagamento quanto ao requisito ausência de inibidor. Coletaram amostras de 400 produtores de leite no período de 2005, ano da implantação da política de incentivo à qualidade da produção leiteira, até o ano de 2010. Os dados obtidos demonstraram que a frequência de aparecimento de resíduos de antibióticos foi pequena na produção leiteira dos produtores inseridos no programa de incentivo à qualidade. O levantamento mostrou que a ocorrência de amostras positivas decaiu sensivelmente. Os resultados do número de amostras positivas e a frequência de aparecimento de resíduos de antibióticos em 2005 35 (0,12%); 2006 29 (0,10%); 2007 29 (0,10%); 2008 27 (0,09%); 2009 23 (0,07%); e 2010 12 (0,04%). Concluíram que a estratégia de pagamento contribuiu para a melhoria da qualidade do leite na região, além da implementação de diversas ações corretivas e preventivas, principalmente no manejo, foram adotadas através de esclarecimentos ao produtor. Os autores concluíram que há a necessidade de criação de políticas que incentivem a produção de leite de qualidade nas diversas regiões do país.

4.4. ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE LEITE CRU REFRIGERADO DOS TANQUES PERTENCENTES A QUATRO COMUNIDADES RURAIS

Considerando o limite de $6,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ de Contagem Bacteriana Total (CBT) em leite cru refrigerado (BRASIL, 2011), observou-se que as amostras de leite dos tanques 1 e 3 estavam em conformidade com a legislação vigente, e as amostras de leite dos tanques 2 e 4 (Tabela 6) apresentaram contagem superior aos valores estabelecidos pela IN 62 (BRASIL, 2011), para leite cru refrigerado. Estes resultados indicaram deficiência nos métodos de higiene empregados na produção, e contribuíram

para o aumento do número de mesófilos aeróbios.

Tabela 6. Valores médios da Contagem Bacteriana Total (CBT) expressos em UFC.mL⁻¹ de amostras de leite cru de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012

Amostras de leite	Contagem Bacteriana Total (UFC.mL ⁻¹)			
	Tanque	Coleta 1	Coleta 2	Valor médio
1		6,2x10 ⁵	5,1x10 ⁵	5,7x10 ⁵
2		1,3x10 ⁶	3,8x10 ⁶	2,6x10 ⁶ *
3		1,4x10 ⁵	1,7x10 ⁵	1,6x10 ⁵
4		3,7x10 ⁶	1,2x10 ⁶	2,5 x10 ⁶ *

* Não conformidade com a Instrução Normativa Nº 62 de 29/12/2011 (BRASIL, 2011).

Citadin et al. (2009), ao analisarem amostras de leite cru refrigerado provenientes de 31 propriedades leiteiras no município de Marechal Cândido Rondon-PR, constataram os seguintes resultados: 25,8% (CBT), 19,35% (para coliformes a 35 °C) e 58,06% possuíam coliformes termotolerantes. Os autores verificaram que os valores encontrados estavam acima do padrão vigente pela legislação da época. Esses resultados são indicativos que em todas as propriedades rurais ocorreram negligências nos procedimentos de higiene e limpeza.

Em amostras de leite cru, Nero et al. (2005) também constataram incidência elevada (48,6%) de amostras que apresentaram contagens de CBT acima do determinado pela IN 51/2002, evidenciando dificuldades dos produtores em adequação às normas estabelecidas.

Silva et al. (2010) determinaram os principais pontos de contaminação microbiológica do leite durante a ordenha em seis propriedades leiteiras e em um resfriador comunitário no Agreste Pernambucano entre agosto e setembro de 2005. As amostras de leite coletadas do resfriador comunitário, no início da refrigeração, apresentaram contagens de aeróbios mesófilos médias de 6,1x 10⁷ UFC.mL⁻¹ e de psicotróficos de 3,4x10⁷ UFC.mL⁻¹. Após 24 horas de refrigeração foi observado um aumento nas contagens para 4,5x10¹⁰ UFC.mL⁻¹ e 7,3x10⁸ UFC.mL⁻¹, e a presença de peróxido de hidrogênio identificada em duas (18,2%) amostras de leite significa que as contagens poderiam ser

superiores às observadas. Constataram a baixa qualidade microbiológica do leite indicada pelas altas contagens dos grupos de microrganismos pesquisados

Da mesma forma, Dürr et al. (2006) também encontraram valores elevados, $3,94 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ a $1,43 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, de Contagem Bacteriana Total em amostras de leite cru refrigerado de tanques do Estado do Rio Grande do Sul, durante o período de julho de 2005 a junho de 2006.

Winck e Neto, (2009) ao avaliarem o perfil de 166 produtores catarinenses quanto à utilização de técnicas de manejo e de equipamentos para ordenha e refrigeração do leite e a adequação das propriedades leiteiras à IN 51, em termos de CBT e CCS, observaram que o percentual de não conformidade para CBT (acima de 1.000.000 UFC.mL⁻¹ de leite) foi de 73,1%. E que o problema persistia na maioria das propriedades, sendo que menos de 10% se adequaram completamente à Normativa.

Estes resultados apontam para a necessidade de esforços em todos os setores envolvidos com a cadeia produtiva, visando à diminuição da contaminação bacteriana do leite, visto que, a dificuldade de adequação a IN 51 pode levar ao abandono da atividade por parte desses produtores.

Os valores das contagens médias de microrganismos psicrotróficos neste trabalho variaram de $2,2 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ a $1,5 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹ e estão apresentados na Tabela 7. A atual legislação não estabelece limite para esse tipo de contagem, mas Cousin (1982) preconiza que a contagem de bactérias psicrotróficas não deve ser superior a 10% da contagem de CBT. O percentual encontrado no tanque 2 foi de 58,25%, valor muito superior pelo referido pelo autor.

Observou-se que não houve diferença, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey, entre os tanques 1, 2 e 4, havendo somente diferença estatística entre o Tanque 3 e o tanque 2 (Tabela 7).

Tabela 7. Valores médios da contagem de bactérias psicrotróficas expressas em UFC.mL⁻¹ de amostras de leite cru de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012

Amostras de leite Tanque	Contagem de bactérias psicrotróficas (UFC.mL ⁻¹)	
	Valor médio	Comparações
2	1,5x10 ⁶	A
4	3,6x10 ⁵	AB
1	3,6x10 ⁵	AB
3	2,2x10 ⁵	B

* Não exigido pela Instrução Normativa Nº 62 (BRASIL, 2011);

** Pares de médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Nörnberg et al. (2009), ao realizarem contagens médias de bactérias psicrotróficas e atividade proteolítica de amostras de leite cru refrigerado obtida de dois laticínios, obtiveram resultados de 6,0 e 6,5 log UFC.mL⁻¹. Esses resultados foram similares as descritas por Pinto et al. (2006) que encontraram contagens médias de 6,0 log UFC.mL⁻¹ no leite cru refrigerado.

Pinto et al. (2006) consideram que contagens de psicrotróficos a partir de 1x10⁵ a 5x10⁵ UFC.mL⁻¹ já são suficientes para promover alterações significativas em derivados de leite e neste trabalho foram encontrados valores similares.

A Instrução Normativa nº 62 não estabelece uma contagem máxima tolerável de psicrotróficos no leite cru, no entanto se considere a quantidade de 10⁶ UFC.mL⁻¹ excessiva e deteriorante do leite procedentes de vacas leiteiras (BRASIL, 2003).

Contagens acima de 6,0 log UFC.mL⁻¹ sugerem produção de enzimas termoresistentes responsáveis pela perda de qualidade dos produtos lácteos, causando alterações de sabores e odores estranhos no leite, geleificação do leite UHT e desenvolvimento de sabor amargo, apresentação de sabor residual no leite pasteurizado e perda de consistência do coágulo para fabricação de queijo. Os resultados neste estudo apresentaram o valor mínimo de 5,3 log UFC.mL⁻¹ no tanque 3 e 6,1 log UFC.mL⁻¹ no tanque 2.

A contaminação por psicrotróficos na origem e nos produtos lácteos ocorre principalmente em função do suprimento de água de baixa qualidade e

deficiências nos procedimentos de higiene e mastite (MURPHY, BOOR, 2000).

O desenvolvimento de bactérias psicotróficas ocorre especialmente em condições inadequadas de refrigeração, com variação de temperaturas entre 7 e 10 °C (CHAMBERS, 2002; SØRHAUG, STEPANIAK, 1997).

Esses microrganismos possuem a capacidade de multiplicação em temperaturas de refrigeração e tendem a tornar-se a microbiota predominante em leite cru refrigerado (ENEROTH et al., 2000; FOX, KELLY, 2006). É importante verificar a presença desses microrganismos no leite cru para avaliar a qualidade higiênica, o período de estocagem e o seu destino tecnológico (ALVES, 2006).

Neste trabalho observou-se que em 100% das amostras analisadas de leite cru refrigerado em tanques comunitários houve crescimento de colônias semelhantes a *Staphylococcus* spp., e os valores médios podem ser observados na Tabela 8. Ao observar a contagem média de *Staphylococcus* spp., verificou-se que houve uma variação de $3,3 \times 10^4$ UFC.mL⁻¹ a $2,3 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, ainda não foram estabelecidos os critérios microbiológicos e as tolerâncias para microrganismos das espécies de *Staphylococcus*. Mas as falhas observadas nos processos de higienização de utensílios e equipamentos e manipulação, bem como a não observação dos procedimentos de ordenha, na lavagem das mãos dos ordenhadores pode ser importante veiculador de tais microrganismos.

Ao analisar os dados da Tabela 8, verifica-se que não há diferenças ao nível de 5% pelo teste de Tukey nos tanques 1, 3 e 4, diferindo estes tanques dos resultados encontrados no Tanque 2.

Tabela 8. Contagem média de *Staphylococcus* spp. em leite cru refrigerado de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012

Amostras de leite	Contagem de bactérias <i>Staphylococcus</i> spp. (UFC.mL ⁻¹)		
	Tanque	Valor médio	Comparações
2		9,1x10 ⁵	A
4		1,8x10 ⁵	B
1		4,8x10 ⁴	B
3		3,3x10 ⁴	B

*Não exigido pela Instrução Normativa nº62 (Brasil, 2011);

** Pares de médias seguidas de pelo menos uma mesma letra não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Lamaita et al. (2005) analisaram amostras de leite cru refrigerado a 4 °C e estocado por 48 horas em tanques refrigeradores de propriedades rurais em Minas Gerais quanto à contagem e identificação de *Staphylococcus* sp. e detecção de enterotoxinas estafilocócicas (SE) e da toxina da síndrome do choque tóxico (TSST-1). *Staphylococcus* sp. foi detectado em 100% das amostras de leite com contagens que variaram de 1,0x10⁵ a 2,5x10⁷ UFC.mL⁻¹. Isso pode ser explicado pela diversificação de sistemas de produção e de manejos utilizados pelos produtores, o que leva à maior ou menor contaminação do leite por *Staphylococcus* sp. devido à mastite e/ou por contaminação de retireiros portadores assintomáticos.

Santana et al. (2006) detectaram *Estafilococos* coagulase positiva (ECP) em 101 amostras de leite cru das regiões de Pelotas/RS e Londrina/PR, sendo que 19 (18,8%) apresentaram contagens acima de 10⁵ UFC.mL⁻¹.

Os resultados da contagem média de coliformes totais encontram-se na Tabela 9. A presença de coliformes totais foi detectada em todas as amostras do leite cru refrigerado, provenientes dos tanques comunitários avaliados, e apresentaram contagens que variaram de 2,4x10⁴ a 1,5x10⁵ UFC.mL⁻¹.

Tabela 9. Contagem média de Coliformes Totais em leite cru refrigerado de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012

Amostras de leite	Contagem de bactérias Coliformes totais (UFC.mL ⁻¹)			
	Tanque	Coleta 1	Coleta 2	Valor médio
1		3,7x10 ⁴	1,2x10 ⁴	2,4x10 ⁴
2		6,6x10 ⁴	9,2x10 ⁴	7,9x10 ⁴
3		1,8x10 ⁴	1,4x10 ⁵	8,3x10 ⁴
4		2,4x10 ⁴	2,8x10 ⁵	1,5x10 ⁵

* Não exigido pela Instrução Normativa nº 62 (BRASIL, 2011).

A contaminação do leite por bactérias do grupo coliformes indica a falta de higiene e de sanitização do estábulo, dos colaboradores e dos animais, evidenciando a necessidade de reavaliar os procedimentos adotados pelos produtores rurais (SILVA et al., 2010a).

Esses microrganismos não são representativos como indicadores de contaminação fecal, entretanto, tais bactérias geralmente são contaminantes ambientais, e sua contagem elevada indica falhas na qualidade higiênico-sanitária do produto (SILVA et al., 2005).

Melo et al. (2010) verificaram a qualidade microbiológica de leite cru coletados em quatro fazendas no município de Major Isidoro-Al. As amostras foram submetidas à contagens de microrganismos mesófilos, e determinação do número mais provável de coliformes (NMP). Dos resultados obtidos, observaram que as amostras de coliformes fecais das duas fazendas apresentaram valores de até 2,3x10 NMP.mL⁻¹. E contagens de mesófilos acima de 1,8x10⁵ UFC.mL⁻¹, valores estes que variaram entre 1,8x 10⁵ UFC.mL⁻¹ a 2,2 x 10⁶ UFC.mL⁻¹ onde o limite máximo permitido pelos padrões do Ministério da Saúde é de 1,0x10⁶ UFC.mL⁻¹. Portanto, a qualidade microbiológica do leite produzido na região leiteira de Major Isidoro apresentou aspecto preocupante já que obtiveram quantidades de coliformes e bactérias mesófilas acima do permitido pelas normas vigentes.

Silva et al. (2010) avaliaram a qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em Umuarama (Paraná), mediante quantificação de *Pseudomonas* spp., de coliformes totais e termotolerantes em amostras de leite cru

provenientes da Associação de Produtores. E verificaram contagens elevadas de coliformes totais e coliformes termotolerantes, indicando inadequação higiênico-sanitária das amostras de leite avaliadas.

A presença de coliformes acima de 10^3 NMP.mL⁻¹ é considerado um indicativo de falhas de higiene na obtenção do produto, e contagens elevadas de coliformes a 35°C no alimento pode ser indicativo de presença de bactérias como *Klebsiella*, *Serratia*, *Salmonella*, *Proteus*, *Citrobacter*, dentre outras, responsáveis por causarem quadros de gastroenterites (CITADIN et al., 2009).

As contagens médias de *Escherichia coli* encontradas nos Tanques 2,3 e 4 variaram de $5,0 \times 10^2$ UFC.mL⁻¹ a $1,7 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ (Tabela 10), resultados estes que caracterizaram falhas na obtenção do leite e conseqüentemente faz deste leite um alimento impróprio para o consumo.

Tabela 10. Contagem média de *Escherichia coli* em leite cru refrigerado de quatro tanques de refrigeração e pertencentes a quatro comunidades rurais. Alegre, 2012

Amostras de leite	Contagem de bactérias <i>Escherichia coli</i> (UFC.mL ⁻¹)			
	Tanque	Coleta 1	Coleta 2	Conformidade
1		**	**	**
2		**	$1,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$
3		$5,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^3$	$4,7 \times 10^3$
4		$2,7 \times 10^3$	$3,4 \times 10^5$	$1,7 \times 10^5$

* Não citado na Instrução Normativa Nº 62 de 29/12/2011 (BRASIL, 2011);

** Não detectado.

Catão e Ceballos (2001) analisaram 45 amostras de leite cru no estado da Paraíba e constataram que todas as amostras apresentaram elevada incidência de coliformes a 35 °C, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, o que comprova a elevada contaminação da matéria-prima.

A presença de bactérias patogênicas no leite cru é uma preocupação de saúde pública, pois é um risco em potencial para quem o consome *in natura* ou na forma de seus derivados, e também para os manipuladores.

A presença de *Escherichia coli* em leite é um indicador de que durante o processo de ordenha houve falhas de medidas higiênico-sanitárias e que durante o processo de obtenção, provavelmente o leite teve contato com fezes

contaminadas com este agente patogênico.

O leite cru contaminado poderá ser também fonte de contaminação cruzada para os produtos lácteos processados, resultante da contaminação do ambiente na indústria (ARCURI et al., 2006).

A qualidade microbiológica do leite pode ser comprometida devido às falhas higiênico-sanitárias durante o processo de ordenha, na limpeza de utensílios, equipamentos e na estocagem. O leite por ser um substrato que apresenta condições ideais para a multiplicação de microrganismos em curto intervalo de tempo favorece o desenvolvimento da microbiota presente, inclusive dos microrganismos patogênicos.

CONSIDERAÇÃO

Os resultados obtidos neste estudo apontaram para um foco principal a “EDUCAÇÃO” palavra de origem latina *E-ducere* que significa conduzir (ducere) para fora, e somente quando ela alcançar todos os agentes envolvidos no setor leiteiro é que serão quebrados os elos da ignorância. Então, os agentes serão conduzidos às mudanças necessárias para obtenção higiênica do leite e a manutenção de sua qualidade físico-química e microbiológica e, conseqüentemente, a melhoria do preço pago pelo leite e a inserção no mercado de um alimento de alto padrão de qualidade.

O estudo das características higiênicas das explorações demonstra que os produtores na sua maioria, não recorrem a práticas adequadas e favoráveis à obtenção de leite seguro. Assim, o setor produtivo deverá investir na melhoria das instalações como: construção de sala de ordenha, estrutura física adequada dos pontos de coleta e armazenamento de leite, aprimoramento do material humano e utilização de fontes de água de boa qualidade e seu conseqüente monitoramento - parâmetros que por si só poderão auxiliar muito a melhoria da qualidade do leite, não se esquecendo das boas práticas de manejo.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos (do levantamento realizado com os produtores, com os trabalhadores responsáveis pelos pontos de coleta do leite cru refrigerado e o das análises microbiológicas) sugerem a ocorrência de falhas no manejo higiênico-sanitário e na obtenção e estocagem do leite. Já as análises físico-químicas estão na conformidade com a legislação, assim:

Diagnóstico da produção de leite cru refrigerado – com os produtores

O baixo nível de escolaridade preponderou entre os produtores. Poucos realizavam o *pré-dipping* e o *pós-dipping*. Todos os equipamentos usados na ordenha eram higienizados, mas poucos utilizavam produtos sanitizantes. E poucos tiveram treinamento ou palestras sobre as normas instituídas pela IN 62.

Diagnóstico da coleta de leite cru refrigerado – com os trabalhadores dos pontos de coleta

Nenhuma instalação tinha proteção contra entrada de insetos e roedores, contaminantes ambientais. Elas eram mal dimensionadas, não permitiam a aplicação de medidas sanitárias adequadas. As condições higiênicas eram extremamente deficitárias e prejudicavam a manutenção da qualidade do leite.

Análises físico-químicas de leite cru refrigerado nos tanques pertencentes a quatro comunidades rurais

pH; Acidez; Densidade; Teor de Gordura e Extrato Seco apresentaram valores em conformidade com as normas estabelecidas pela Instrução Normativa nº 62, exceto o valor do pH que estava acima do padrão estipulado. E não foram encontrados resíduos de antimicrobianos nas amostras de leite cru.

Análises microbiológicas de leite cru refrigerado nos tanques pertencentes a quatro comunidades rurais

Houve presença em todos os tanques de *Staphylococcus* spp., bactérias psicrotróficas e coliformes. E presença de *Escherichia coli* nos tanques 2, 3 e 4, caracterizando falha na obtenção do leite, conseqüentemente tornando um alimento impróprio para o consumo.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L. R. **Leite e Derivados: Caracterização físico-química, qualidade e legislação.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2005.

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals.** 3rd ed. Washington: Pan American Health Organization, 2003. 3 v. (Scientific and Technical Publication, 580).

ALMEIDA, R. F. C.; SOARES, C. O.; ARAUJO, F. R. **Brucelose e Tuberculose Bovina: epidemiologia, controle e diagnóstico.** Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2004.

ALVES, C. **Efeito de variações sazonais na qualidade do leite cru refrigerado de duas propriedades de Minas Gerais.** [S.l.: s.n.], 2006.

ALVES, A.; MARINHO, C.; ABREU, V.; BARROS, K. M. Boletim Setorial do Agronegócio - **Bovinocultura leiteira.** Recife: SEBRAE, 2010, 28p.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Programa Nacional de Análise de Resíduos de Medicamentos Veterinários em Alimentos Expostos ao Consumo PAMVet.** Brasília, 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/alimentos/pamvet/pamvet.pdf>>. Acesso em: 16 nov. 2012.

APHA-AWWA-WPCF. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4nd ed. American Public Health Association, Washington, DC, 2001.

ARAÚJO, M. M. P.; ALVES, P. D. D.; BARBOSA, F. H. F.; ROSA, C. A. Qualidade higiênico-sanitária do leite e da água de algumas propriedades da bacia leiteira do município de Luz – MG. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 2, n. 2, p.154-171, 2009.

ARCURI, E. F.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; PINTO, S. M.; ÂNGELO, F. F.; SOUZA, G. N. Qualidade Microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 3, p. 440-446, 2006.

ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L. S.; BRITO, M. A. V. P.; BRITO, J. R. F.; LANGE, C. C.; MAGALHÃES, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrófilas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 8, p. 2250-2255, nov. 2008.

BEER, J. **Doenças Infeciosas em Animais Domésticos.** São Paulo: Roca, 1988, 380 p.

BEHMER, M. L. A. **Tecnologia do Leite.** 15 ed. São Paulo: Nobel, 1991.

BOLETIM SELITA. **Boletim informativo da Cooperativa de Laticínios Selita.** Ano LXII – Dezembro de 2012 – nº 749.

BRABANDER, H. F.; NOPPE, H.; VERHEYDEN, K.; BUSSCHE, J. V.; WILLE, K.; OKERMAN, L.; VANHAECKE, L.; REYBROECK, W.; OOGHE, S.; CROUBELS, S. Residue analysis: Future trends from a historical perspective. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 1327964-7976, 2009.

BRASIL. Instrução Normativa nº 42 de 20 de dezembro de 1999. Plano nacional de controle de resíduos em produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] União**, Brasília: MAPA, 1999. Seção 1, p. 213.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal. Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, n. 172, p. 8-13, 20 set. 2002 Seção I.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 22, de 14 de abril de 2003 do **Diário Oficial [da] União**. Brasília: 2 maio 2003. Edição Número 83, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Decreto nº 30.691 de 29/03/1952 e alterado pela última vez pelo Decreto nº 6.385, de 27 de fevereiro de 2008. Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal - RIISPOA. **Diário Oficial da União**. Brasília, p. 10785, 27 fev. 2008. Seção 1.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Vigilância em Saúde Ambiental. Portaria n. 2.914/2011, **Diário Oficial [da] União**, Brasília, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 30 dez. 2011. Seção 1, p. 6.

BRITO, M. A. V. P.; LANGE, C. C. **Resíduos de antibióticos no leite**. Juiz de Fora: Embrapa, 2005. 4p. (Comunicado Técnico 44).

BRITO, A. S.; NOBRE, F. V.; FONSECA, J. R. R. (Orgs.). **Bovinocultura leiteira: informações técnicas e de gestão**. Natal: SEBRAE/RN, p. 320, 2009.

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

BURCHARD, J. F.; BLOCK, E. Nutrição de vacas leiteiras e composição do leite. In: I SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 1., 1998, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da raça Holandesa/Universidade Federal Paraná, 1998. P. 16-19.

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

CASTRO, V. S., NASCIMENTO, V. L. V., OLIVEIRA, D. S. V., SOARES, M. J. S. Pesquisa de Coliformes e *Staphylococcus* coagulase positivo em queijo minas frescal comercializado em Teresina – PI. In: Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte Nordeste de Educação Tecnológica, 2. 2007, João Pessoa. **Anais...** Trabalho apresentado ao 2º Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. João Pessoa, PB, 2007. p. 1-9.

CASTRO, K. G.; et al. Tuberculose bovina: diagnóstico, controle e

profilaxia. **PUBVET**. Londrina. v. 3, n. 30, Ed. 91, Art. 648. 2009.

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. *Listeria ssp*, coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli* no leite cru e pasteurizado de uma industria de laticínios, no estado da Paraíba (BR). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 3, p. 281-287, 2001.

CENAGRI, **Curso de Bovinocultura Leiteira, normas Técnicas**. Brasilia, CENAGRI, 2004.

CHAMBERS, J. V. The microbiology of raw milk. In: ROBINSON, R. K. **Dairy Microbiology Handbook**. 3rd ed. New York: John Willey and Sons Inc., 2002. p. 39-90.

CITADIN, A. S.; POZZA, M. S. S.; POZZA, P. C.; NUNES, R. V.; BORSATTI, L.; MANGONI, J. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e fatores associados. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal** v.10, n.1, p.52-59, jan./mar. 2009.

COLLINS, E. B. Heat resistant psychrotrophic microorganism. **Journal Dairy Science**, v. 64, p. 157-160, 1981.

CORRÊA, W. M.; CORRÊA, C. N. M. **Enfermidades Infecciosas dos Mamíferos Domésticos**. 2. ed. São Paulo: MEDSI. Médica e Científica Ltda, 1992. 317 p. A335.

COUSIN, M. A. Presence and activity of Psychrotrophic bacteria in South East Queensland dairy products. **The Australian Journal of Dairy Technology**. v. 37, p. 147, 1982.

CRAWFORD, R. P.; Huber, J. D.; ADAMS, B. S. Epidemiology and surveillance. In: Nielsen K, Duncan JR (Ed.). **Animal Brucellosis**. Boca Raton: CRC Press, 1990. p.131-151.

DÜRR, J. W.; MORO, D.V.; RHEINHEIMER, V.; TOMAZI, T. **Estado atual da qualidade do leite no Rio Grande do Sul**. In: MESQUITA, A. J.; DÜRR, J. W.;

ENEROTH, A et al. Contamination routes of Gram-negative spoilage bacteria in the production of pasteurized milk evaluated by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD). **International Dairy Journal**, v.10, p. 325-331, 2000.

ENGLERT, S. I. Avicultura: tudo sobre raças, manejo, alimentação e sanidade. **Revista Avicultura**. 4. ed. Porto Alegre, RS: Livraria e Editora Agropecuária, 1982.

ESPÍRITO SANTO. Secretaria da Agricultura, Abastecimento, Aquicultura e Pesca (SEAG). Estudo Setorial: Pecuária de Leite. **Plano Estratégico de Desenvolvimento da Agricultura Capixaba – Novo Pedagog 2007**. Vitória, 2007. Disponível em: <[http://www.seag.es.gov/pedagog/setores/pecuaria de leite.pdf](http://www.seag.es.gov/pedagog/setores/pecuaria_de_leite.pdf)>. Acesso em: 20 out. 2012.

FAO e IDF. 2013. **Guia de boas práticas na pecuária de leite**. Produção e Saúde Animal Diretrizes. 8. Roma.

FAO - **Perspectivas alimentarias**, junio 2011. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/014/al978s/al978s00.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2013.

FAVERO, V. V.; SPIRITO, M. F.; ZAPPA, V. Brucelose bovina. XI Simpósio de

- Ciências Aplicadas da FAEF. **Anais...** Garça: FAEF. p. 131-134. vol 01, 2008.
- FONSECA, L. F. L.; SANTOS, M. V. **Qualidade do leite e controle de mastite.** São Paulo: Lemos Editorial, 2000.175 p.
- FOX, P. F., KELLY, A. L. 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects. **International Dairy Journal.** 16: 500-516.
- FRANCO, B., MELO, D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Atheneu, 2008.
- GALVÃO JÚNIOR, J. G. B.; RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS, H. R.; SILVA, J. B. A.; AGUIAR, E. M.; MADRUGA, R. C.; LIMA JÚNIOR, D. M. Efeito da produção diária e da ordem de parto na composição físico-química do leite de vacas de raças zebuínas. **Acta Veterinaria Brasilica,** v. 4, n.1, p. 25-30, 2010.
- GIACOMETTI, F. ; SERRAINO, A.; FINAZZI, G.; DAMINELLI, P.; LOSIO, M.N.; NORMA ARRIGONI, N.; PIVA, S.; FLORIO, D.; RIU, R.; ZANONI, R.G. Sale of Raw Milk in Northern Italy: Food Safety Implications and Comparison of Different Analytical Methodologies for Detection of Foodborne Pathogens. **Foodborne Pathogens and Disease.** v. 9, n. 4, p. 293-297, 2012.
- GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G. C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A. S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciênc. Agrotec.,** v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.
- GUIMARÃES, R. Importância da matéria-prima para a qualidade do leite fluido de consumo. **Higiene Alimentar,** v. 16, p. 25-34, 2002.
- GUIMARÃES F. F.; LANGONI, H. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para saúde pública. **Vet. Zootec.** 16: p. 38-51. 2009
- HARMON, R. Somatic cell counts: myths vs reality. In: NATIONAL MASTITIS COUNCIL REGIONAL MEETING, 1998. Bellevue. **Proceedings...** 1998. p.40-50.
- HEMME, T; OTTE, J. **Status and prospects for smallholder milk production – A global perspective.** Food and Agriculture Organization (FAO) of The United Nations, Rome, 2010.
- HILL, B.; SMYTHE, B.; LINDSAY, D.; SHEPHERD, J. Microbiology of raw milk in New Zealand. **International Journal of Food Microbiology,** v. 2, p. 305–308, 2012.
- IBGE. **Censo Agropecuário 2006** (resultados preliminares), Rio de Janeiro, IBGE, 2007, 142 p.
- IBGE. Sala de Imprensa, notícias, PPM 2011: **rebanho bovino.** Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2011/default.shtm>> Acesso: outubro 2012.
- IBGE. **Pesquisa da Pecuária Municipal e Censo Agropecuário.** SIDRA. Disponível em <[http:// www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br)> Acesso: novembro 2012.
- IBGE. **Censo Demográfico de 2010.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: dez. 2012.

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL (INCAPER). **Produção de Leite a Pasto 2011**. 3. ed. Vitória, ES, ago. 2011. (Documento nº 129).

INSTITUTO CAPIXABA DE PESQUISA, ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL (INCAPER). **Programa de Assistência Técnica e Extensão Rural 2011**. Alegre, 2011.

INSTITUTO DE DEFESA AGROPECUÁRIA E FLORESTAL DO ESPÍRITO SANTO (IDAF). **Relatório Anual de Bovinos Cadastrados no Município de Alegre-ES/2012**. Alegre, 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos**. Tradução de Eduardo César Tondo [et al.]. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6. ed. São Paulo: Manole, 2000. p. 499-507.

KHAN, S. A.; SILVA, R. M. L. Capital social das comunidades beneficiadas pelo Programa de Combate à Pobreza Rural – PCPR/Projeto São José – PSJ – Estado do Ceará. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Rio de Janeiro, v. 43, n. 1, p. 101-117, 2005.

KITCHEN, B. J. Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. **Journal Dairy Research**, v. 48, n.1, p.167-188,1981.

LAMAITA, H. C. Contagem de *Staphylococcus sp* e detecção de enterotoxinas estafilocócicas e toxina da síndrome do choque tóxico em amostras de leite cru refrigerado. **Arquivos Brasileiros de Méd. Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 5, p. 702-709, out. 2005.

LANGONI, H.; SILVA, A. V. da; CABRAL, K. G.; DOMINGUES, P. F. Aspectos etiológicos na mastite bovina: flora bacteriana aeróbica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária**, v. 20, p. 204-209, 1998.

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

LERCHE, M. **Inspección veterinária de la Leche**. Zaragoza: Acribia, 1969. 375 p.

LORENZETTI, D. K. **Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicotróficos no leite cru de dois estados da região sul**. 2006. 71 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 2006.

MACEDO, M. C. M. Recuperação de áreas degradadas: pastagens e cultivos intensivos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS DO SOLO, 7, Goiânia, 1993. **Anais...** Goiânia: SBSC, 1993. p. 71-72.

MACEDO, M. C. M.; ZIMMER, A. H. Sistema pasto-lavoura e seus efeitos na produtividade agropecuária. In Favoretto, V.; Rodrigues, L. R. A.; Reis, R. A. (eds.). SIMPÓSIO SOBRE ECOSSISTEMAS DE PASTAGENS, 2, 1993, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FUNEP, UNESP, 1993. p. 216-245.

- MARQUES, M. S.; COELHO JUNIOR, L. B.; SOARES, P. C. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo “C” processado no estado de Goiás. In: CON-GRESSO LATINO-AMERICANO 7.; BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2., 2005, Búzios. **Anais...** Búzios, 2005. v. 19, n. 130.
- MARTINS R. P., SILVA J. A. G., NAKAZATO L., DUTRA V. & ALMEIDA FILHO E. S. 2010. Prevalência e etiologia infecciosa da mastite bovina na microrregião de Cuiabá, MT. **Ciênc. Anim. Bras.** 11 (1):181-187.
- MAURIN, M.; RAOULT, D. (1999). Q fever. Clin. **Microbiol. Rev.** 12, 518-553.
- MELO, B., A; SANTOS, T., M., C.; MONTALDO, Y., C.; BARBOSA, Y., R., S.; MOURA, C., T., R. Aspectos microbiológicos de amostras de leite cru coletadas no município de Major Isidoro – ALAGOAS. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v. 5, n. 5, p. 1-5 (Numero Especial), dez. 2010.
- MENDES, M. H. A. F. **Produção higiênica do leite:** Boas práticas agrícolas. Brasília: UCB, 2006. 37 p. Monografia (Especialização em Higiene e inspeção de produtos de origem animal) – Universidade Castelo Branco, 2006.
- MORAES, P.M.; VIÇOSA, G.N.; YAMAZI, A.K.; ORTOLANI, M.B.; NERO, L. A. Foodborne pathogens and microbiological characteristics of raw milk soft cheese produced and on retail sale in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 6, n. 2, p. 245-249, 2009.
- MOURA, C. J. D.; ABREU, L. R.; FURTADO, M. M.; ROSSI, D. A.; CARVALHO, E. P.; PINTO, M. S. Efeito do Resfriamento e Inoculação de *Pseudomonas fluorescens* sobre a proteólise e lipólise do leite. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, MG, v. 54, n. 308, p. 17-23, 1999.
- MUIR, D. D. The microbiology of heat-treated fluid milk products. In: ---**Dairy Microbiology: The microbiology of milk**. 2nd ed. London/New York. Elsevier Science Ltda., 1996. p. 209-243.
- MURPHY F. C.; BOOR, K. J. 2000. Trouble-shooting sources and causes of high bacteria counts and in raw Milk. **Dairy, Food and Environmental Sanitation**, Iowa v. 20, p. 606-611.
- NERO, L. A. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, n. 1, p. 191-195, 2005.
- NERO, L. A.; MATTOS, M. R.; BELOTI, V. et al. Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 2, p. 391-393, 2007.
- NÖRNBERG, M. F. B. L.; TONDO, E. C.; BRANDELLI, A. Bactérias psicrófilas e atividade proteolítica no leite cru refrigerado. **Acta Scientia Veterinaria**, v. 37, n. 2, p.157-163, 2009.
- NORO, G.; GONZÁLEZ, F. H. D.; CAMPOS, R.; DÜRR, J. W. Fatores ambientais que afetam a produção e a composição do leite em rebanhos assistidos por cooperativas no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 35, n. 3, p. 1129-1135, 2006 (supl.).

- OLIVEIRA, C. J. B.; LOPES JÚNIOR, W. D.; QUEIROGA, R. C. R. E.; GIVISIEZ, P. E. N.; AZEVEDO, P. S.; PEREIRA, W. E.; GEBREYES, W. A. Risk factors associated with selected indicators of milk quality in semiarid northeastern Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 3166-3175, 2011.
- ORTOLANI, M. B.; YAMAZI, A. K.; MORAES, P. M.; VIÇOSA, G. N.; NERO, L. A. Microbiological quality and safety of raw milk and soft cheese and detection of autochthonous lactic acid bacteria with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, and *Staphylococcus aureus*. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 7, n. 2, p.175-80, 2010.
- PEREIRA, A. R. et al. Efeito do nível de células somáticas sobre os constituintes do leite: I- gordura e proteína. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo , v. 36, n. 3, 1999;
- PINTO, C. L. O.; LOPES, M. M.; MORAES, C. A.; VANETTI, M. C. D. Potencial Deteriorador de bactérias psicrotróficas Gram-negativas isoladas de leite cru refrigerado. In: XX Congresso Nacional de Laticínios, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora ILCT, v. 58, p.49-54, 2003.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade Microbiológica de Leite Cru Refrigerado e Isolamento de Bactérias Psicrotróficas Proteolíticas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 26 (3): p. 645-651, jul./set. 2006.
- PONTES NETTO, D.; LOPES, M. O.; OLIVEIRA, M. C. S.; NUNES, M. P.; MACHINSKI JUNIOR, M.; BOSQUIROLI, S. L.; BENATTO, A.; BENINI, BOMBARDELLI, A. L. C.; VEDOVELLO FILHO, D.; MACHADO, E.; BELMONTE, I. L.; ALBERTON, M.; PEDROSO, P. P.; SCUCATO, E. S. Levantamento dos principais fármacos utilizados no rebanho leiteiro do Estado do Paraná. **Acta Scientiarum**. Animal Sciences, Maringá, v. 27, n. 1, p. 145-151, 2005.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica Veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos e equinos**. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. p. 817-827.
- RAOULT, D.; TISSOT-DUPONT, H.; FOUCAULT, C. et al. Q fever 1985-1998. Clinical and epidemiologic features of 1.383 infections. **Medicine** (Baltimore) 2000; 79 (2):109-123.
- RANGEL, A. H. N.; MEDEIROS, H. R.; SILVA, J. B.; BARRETO, M. L. J.; LIMA JÚNIOR, D. M. Correlação entre a contagem de células somáticas (CCS) e o teor de gordura, proteína, lactose e extrato seco desengordurado do leite. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável** v. 4, n. 3, p. 57-60. 2009.
- RIBEIRO, A. B.; GUILHERMINO, M. M.; TINOCO, A. F. F. 2008. Efeito dos genótipos e da ordem de parto na qualidade do leite de vacas das raças Gir e Guzerá. In: Congresso Nordeste de Produção Animal, 5., 2008, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Universidade Federal de Sergipe, 2008.
- RIBEIRO, M. G. et al. Microrganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 29, n. 1, p. 52-58, 2009.

RICHTER, R. L. Cooling milk and cleaning equipment. In: VAN HORN, H. H., WILCOX, CL J. Large dairy herd 105management. Champaign: **American Dairy Science Association**, 1992. p. 525-529.

RODRIGUES, M. X.; DALL'AGNOL, L.; BITTENCOURT, J., V., M. Levantamento da Ocorrência de Resíduos de Antibióticos em Leite Cru Produzido na Região dos Campos Gerais, Paraná. **UNOPAR Cient Ciênc Biol Saúde**, 2012; 14(4):237-40.

SAEG Sistema para Análises Estatísticas, Versão 9.1: Fundação Arthur Bernardes – Universidade Federal de Viçosa – Viçosa/MG, 2007.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; MORAES, L. B.; GUSMÃO, V. V.; PEREIRA, M. S. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção: microrganismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 2, p. 145-154, jul./dez. 2001.

SANTANA, E. H. W.; BELOTI, V.; OLIVEIRA, T. C. R. M.; MORAES, L. B.; TAMANINI, R.; SILVA, W. P. Estafilococos: morfologia das colônias, produção de coagulase e enterotoxina a, em amostras isoladas de leite cru refrigerado, **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. v. 27, n. 4, p. 639-646, out./dez. 2006.

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

SANTOS, M. V. (Docente); FONSECA, L.F.L. (Outro Participante): **Curso online** sobre Composição e Qualidade do Leite - novos enfoques. Módulo 3 - Identificação e controle de resíduos de antibióticos no leite.; 2004; Extensão; Docente; 01; Agripoint Ltda; Piracicaba - SP; BR; Hipertexto; Dia 05 de outubro de 2004.

SANTOS, M. V. Aspectos não microbiológicos afetando a qualidade do leite. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 1, 2004, Passo Fundo. **Anais...** Passo Fundo, 2004.

SANTOS, M. V.; FONSECA, L. F. L. **Estratégias para controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. 1. ed. Barueri: Editora Manole, 2006. 314 p.

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

SCALCO, A. R.; MACHADO, J. G. de C. F.; QUEIRÓZ, T. R. Gestão da qualidade em propriedades leiteiras. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 45, 2007, Tupã. **Anais eletrônicos...** Disponível em Acesso em: 12 de abr. 2010.

SCHÄELLIBAUM, M. Efeitos de altas contagens de células somáticas sobre a produção e qualidade de queijos. In: Simpósio Internacional sobre Qualidade do Leite, 2, 2000, Curitiba. **Anais...** Curitiba: CIETEP/FIEP, p. 21-26, 2000.

SERRA, M. J. B. **Qualidade microbiana e físico-química do leite cru produzido na região de Pardinho**, SP. 37 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, 2004.

SILVA, S. R. N. C. **Avaliação da qualidade físico-química do leite**

pasteurizado tipo “C” de um estabelecimento com certificação federal no estado do Maranhão. 2002. Monografia (Graduação) - Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2002.

SILVA JR., Eneo. **Manual de controle higiênico-sanitário de serviços de alimentação.** São Paulo: Livraria Varela, 6 ed., 2005.

SILVA, R. W. S. M. da; OLIVEIRA, J. C. P.; EGGLETON, C. M. J.; ECHEVARRIA, F.; PINHEIRO, A. da C. **Sistema de criação de bovinos de leite para a região Sudoeste do Rio Grande do Sul.** Embrapa pecuária Sul, n. 3. 2008.

SILVA, M. A. P.; SANTOS, P. A.; SILVA, J. W.; LEÃO, K. M.; OLIVEIRA, A. N.; NICOLAU, E. S.. Variação da qualidade do leite cru refrigerado em função do período do ano e do tipo de ordenha. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 1, 2010a.

SILVA, M., R.; SACANAVACCA, J.; GANDRA, T., K., V.; SEIXAS, F., A., V.; GANDRA, E., A. Avaliação higiênico-sanitária do leite produzido em Umuarama (Paraná). **B. Ceppa**, Curitiba, v. 28, n. 2, p. 271-280, jul./dez. 2010.

SILVA, L. C. C.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; D’OVIDIO, L.; MATTOS, M. R.; ARRUDA, A. M. C. T.; PIRES, E. M. F. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 267-276, jan./mar. 2011.

SØRHAUG, T.; STEPANIAK, L. Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: quality aspects. **Trends in Food Science and Technology**, Oxford, v. 8, p. 35 – 41, 1997.

TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, p.753-760, 2008.

TEIXEIRA, S. R.; RIBEIRO, M. T. Transporte do leite a granel. Embrapa gado de leite – **Instrução técnica para o produtor de leite.** Juiz de Fora, p. 2, 2006.

THOEN, C. O.; ENRIGHT, F.; CHEVILLE, N. F. Brucella. In: Gyles CL, THOEN C. O. (Ed.). **Pathogenesis of bacterial infections in animals.** 2nd ed. Ames: Iowa State University Press, 1993. p. 236-247.

TONDO, E. C.; LAKUS, F. R.; OLIVEIRA, F. A.; RANDELLI, A. 2004. Identification of heat stable protease of *Klebsiella oxystoca* isolated from raw milk. Letters in **Applied Microbiology**. 38: 146 – 150.

TRONCO, V. M. **Manual para inspeção da qualidade do leite.** 2. ed. Santa Maria: UFSM, 2003. 49 p.

VICENTE, R. J. Economic Efficiency of Agricultural Production in Brazil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 2, p. 201-222, 2004.

WALSTRA, P.; WOUTERS, J. T. M.; GEURTS, T. J. **Dairy Science and Technology.** Taylor e Francis Group, 2nd ed. 2006. 808 p.

WEAVER, J. C.; KROGER, M. Protein, casein, and noncasein protein percentages in milk with high somatic cell counts. **Journal of Dairy Science**, v. 60, n. 6, p. 878-881, 1977.

WINCK, C. A.; NETO, A. T. Diagnóstico da adequação de propriedades leiteiras em Santa Catarina às normas brasileiras de qualidade do leite. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v. 8, n. 2, p. 164-172, 2009.

ZAFALON, L. F.; ARCARO, J. R. P.; NADER FILHO, A.; FERREIRA, L. M.; VESCHI, J. L. A. *Staphylococcus aureus* portadores de genes de toxinas isolados em amostras de diferentes fontes de transmissão durante a ordenha. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 68, n. 2, p. 269-277, 2009.

APÊNDICE A. Questionário usado para verificação da realidade socioeconômica, produtiva e higiênico-sanitária das propriedades rurais

DIAGNÓSTICO DO MANEJO DA PECUÁRIA DE LEITE DOS AGRICULTORES FAMILIARES DO MUNICÍPIO DE ALEGRE-ES		
1.0 - Identificação do Pecuarista de Leite e da Propriedade:		
Nome: _____	CPF: _____	
Número de pessoas na família: <input type="checkbox"/>	Telefone: _____	Data: _____
Escolaridade:		
<input type="checkbox"/> Não letrado	<input type="checkbox"/> Primeiro grau incompleto	<input type="checkbox"/> Primeiro grau completo
<input type="checkbox"/> Segundo grau incompleto	<input type="checkbox"/> Segundo grau completo	<input type="checkbox"/> Superior completo
Nome da propriedade: _____	Energia elétrica: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Localização: _____	Coord. UTM 24K: _____	E e N
Distância da sede do município km: <input type="checkbox"/>	Asfalto: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Atividades formadoras de renda:		
Principal: _____	<input type="checkbox"/> (%) Secundária: _____	<input type="checkbox"/> (%) Outras <input type="checkbox"/> (%)
Número de pessoas envolvidas na atividade pecuária: _____		
Mão-de-obra familiar: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		
2.0- Informações da Atividade Leiteira:		
Raça predominante: _____	Grau de sangue: _____	
Produção total (L/ano): _____	Produção vaca/ano: _____	
Rebanho leiteiro - quantidade (Nº):		
<input type="checkbox"/> Vaca total	<input type="checkbox"/> Novilha de 1 a 2 anos	<input type="checkbox"/> Novilha de 2 a 3 anos
<input type="checkbox"/> Vaca seca	<input type="checkbox"/> Bezerra	<input type="checkbox"/> Touro
<input type="checkbox"/> Vaca no leite	<input type="checkbox"/> Bezerro	<input type="checkbox"/> Rufião
Destino do Leite comercializado:		
<input type="checkbox"/> Laticínio	Destino: _____	% <input type="checkbox"/> R\$/litro: _____
<input type="checkbox"/> Produção de queijo	Destino: _____	% <input type="checkbox"/> R\$/kg: _____
<input type="checkbox"/> Venda informal do leite <i>in natura</i>	Destino: _____	% <input type="checkbox"/> R\$/litro: _____
Percentual do leite de consumo familiar: <input type="checkbox"/>		
Percentual do leite para alimentação de bezerros: <input type="checkbox"/>		
3.0- Alimentação:		
3.1- Área total de pastagem: <input type="checkbox"/> há	Espécie forrageira predominante: _____	
3.2- Área de pastejo rotacionado: <input type="checkbox"/> há	Forrageira do pastejo rotacionado: _____	
Área de capineira/cana: <input type="checkbox"/> há	<input type="checkbox"/> % de cana	<input type="checkbox"/> % de capim elefante
<input type="checkbox"/> Nº de divisão de pastagem: _____	<input type="checkbox"/> Nº de bebedouros _____	<input type="checkbox"/> Nº saleiros _____
Arraçoamento: _____	<input type="checkbox"/> kg/cab/dia	<input type="checkbox"/> Frequência _____
Mineralização: g/cabeça <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> Frequência _____	
4.0- Reprodução:		
<input type="checkbox"/> Idade ao primeiro parto (meses): _____	<input type="checkbox"/> Peso ao 1ª parto (kg): _____	
<input type="checkbox"/> Intervalo de partos (meses): _____	<input type="checkbox"/> Período de lactação (dias): _____	
Inseminação artificial: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Sexado: <input type="checkbox"/>	
Utiliza rufião: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Utiliza IATF: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
<input type="checkbox"/> Monta Natural: _____	<input type="checkbox"/> Controlada _____	<input type="checkbox"/> Touro criado com as vacas _____
Origem do touro: _____	Raça: _____	<input type="checkbox"/> Nº vacas/touro: _____
Reposição do rebanho: <input type="checkbox"/> %	Tipo de cruzamento: _____	

Continua ...

APÊNDICE A, Continuação:

5.0- Instalações e Equipamentos:			
Área do curral: <input type="text"/> m ²	Cobertura: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		
Piso cimentado: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Cercado lateralmente a meia altura: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Arejado, sem ventos fortes: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Seco, limpo em nível elevado ou com ligeiro declive: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Isolado de pocilgas, currais e aviários: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
<input type="checkbox"/> Brete <input type="checkbox"/> Tronco <input type="checkbox"/> Embarcadouro <input type="checkbox"/> Bezerreiro			
Resfriador (volume - litros): <input type="text"/> <input type="checkbox"/> Próprio <input type="checkbox"/> Laticínio <input type="checkbox"/> Associação			
<input type="checkbox"/> Sala de ordenha:	Tipo de ordenhadeira: _____		
Isolado de pocilgas, currais e aviários <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
6.0- Sanidade:			
Vacinação: <input type="checkbox"/> Brucelose <input type="checkbox"/> Febre Aftosa <input type="checkbox"/> Leptospirose <input type="checkbox"/> Raiva			
<input type="checkbox"/> Paratifo <input type="checkbox"/> Botulismo <input type="checkbox"/> Carbúnculo			
Testes: <input type="checkbox"/> Brucelose <input type="checkbox"/> Tuberculose			
Vermifugação: Produto: _____	Frequência: _____	Época do ano: _____	
<input type="checkbox"/> Carrapaticida: Princípio ativo: _____	Frequência: _____	Época do ano: _____	
<input type="checkbox"/> Homeopatia/Fitoterapia: Composto bioativo: _____	Frequência: _____		
Controle de moscas: _____			
Procedimento de cura do umbigo: _____			
7.0- Higiene na Ordenha e Qualidade do Leite:			
Horário habitual da ordenha: _____	Nº de ordenha/dia: <input type="text"/>		
Tipo de ordenha: <input type="checkbox"/> Manual <input type="checkbox"/> Mecânica <input type="checkbox"/> Bezerro ao pé			
Alimenta o animal durante a ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Possui hábito de passar o rabo do animal no úbere e tetas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
A ordenha é conduzida sem interrupção: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
A ordenha é realizada de forma a esgotar por completo: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
A ordenha é realizada com o bezerro ao pé: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
O balde é de boca estreita: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
O leite é coado: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Tipo de coador: <input type="checkbox"/> Pano <input type="checkbox"/> Nylon <input type="checkbox"/> Inox			
Os vasilhames são exclusivos para ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Possui água na sala de ordenha/curral: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Faz controle de insetos e roedores: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Produto: _____		
Frequência: _____	Índice de mastite: <input type="text"/> %		
Forma de tratamento da mastite: _____	Período de carência: _____		
Realiza descarte do leite <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Tratamento vaca seca: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Utiliza hormônios (tipo somatotropina): <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não			
Realiza pré-dipping: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Realiza pós-dipping <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não		
Realiza CBT e CCS: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Local: _____		
Realiza teste da caneca telada: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Frequência: _____		
Realiza CMT <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Frequência: _____		
Forma de secagem dos tetos: <input type="checkbox"/> papel toalha <input type="checkbox"/> pano <input type="checkbox"/> outro <input type="checkbox"/> não seca			
Rejeição do leite: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	Frequência: _____		
Motivo: _____			
Forma de limpeza de equipamentos e utensílios: <input type="checkbox"/> Detergentes apropriados <input type="checkbox"/> Outros detergentes			
<input type="checkbox"/> Água morna <input type="checkbox"/> Água fria <input type="checkbox"/> Cloro <input type="checkbox"/> Outros			
Quais: _____			

APÊNDICE A, Continuação:

<p>8.0- Higienização do Ordenhador:</p> <p>Tem hábito de banhar-se antes da ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Mantém as unhas cortadas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Higieniza as mãos e braços antes da ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Utiliza roupa específica para ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Têm hábito de fumar durante a ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Têm hábito de cuspir e escarrar durante a ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Realiza exames periódicos para avaliar seu estado de saúde: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Frequência: _____</p>
<p>9.0- Recursos Hídricos e Meio Ambiente:</p> <p>Destino dos dejetos: _____</p> <p>Destino dos efluentes: _____</p> <p>Origem da água para dessedentação animal: _____</p> <p>Origem da água para higienização das instalações e equipamentos: _____</p> <p>Faz tratamento da água utilizada para: <input type="checkbox"/> uso animal <input type="checkbox"/> uso humano <input type="checkbox"/> Não faz</p> <p>Faz análise da água: <input type="checkbox"/> Química <input type="checkbox"/> Bacteriológica <input type="checkbox"/> Não faz</p> <p>Resultado: _____</p>
<p>10.0- Transporte:</p> <p>O leite é transportado em latões até o tanque resfriador: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Os latões são colocados a sombra: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Os latões são colocados sobre estrados de madeira: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Período de tempo após a ordenha até a entrega no resfriador: <input type="checkbox"/> Horas Frequência: _____</p> <p>O leite é transportado em caminhão isotérmico: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p>
<p>11.0- Organização Rural:</p> <p>Pertence a alguma organização: <input type="checkbox"/> Associação: <input type="checkbox"/> Cooperativa <input type="checkbox"/> Não pertence</p> <p><input type="checkbox"/> STR <input type="checkbox"/> SR</p>
<p>12.0- Assistência Técnica:</p> <p>Tipo de assistência técnica recebida: <input type="checkbox"/> Pública: <input type="checkbox"/> Privada:</p> <p><input type="checkbox"/> Representantes comerciais: <input type="checkbox"/> Não recebe</p> <p>Recebeu treinamento sobre as Instruções Normativas Nº 51 e Nº 62: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Instituição ministradora: _____</p> <p>Dificuldades para adoção da IN 51 e IN 62: <input type="checkbox"/> Acesso ao crédito</p> <p><input type="checkbox"/> Tempo adequado para adequação</p> <p><input type="checkbox"/> Capacitação em educação sanitária e qualidade do leite</p> <p><input type="checkbox"/> Falta de pagamento de leite baseado em indicadores de qualidade</p> <p><input type="checkbox"/> Outras Quais _____</p>
<p>13.0- Atividade Leiteira:</p> <p>Nível de satisfação com a atividade pecuária de leite: <input type="checkbox"/> Alto <input type="checkbox"/> Médio <input type="checkbox"/> Baixo</p> <p>Orientação que gostaria de receber: _____</p>

APÊNDICE B. Questionário usado para verificação da realidade das condições relacionadas à estrutura física e higiênico-sanitária dos pontos de coleta de leite

DIAGNÓSTICO DA COLETA DE LEITE CRU REFRIGERADO E SEU TRANSPORTE A GRANEL NO MUNICÍPIO DE ALEGRE-ES	
1.0 - Identificação:	
Nº de produtores: <input type="text"/>	Quantidade de tanques (nº): <input type="text"/>
Nº do tanque: <input type="text"/>	Modelo: <input type="text"/>
Responsáveis pelos tanques nº: <input type="text"/>	Contato - tel.: <input type="text"/>
Comunidade: <input type="text"/>	
2.0 - Instalações:	
Área do ponto de recebimento e refrigeração de leite comunitário: <input type="text"/> m ²	
Localizado em zona isenta de contaminantes e inundações: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui cobertura: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Piso cimentado: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Isolamento por paredes: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Arejado: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui paredes impermeáveis: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Proteção contra entrada de insetos e roedores: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Proteção contra contaminantes ambientais: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui sistema eficaz de evacuação de efluentes e águas residuais: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui iluminação natural e artificial adequadas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui ventilação suficiente: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Tem ponto de água corrente de boa qualidade: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui tanque para lavagem de latões e de utensílios de coleta: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Possui lavabo para higienização das mãos: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Tem bancada de apoio: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Tem fácil acesso ao veículo coletor: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
3.0- Equipamentos de Refrigeração:	
O tanque é de refrigeração por expansão direta: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não Resfriador (vol.): <input type="text"/> Litro	
Temperatura de refrigeração igual ou inferior a 4°C: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
No tempo máximo de 3h (três horas) após o término da ordenha: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
O motor do refrigerador é instalado em local arejado: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
A produção de cada ordenha é enviada uma única vez por dia: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
4.0 - Procedimentos de Controle de Qualidade:	
Recebeu treinamento básico sobre higiene: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Recebeu treinamento sobre análises preliminares do produto e coleta de amostras: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Faz seleção diária do leite em cada latão através do teste de alizarol: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Faz coleta de amostra do tanque antes do recolhimento pelo carro-tanque: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Faz coleta individualizada de cada produtor antes do leite ser depositado no tanque: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
As amostras são mantidas a que temperatura até serem enviadas ao laboratório: <input type="text"/>	
As amostras de leite para análises laboratoriais são transportadas: <input type="checkbox"/> Caixas térmicas higienizáveis	
<input type="checkbox"/> Temperatura e condições especificadas pelo laboratório:	
A temperatura e o volume do leite é registrados em formulários próprios: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não	
Índice de rejeição de leite do tanque durante o ano (nº): <input type="text"/>	

Continua...

APÊNDICE B, Continuação:

<p>5.0- Higienização do Tanque e Equipamentos:</p> <p>Os latões são higienizados logo após a entrega do leite: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>O tanque é higienizado logo após a descarga do leite: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Após a coleta, a mangueira e demais utensílios utilizados são higienizados: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Após a coleta do leite é realizada a sanitização:</p> <p><input type="checkbox"/> Do engate da mangueira <input type="checkbox"/> Da saída do tanque de expansão ou a ponteira coletora</p> <p>Forma de limpeza do tanque e utensílios: <input type="checkbox"/> Detergente biodegradável <input type="checkbox"/> Outros detergentes</p> <p><input type="checkbox"/> Água morna <input type="checkbox"/> Água fria <input type="checkbox"/> Cloro <input type="checkbox"/> Outros</p> <p>Quais: _____</p> <p>Utiliza escovas apropriadas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>A vassoura de limpar piso é utilizada para outros fins: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>As instalações são limpas diariamente: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p>
<p>6.0- Higienização do Receptor do Leite:</p> <p>Possui o hábito de banhar-se antes de iniciar as atividades: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Faz a limpeza das mãos antes das operações: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Faz a desinfecção das mãos antes das operações: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Possui unhas limpas e aparadas: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Está devidamente uniformizado: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Realiza exames para avaliar seu estado de saúde: <input type="checkbox"/> anualmente <input type="checkbox"/> semestralmente <input type="checkbox"/> não faz</p>
<p>7.0- Recursos Hídricos e Meio Ambiente:</p> <p>Destino dos dejetos: _____</p> <p>Destino dos efluentes: _____</p> <p>Origem da água para higienização das instalações e equipamentos: _____</p> <p>Faz tratamento da água utilizada: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Faz análise da água: <input type="checkbox"/> Química <input type="checkbox"/> Bacteriológica <input type="checkbox"/> Não faz</p> <p>Resultado: _____</p>
<p>8.0- Seleção e Transporte:</p> <p>Horários de entrega do leite pelos produtores: <input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/><input type="checkbox"/> Horas</p> <p>Meio de transporte utilizado: <input type="checkbox"/> Animal <input type="checkbox"/> Veículo automotor <input type="checkbox"/> Outros</p> <p>Intervalo de coleta do leite no resfriador: <input type="checkbox"/> Horas</p> <p>Intervalo de coleta do leite no resfriador em tempo chuvoso: <input type="checkbox"/> Horas</p> <p>O leite é transportado em caminhão isotérmico: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>A transferência do leite do tanque de refrigeração para o carro-tanque é realizado em:</p> <p><input type="checkbox"/> Circuito fechado <input type="checkbox"/> Circuito aberto</p> <p>A coleta do leite é realizada no local de refrigeração e armazenagem: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Antes do início da coleta, o leite é agitado com utensílio próprio: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>A temperatura é anotada: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Realiza-se a prova de alizarol na concentração mínima de 72% v/v: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>O leite que apresenta qualquer anormalidade ou não estiver refrigerado até a temperatura máxima admitida:</p> <p><input type="checkbox"/> Não é coletado a granel <input type="checkbox"/> Às vezes é coletado <input type="checkbox"/> É coletado a granel</p>
<p>9.0- Assistência Técnica:</p> <p>Tipo de assistência técnica recebida: <input type="checkbox"/> Pública: <input type="checkbox"/> Laticínio <input type="checkbox"/> Não recebe</p> <p>Recebeu treinamento sobre as Instruções Normativas Nº 51 e Nº 62: <input type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não</p> <p>Instituição ministradora: _____</p> <p>Dificuldades para adoção da IN 51 e IN 62: <input type="checkbox"/> Tempo adequado para adequação</p> <p><input type="checkbox"/> Capacitação em educação sanitária e qualidade do leite</p> <p><input type="checkbox"/> Outras Quais _____</p>