

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**QUALIDADE DA ÁGUA E DO LEITE EM PROPRIEDADES  
LEITEIRAS NO MUNICÍPIO DE AMARGOSA, BAHIA**

**MARIALICE PEREIRA CASTELO BRANCO**

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**MAIO – 2010**

# **QUALIDADE DA ÁGUA E DO LEITE EM PROPRIEDADES LEITEIRAS NO MUNICÍPIO DE AMARGOSA, BAHIA**

**MARIALICE PEREIRA CASTELO BRANCO**

Médica Veterinária

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2001

Dissertação submetida ao colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros

Co-orientador: Prof. Dr. Alexandre Moraes Pinheiro

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA**

**MAIO – 2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
CURSO DE MESTRADO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE  
MARIALICE PEREIRA CASTELO BRANCO**

---

Profa. Dra. Ludmilla Santana Soares e Barros  
UFRB  
(Orientadora)

---

Profa. Dra. Tatiana Pacheco Rodrigues  
UFRB

---

Profa. Dra. Maria Helena Silva  
UFBA

**CRUZ DAS ALMAS – BAHIA  
MAIO – 2010**

## FICHA CATALOGRÁFICA

B816

Branco, Marialice Pereira Castelo

Qualidade da água e do leite em propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia/ Marialice Pereira Castelo Branco.\_ Cruz das Almas, BA, 2010. f. 66 ; il.

Orientadora: Ludmilla Santana Soares e Barros

Co-Orientador: Alexandre Moraes Pinheiro

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Área de Concentração: Produção Animal.

1. Leite – microbiologia. 2. Leite -qualidade . I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias e Tecnológicas. II. Título.

CDD 664.001579

## **DEDICATÓRIA**

**Dedico com todo carinho a minha mãe Mariluce, pela orientação e educação que me proporcionou desde criança.**

**A meu pai Jair pelo apoio e amor constante.**

**A meu irmão Ricardo pelo incentivo e carinho freqüente.**

**A minha cunhada Patrícia pela sua parceria e amizade verdadeira.**

**A Cassiana por ter tornado a minha família mais alegre e unida.**

**Aos meus avós paternos e maternos (in memoriam) pelo carinho que sempre me deram.**

**A minha prima Mailu pela forte presença em minha vida e pelo querer bem.**

**Enfim pelo amor incondicional da minha família, minha fortaleza.**

## **AGRADECIMENTOS**

**A Deus e aos orixás pela saúde e persistência.**

**A minha família pelos valores e virtudes que me ensinaram, e força para encarar as dificuldades da vida, transformando-as em solução.**

**A minha orientadora Ludmilla pela compreensão, paciência, apoio, orientação, aprendizado, e por em nenhum momento ter medido esforços para me atender, além de ter contribuído com o meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.**

**Ao meu co-orientador pelo apoio.**

**Aos produtores rurais das fazendas leiteiras de Amargosa que me proporcionaram realizar esse projeto de pesquisa.**

**A todos os agricultores familiares desse país.**

**Aos professores do curso de mestrado em Ciência Animal, especialmente o professor Gabriel Jorge Carneiro por ter me mostrado a aplicação prática da bioquímica na produção animal.**

**Aos técnicos administrativos da UFRB pelo educado atendimento, especialmente Jorge do CCAAB.**

**Aos meus colegas de mestrado pela ótima convivência e troca do saber, principalmente Bráulio e Robson.**

**As estagiárias bolsistas do curso de biologia Marília e Margarete pela saudável convivência no laboratório de tecnologia de leite da UFRB, assim como pela troca de conhecimento, além do apoio durante a execução das análises laboratoriais do meu experimento.**

**Aos professores responsáveis pelo laboratório de bioquímica que permitiram o uso do local e de equipamentos para a realização de algumas análises laboratoriais.**

**Aos alunos do curso de Zootecnia que proporcionaram uma agradável convivência durante a execução prática da disciplina Tirocínio Docente Orientado do curso de mestrado, além do aprendizado que obtive com eles.**

**À professora Evani Strada pela orientação e apoio durante o período em que ministrei a disciplina Parasitologia Animal do curso de Zootecnia, referente à disciplina de mestrado: Tirocínio Docente Orientado.**

**À Fapesb pelo apoio financeiro do projeto de pesquisa.**

**À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia pela oportunidade de realização do curso de mestrado em Ciência Animal.**

# QUALIDADE DA ÁGUA E DO LEITE EM PROPRIEDADES LEITEIRAS NO MUNICÍPIO DE AMARGOSA, BAHIA

**Autora:** Marialice Pereira Castelo Branco

**Orientadora:** Ludmilla Santana Soares e Barros

**RESUMO** - O leite é um alimento com elevado teor nutritivo, razão pelo qual o torna mais vulnerável à contaminação microbiológica. Por isso, para possibilitar a garantia da qualidade do leite cru produzido é importante realizar a ordenha higiênica, assim como práticas sanitárias de manejo em todo processo produtivo. A água utilizada durante a ordenha e na higienização dos utensílios e equipamentos também pode interferir na qualidade do leite produzido. Este trabalho teve como objetivo verificar a qualidade do leite cru e da água da sala de ordenha, tendo em vista a IN 51- MAPA e a Portaria n° 518. A coleta do leite e da água foi realizada em propriedades leiteiras no município de Amargosa durante os meses de abril, maio e junho de 2009, e foram feitas análises microbiológicas. Os resultados obtidos das amostras de leite cru mostram que sua qualidade é insatisfatória, já que foi detectado 9,68% de mastite clínica e 35,48% de mastite subclínica; 12,74% de *Staphylococcus aureus*, 18,26% de enterobactérias, 12,5% de *Candida albicans*, 7,5% de *Candida krusei*, 10% de *Candida tropicalis* e 42,5% de outros tipos de *Cândida*, em 60% das propriedades a contagem de microrganismos mesófilos e em 100% das propriedades o NMP de coliformes totais e fecais esteve fora dos padrões determinados pela Instrução Normativa n° 51 do MAPA (IN 51). Em relação a qualidade da água, em 100% das propriedades a contagem de microrganismos mesófilos e em 40% das propriedades NMP de coliformes totais e *Escherichia coli* esteve fora dos padrões determinados pela Portaria n° 518/2004 do Ministério da Saúde. Conclui-se a importância da introdução de um trabalho de educação sanitária juntos as propriedades estudadas, objetivando a melhoria da qualidade microbiológica do leite produzido e da água utilizada durante o manejo da ordenha.

**Palavras-chave:** leite cru, qualidade da água, microbiologia, enterobactérias, fungos

# QUALITY OF WATER AND MILK IN DAIRY FARMS OF AMARGOSA'S CITY, BAHIA

**Authoress: Marialice Pereira Castelo Branco**

**Adviser: Ludmilla Santana Soares e Barros**

**ABSTRACT** - The milk is a food with high teor nutritive, because of this it's more vulnerable to microbiology contamination. Because of this, to guarantee the raw milk quality produced is important produce hygienic milking, like as sanitaries pratices of handling of all productive process. The water used during milking and in the higienization of equipaments and milk instruments cause risk in the milk quality produced. The aim of this paper was evaluete the raw milk quality and the water quality of milking room, under the orientations contained in the NI 51 - MAPA and by the regulation 518. The collection of the milk and the water was realized in the dairy farms of Amargosa's city during April, May and June of 2009, and it were realized microbiologicals analysis. The results showed that the quality of raw milk samples is unsatisfactory, for, only it was detected 9,68% of clinical mastitis and 35,48% of subclinical mastitis; 12,74% of *Staphylococcus aureus*, 18,26% of enterobacterium, 12,5% of *Candida albicans*, 7,5% of *Candida krusei*, 10% of *Candida tropicalis* and 42,5% of the others species of *Candida*, 60% of dairy farms the couting of mesophilic microrganisms and 100% of dairy farms the NMP of total coliforms and fecal coliforms didn't meet requirements of Ruling Protocol 51 of MAPA (NI 51) . Regarding the quality of water, 100% of dairy farms the couting of mesophilic microrganisms and 40% of dairy farms the NMP total coliforms total and *Escherichia coli* didn't meet requirements by regulation 518/2004 issued by Brazilian Health Ministry. Such results confirm the importance of introducing an effort aimed at sanitary education involves the facilities studied and at the improvement of the microbiological quality of the milk produced and the water used in the handling of milk.

**Keywords:** raw milk , water quality, microbiology, enterobacterium, fungus

# SUMÁRIO

Página

RESUMO

ABSTRACT

INTRODUÇÃO..... 1

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 13

Capítulo 1

QUALIDADE SANITÁRIA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA  
UTILIZADA EM PROPRIEDADES LEITEIRAS EM AMARGOSA,  
BAHIA..... 20

Capítulo 2

QUALIDADE SANITÁRIA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE DE  
PROPRIEDADES LEITEIRAS NO MUNICÍPIO DE AMARGOSA,  
BAHIA..... 33

CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 58

## **INTRODUÇÃO**

O município de Amargosa, situado à 13° 01' 49" latitude Sul e à 39° 36' 17" longitude Oeste no vale do Jequiriça, à uma distância de 235 km da capital do estado, possui como uma de suas atividades agropecuárias, a produção de leite. No passado, o município já foi uma das principais bacias leiteiras do estado, tendo alcançado bons índices produtivos. Atualmente, segundo informações do censo agropecuário do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção de leite em Amargosa foi 1.615 mil litros no ano de 2008 (IBGE, 2008).

O leite por ser um dos alimentos mais completos em termos nutricionais, o torna também mais vulnerável à contaminação microbiológica, exigindo portanto um maior cuidado em relação à produção, transporte e conservação, para uma maior garantia de um produto final de qualidade. Segundo Arcuri et al., 2006, como o leite é rico em proteínas, lipídios, carboidratos, vitaminas e minerais, este fica mais sujeito a alterações físico-químicas e deterioração por microrganismos. Estas modificações podem limitar a durabilidade do leite e de seus derivados, assim como provocar problemas econômicos e de saúde pública.

Atualmente, no Brasil tem se discutido com frequência a respeito do pagamento diferenciado do leite em relação a qualidade da matéria-prima comercializada aos laticínios. Proprietários que produzem um leite com qualidade superior recebem bonificação por esse empenho, demonstrando uma evolução no processo da cadeia produtiva do leite, que inclui os setores primários, secundários e terciários.

Para fiscalizar e monitorar a qualidade do leite produzido no país foi necessário a criação da Instrução Normativa nº 51 (IN nº 51) através do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) tendo sido publicada no Diário Oficial da União em 18 de setembro de 2002, por intermédio do Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA). Essa Instrução Normativa regulamenta a produção, identidade, qualidade, coleta e transporte do leite tipo A, B e C, do pasteurizado e do cru resfriado, além da coleta e transporte do leite

visando atender o mercado interno. Além disso, foram estabelecidos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, contagem de células somáticas (CCS) e limites máximos de resíduos (LMR) de antimicrobianos a serem alcançados pelos produtores dessa atividade pecuária. Com isso, há a possibilidade de crescimento do setor leiteiro em relação a geração de um mercado mais competitivo, incluindo uma melhor remuneração do produtor e melhor qualidade da matéria-prima.

O Programa Nacional de Melhoria da Qualidade do Leite (PNMQL) surge em 2005 para incrementar o processo produtivo da cadeia produtiva leiteira, com o objetivo de garantir a qualidade na produção de leite e de derivados, para que possa competir com o mercado interno e externo, melhorando os índices produtivos nacionais, o preço pago ao produtor e a oferta de um produto final de qualidade ao mercado consumidor.

É importante comentar que a água utilizada durante a ordenha, assim como na higienização dos utensílios e equipamentos podem interferir significativamente na qualidade do leite produzido, já que pode possibilitar a contaminação microbiana do mesmo. Por isso, a água usada nesse processo deve ser de qualidade, segundo as normas da Portaria n° 518.

A contaminação microbiológica da água, utilizada no processo produtivo leiteiro, por agentes etiológicos tais como protozoários, bactérias e helmintos, torna essa substância um veículo transmissor de diversas enfermidades. Pode provocar danos à produção animal em relação à qualidade do produto final, nesse caso específico o leite, conseqüentemente pondo em risco a saúde humana.

Como o estado da Bahia ainda está dentro do prazo para cumprir na íntegra as normas exigidas pela IN n° 51, justificou-se o estudo da qualidade do leite cru produzido no Vale do Jequiriça, em Amargosa, de modo que este possa contribuir com o cumprimento desse prazo, na medida que as informações geradas foram compartilhadas com os produtores rurais desse município.

Em se tratando de averiguar a qualidade do leite cru foi realizada a contagem de microrganismos mesófilos, pesquisa de coliformes fecais e totais, de fungos, de bactérias aeróbias e anaeróbias, e de *Mycobacterium* sp. Foi realizado também o teste de mastite: Califórnia Mastite Teste (CMT) para detecção de mastite sub-clínica. Já para verificar a qualidade da água utilizada na produção leiteira foi feita a contagem de microrganismos mesófilos, e a pesquisa de coliformes fecais e totais.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 1.1 Qualidade do leite

O leite é definido como, sem outra especificação, o produto oriundo de ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (Brasil, 2002). Caso a obtenção seja feita em condições naturais, o leite se apresentará como uma emulsão de cor branca, ligeiramente amarelada, de odor suave e levemente adocicada (Behmer, 1999; Franco et al., 2000).

O leite é uma mistura complexa, nutritiva e estável de gorduras, proteínas, minerais e vitaminas, completamente dissolvidas na água do leite, formando uma solução com uma composição média de 87,5% de água, 3,8% de gordura, 3,3% de proteína, 4,6% de lactose e 0,8% de minerais e vitaminas (Brito e Dias, 1998).

A composição do leite é influenciada pelo manejo, genética e alimentação fornecida aos animais, sendo que a qualidade higiênica é influenciada pelo estado sanitário do rebanho leiteiro e pelas técnicas de obtenção, transporte, armazenamento e distribuição do leite (Coldebella, 2004). Portanto, somente vacas sadias, alimentadas e manejadas de modo adequado podem produzir leite de qualidade, embora esses cuidados não garantam a qualidade final do produto, pois este ainda vai passar por diversas etapas da cadeia produtiva até chegar à mesa do consumidor (Santos e Fonseca, 2007).

Uma realidade importante a considerar é o fato de que o mercado consumidor de leite e derivados tem se tornado progressivamente mais exigente em relação à qualidade deste produto, como por exemplo no que diz respeito às características microbiológicas. Estas permitem avaliar o leite quanto às condições de obtenção, processamento, armazenamento e distribuição, assim como estimar sua inocuidade e vida útil (Murata et al., 1998). Portanto, com o intuito de melhorar a qualidade microbiológica do leite e seus derivados, várias medidas estão sendo implantadas no setor leiteiro. Neste contexto, as Boas

Práticas de Fabricação (BPF) têm sido uma importante ferramenta para prevenir as contaminações e assegurar a produção de alimentos saudáveis (Fagan et al., 2005).

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

O leite considerado de boa qualidade é aquele que é saboroso, seguro, íntegro e nutritivo. O leite após ter sido ordenhado, ou seja, após a sua saída da glândula mamária não pode ter sua qualidade melhorada. O que pode ser realizado é preservar a qualidade do leite desde o momento da ordenha até o acesso ao consumidor, para que não ocorram modificações no produto (Dürr, 2004).

A qualidade do leite pode ser dividida em integridade e composição. Um leite íntegro é aquele que não sofreu adição de substâncias nem a remoção de componentes, não sofreu deterioração física, química ou microbiológica e que seja livre de patógenos. Já a composição do leite define seu valor nutricional e industrial, de modo que o manejo alimentar e o melhoramento genético empregado pode interferir nessa composição. Por isso, na maioria dos países em que a cadeia láctea está bem estruturada, ou seja, o produtor que investe no aprimoramento da composição do leite agrega valor ao seu produto (Volpi, 2004).

No Brasil, além da ordenha manual ser adotada em um número expressivo de rebanhos leiteiros, emprega-se, com frequência a mamada do bezerro para estimular a descida do leite. Essa prática é comum em outros países em desenvolvimento, de modo que pode contribuir com a contaminação dos tetos, além de dificultar os procedimentos higiênicos da ordenha (Zafalon, 2003).

A disponibilidade, a abundância e a qualidade do alimento para o consumo humano são fatores que possibilitam a ocorrência de microrganismos. Os alimentos são facilmente contaminados na natureza durante a manipulação e o processamento, de modo que estes se tornam meio de crescimento para os microrganismos. Se as condições forem favoráveis ao crescimento, os

microrganismos podem modificar as características físico-químicas do alimento, além de provocar a sua deterioração (Pelczar, et al., 1997).

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

Portanto para garantir a qualidade do leite e derivados é fundamental realizar uma avaliação das características organolépticas, nutricionais, físico-químicas, e microbiológicas do leite cru a ser utilizado como matéria-prima, pois essas características, se adequadas, podem indicar um leite de boa qualidade (Zanella et al., 2006; Santos e Fonseca, 2007).

## **1.2 Qualidade microbiológica do leite cru**

O leite é um fluido biológico de elevado valor nutricional para as espécies mamíferas. Ao ser ordenhado de vacas sadias, sob condições assépticas, o leite evidencia contagens médias de bactérias de  $5 \times 10^2$  UFC/mL a  $1 \times 10^3$  UFC/mL compreendidas principalmente, pela microbiota saprófita (Reinbold, 1983).

Em geral, quanto maior o número de contaminantes e quanto mais alta for a temperatura na qual o leite permanece, menor será o seu tempo de conservação. Portanto a qualidade do leite pode estar associada com a carga microbiana presente neste produto (Mutukumira et al., 1996). Conseqüentemente, a população de microrganismos total do leite cru vai variar de acordo com a contaminação inicial, isto é, aquela proveniente do interior da glândula mamária, exterior do úbere e tetos, e superfícies de equipamentos e utensílios usados na ordenha, assim como as condições de armazenamento (Bramley e Mckinnon, 1990). Além disso, a temperatura e umidade afetam o crescimento microbiano, podendo influenciar a contaminação do leite (Bueno, 2004).

A temperatura de refrigeração exerce influência considerável na contagem bacteriana, de modo que esta contagem no leite refrigerado e conservado acima de 7°C foi significativamente maior que a do leite refrigerado e conservado em temperaturas inferiores a 7°C (Bueno et al., 2003).

Os microrganismos que normalmente contaminam o leite são aqueles que se desenvolvem em uma ampla faixa de temperatura. Essa microbiota inclui os mesófilos, os termófilos e os psicrotróficos (Gounot, 1986; Silva, 1991).

A manipulação inadequada durante o processo produtivo leiteiro, assim como o contato com equipamentos, utensílios e superfícies que não estejam sanitizadas corretamente podem propiciar a presença de leveduras no leite (Furtado, 1998).

A qualidade do ar dos estábulos, o estado de saúde dos ordenhadores, a sanidade animal, e principalmente, utensílios não higienizados de modo adequado são fatores que contribuem para o estado microbiológico do leite (Silveira, 1998; Carvalho, 1998; Teixeira, 1998).

### **1.3 Microrganismos mesófilos**

Os microrganismos mesófilos constituem um grupo importante por incluir a maioria da microbiota acidificante, e por crescerem à temperatura entre 20 e 45°C, com a temperatura ótima em torno de 30 a 40°C (Jay, 2000).

A contagem elevada de bactérias mesófilas nos alimentos é indicativo do uso de matéria-prima contaminada ou processamento insatisfatório, sob o ponto de vista sanitário, e que ainda os alimentos foram estocados em condições inadequadas de tempo e temperatura (Leite Junior et al., 2000). E como a maioria das bactérias patogênicas é mesófila, uma alta contagem seria indicativo de maior possibilidade de ocorrência de bactérias patogênicas (Carvalho, 1999).

Do ponto de vista sanitário, uma contagem de microrganismos mesófilos elevada, ou seja, acima de  $10^5$  UFC/mL, indica uma alta possibilidade de presença de microrganismos patogênicos (Moreno et al., 1999). Não existe, entretanto, uma correlação precisa entre a contagem de microrganismos mesófilos e o tempo necessário para que as alterações sejam perceptíveis organolepticamente (Brazis, 1991).

A presença das bactérias do grupo dos coliformes, cujo habitat da maioria é o trato intestinal do ser humano e de outros animais homeotermos, indica contaminação de origem ambiental e fecal do produto (Motta e Belmont, 2000). A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois quando em elevado número, indica contaminação decorrente de falha durante o processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico

insuficiente. Já a detecção do elevado número de bactérias do grupo coliformes fecais em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais, visto que a população deste grupo é constituída de alta proporção de *Escherichia coli* (Pardi et al., 1993).

O grupo dos coliformes engloba microrganismos que utilizam a lactose, e produzem ácido e gás. Quando encontrado no leite indica que houve contaminação por meio da água e das fezes do animal. Por isso deve-se pesquisar este grupo no leite cru, com o objetivo de se ter uma idéia como foi efetuada a ordenha do mesmo e, após este ter sofrido a pasteurização para comprovar a eficácia método de conservação (Behmer, 1991).

O leite produzido no Brasil apresenta, de modo geral, altas contagens de microrganismos, demonstrando com isto que há deficiências na higiene de produção (Cerqueira et al., 1994). Os principais microrganismos encontrados são estreptococos, estafilococos, microrganismos formadores de esporos, coliformes e outras bactérias gram-negativas (Desmaures e Gueguen, 1997).

#### **1.4 A mastite e o Califórnia Mastite Teste (CMT)**

A mastite é um processo inflamatório da glândula mamária que promove perdas econômicas em consequência da redução da produção de leite ( em até 70%), gastos com medicamentos e assistência veterinária (8%), descarte de animais (14%) e de leite contaminado após tratamento (8%) (Philpot, 1984). Dentre as causas de mastite, a de natureza infecciosa é a que apresenta maior ocorrência e resulta principalmente da penetração de microrganismos através do canal do teto (Costa,1998; Schalm et al., 1971).

A microbiota causadora da mastite foi convencionalmente classificada quanto à sua origem e modo de transmissão em dois grupos: microrganismos contagiosos ou transmissíveis e os ambientais. Os microrganismos contagiosos são transmitidos principalmente durante a ordenha, sendo denominados de “vaca-dependentes”, presentes no corpo do animal com ou sem mastite. Já os microrganismos ambientais, ubiqüitários, são os presentes no ar, na água, na cama e nas fezes (Cruz, 1995). No primeiro grupo estão incluídos: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Corynebacterium bovis*, *Staphylococcus aureus* e outros estafilococos, dentre outros. Dessa forma, a presença de microrganismos contagiosos em amostras de leite oriundas de tanque de

refrigeração constitui um forte indicador de ocorrência de infecção intramamária por estes agentes em animais do rebanho (Godkin, 1993; Leslie, 1993). No segundo grupo encontram-se: *Streptococcus uberis* e outros estreptococos, à exceção dos anteriormente citados, bactérias da família Enterobacteriaceae, fungos filamentosos e leveduras, algas do gênero *Prototheca*, *Arcanobacterium pyogenes*, entre outros (Rebhun, 1995).

Os estafilococos são classificados em coagulase-positivos e coagulase-negativos pela sua capacidade ou não, respectivamente, de coagular o plasma de coelho. Os estafilococos coagulase-negativos têm importância cada vez mais destacada na etiologia da mastite, causando elevadas contagens celulares e redução na produção de leite, como verificado por Timms e Shultz (1987) e Mendonça et al. (1999).

O *Staphylococcus aureus* é considerado o mais importante agente etiológico de mastite em diferentes países. Essa bactéria induz resposta inflamatória e, conseqüentemente, grandes perdas na produção de leite, sendo considerados os quartos mamários infectados como os principais reservatórios da infecção (Enevoldsen et al., 1995).

Os principais microrganismos envolvidos nas mastites micóticas são: *Cryptococcus* sp, *Rhodotorula* sp, *Aspergillus* sp, *Pichia* sp, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida albicans*, *Trichosporon cutaneum*, entre outros. A contaminação dos equipamentos da ordenha por estes microrganismos pode causar infecções em um grande número de animais, embora normalmente os casos de mastite micótica ocorram de forma isolada. Os fungos podem estar presentes como contaminantes de medicamentos, diluentes de antibióticos, na água de lavagem dos equipamentos de ordenha ou ainda, nas mãos do ordenhador (Cruz, 1995).

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

A interpretação do CMT baseia-se na observação visual da mistura do leite com o reagente. A reação se processa entre o reagente e o material genético das

células somáticas presentes no leite, formando um gel cuja proporção é proporcional ao número de células somáticas. O resultado do CMT é dado como negativo, suspeito, fracamente positivo, positivo e fortemente positivo (Brito et al., 1997).

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

### **1.5 Presença de *Mycobacterium* sp no leite**

A tuberculose bovina é uma doença infecto-contagiosa de evolução crônica com desenvolvimento de lesões granulomatosas características. O agente etiológico é o *Mycobacterium bovis*, que juntamente com outras micobactérias formam o complexo *Mycobacterium tuberculosis* dos mamíferos acometendo principalmente o sistema respiratória dos hospedeiros infectados. Além de infectar bovinos, diversas outras espécies animais são acometidas, tanto domésticas quanto silvestres, transformando-a em um importante problema, provocando prejuízos à pecuária bovina e suscitando riscos à saúde pública, face ao seu aspecto zoonótico (Granje e Yates, 1994; Acha e Szyfres, 2001; Collins, 2001).

As perdas econômicas determinadas por esta enfermidade incluem: redução na produção de leite, no ganho de peso e condenação de carcaças, podendo atingir 10% da produtividade do gado leiteiro afetado (Kantor, 1998).

Apesar de ter sido erradicada e/ou eficientemente controlada nos países desenvolvidos, a tuberculose bovina continua sendo considerada um problema nos países em desenvolvimento. O Brasil, embora tenha tomado algumas iniciativas, ainda não obteve melhoras significativas na situação epidemiológica da doença em seu território (Rodriguez, 1995).

Dada a ineficiência das ações até então conduzidas, o governo federal, em 11 de janeiro de 2001, instituiu o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), tendo como objetivos específicos: reduzir a prevalência e a incidência da tuberculose e brucelose, e criar um

número significativo de propriedades certificadas que ofereçam ao consumidor produtos de baixo risco sanitário (Brasil, 2001).

Para o sucesso do PNCEBT existe a necessidade de um controle efetivo da doença, no caso específico da tuberculose, contando com a atuação do governo associado a testes sistemáticos dos animais, remoção e sacrifício dos infectados, prevenção da dispersão da doença e da introdução ou reintrodução da doença. A qualidade de todos os serviços envolvidos no diagnóstico da tuberculose é que garantem a eficácia do programa: erradicar a tuberculose bovina (Pritchard, 1988; Corner et al., 1994).

### **1.6 Qualidade da água**

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

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

O risco da ocorrência de surtos de doenças veiculadas pela água no meio rural é alto, principalmente pela possibilidade de contaminação bacteriana dessas águas, que são captadas em poços muitas vezes velhos, inadequadamente vedados e próximos de fontes de contaminação como fossas e áreas de pastagens de animais (Stukel et al., 1990). Somado a essas colocações, Conboy E Goss (2000) citam que a deposição diária de resíduo orgânico animal no solo, prática muito usada no meio rural em nosso país, aumentou o risco da contaminação de água subterrânea.

A contaminação da água geralmente se dá pela incorporação de resíduos, principalmente excretas humanas e animais. A contaminação fecal da água potável pode incorporar uma variedade de organismos patogênicos intestinais, sejam eles bacterianos, virais ou parasitários (Opas, 1987).

Segundo Souza e Cortês (1992), a água utilizada para a dessedentação de animais pode ser poluída por águas residuárias e excretas de origens animal e humana e tornar-se importante veículo de transmissão de enfermidades. Em muitos casos, a água é tida como uma das principais vias de transmissão de agentes causadores de doenças para os animais domésticos, principalmente bovinos, suínos e aves, as quais segundo Souza et al. (1983), representam fatores importantes à economia e à saúde pública, pois podem acarretar prejuízos econômicos, as vezes elevados, e muitos dos seus agentes causais podem ser transmitidos ao ser humano.

De acordo com Daker (1970) e Dyksta (1970) a água destinada ao consumo animal deve ter as mesmas condições da água potável consumida pelos seres humanos. A respeito disso, Von de aa (1971) afirma que se deve dar a mesma importância à qualidade da água, que se dá às instalações, à alimentação e ao manejo, para que se possa ter uma produção animal com qualidade.

Devido à necessidade de realizar um controle da qualidade microbiológica da água e a dificuldade que seria o isolamento de cada patógeno em separado, alguns foram eleitos como indicadores de contaminação. Os indicadores bacteriológicos estão associados com a demonstração de contaminação da água por excretas de animais de sangue quente. Os principais indicadores utilizados para exame da água são: coliformes totais, coliformes fecais, estreptococos fecais, todos indicadores de contaminação fecal. Para avaliar a qualidade sanitária da água potável, também é pesquisada a presença de *Pseudomonas aeruginosa* (Opas, 1987).

Os coliformes são bacilos gram negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, não formadores de esporos. Normalmente estas bactérias habitam os intestinos dos animais e sua presença na água indica a possibilidade de contaminação fecal e a possível presença de microrganismos patogênicos, sendo classificados em totais e fecais. Os primeiros são representados pelos gêneros *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. As bactérias que são exclusivamente de origem fecal são as da espécie *Escherichia coli* (Christovão, 1977).

Os microrganismos encontrados na água podem ser originados do solo, fezes ou matéria orgânica. Em muitas propriedades rurais ocorre a disposição inadequada de resíduos orgânicos oriundo das atividades humana e animal, fato que propicia a contaminação da água, além das características de ubiquidade de determinados microrganismos, que também contribuem para a contaminação das fontes de água (Amaral et al., 1995).

Os agentes ambientais são oportunistas e estão presentes no ambiente que o animal vive, inclusive na água. A infecção pode ocorrer tanto no período entre ordenhas ou durante a ordenha (Bramley E Dodd, 1984; Macdonald, 1984; Smith et al., 1985; Sandholm et al., 1990; Cullor, 1993; Costa, 1998).

No que se refere aos padrões microbiológicos de potabilidade da água de consumo animal, a resolução nº26 do Conselho Nacional do Meio Ambiente estabelece os limites de 20.000 coliformes totais/ 100mL e 4.000 coliformes fecais/ 100 mL (Conselho Nacional do Meio Ambiente, 1986; Souza e Meira, 1982). E ainda, segundo a portaria nº 518 de 25 de março de 2004 o valor máximo da contagem bacteriana total é de 500 UFC /mL (Brasil, 2004).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. 2001 **Zoonosis y Enfermedades Transmisibles Comunes al Hombre y a los Animales**. 3 ed. Washington, D. C: Organización Panamericana de La Salud,.v. 1, 461p.

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

AMARAL, L.A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JUNIOR, O.D.; PENHA, L.H.C. 1995. Características microbiológicas da água utilizada no processo de obtenção do leite. **Pesqui. Vet. Bras.**, v.15, n 2/3, p. 85-88.

BRAMLEY, A.J.; DODD, F.H. 1984 Review of the progress of dairy science: mastitis control – progress and prospects. **J. Dairy Sci.**, v.51, p.481-512.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2002. **Instrução Normativa nº 051**, de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set.. Seção 1, p.13-22.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2001. **Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT)**, Brasília, p.67.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria da Defesa Sanitária. 2004. Instrução normativa DAS nº 06, de 08 de Janeiro de 2004, aprova o regulamento técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 jan. 2004. Seção 1, p.6-10.

BEHMER, M. L. A. 1991 **Tecnologia do leite**. ed.15, São Paulo: Nobel, p. 320.

BEHMER, M. L. A. 1999 **Tecnologia de leite: queijo, manteiga, caseína, iogurte, sorvetes e instalações: produção, industrialização, análise**. ed 13.. São Paulo: Nobel, p.322.

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

BRITO, J. R. F. et al 1997 Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, rio de Janeiro, v.17, n.2, p.49-53.

BUENO, V. F. F. 2004 et al. Influência da temperatura de armazenamento e do sistema de utilização do tanque de expansão sobre a qualidade microbiológica do leite cru. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.124, p.62-67.

CERQUEIRA, M. M. O. P. et al. 1994 Características microbiológicas de leite cru e beneficiado em belo Horizonte (MG). **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.46, p.713-721.

COLDEBELLA, A. et al. 2002 Contagem de células somáticas e produção de leite em vacas holandesas confinadas. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 85, p. 1119-1126.

COLLINS, J. D. 2001 Tuberculosis in cattle: new perspective. **Tuberculosis**, Edinburg, v.81, n 1-2, p.17-21.

CONBOY, M. J.; GOSS, M.J. 2000 Natural protection of groundwater against bacteria of fecal origin. **Journal of Contaminant Hydrology**, Amsterdam, v.43,n.1, p.1-24.

CORNER, L. A. 1994 Post mortem diagnosis of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.40, p.53-63.

COSTA, E. O. 1998 Importância da mastite na produção leiteira do país. **Revista de Educação Continuada do CRMV-SP**, São Paulo, v.1, p. 3-9.

CHRISTOVÃO, D.A.; 1977. Bacteriologia da água. Seu exame e controle bacteriológicos. In: **Água: qualidade, padrões de potabilidade e poluição**. São Paulo: CETESB

CULLOR, J. S. 1993 The control, treatment, and prevention of the various types of bovine mastitis. **Veterinary Medicine**, v.88, p.571-579.

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

DESMASURES, N.; OPPORTUNE, W.; GUEGUEN, M. 1997 *Lactococcus* spp., yeasts and *Pseudomonas* spp. on teats and udders of milking cows as potential sources of milk contamination. **International Dairy Journal**, v.7, p.643- 646.

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

DYKSTA, R.R.; 1970. **Higiene Animal y Prevención de Enfermedades**. 1 ed. Barcelona: Labor, p.392.

ENEVOLDSEN , C.; GROHN, Y.T.; THYSEN, I. 1995 Dairy cow characteristics related to *Staphylococcus aureus* isolation from quarter samples. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.62, p.69-81.

FAGAN, E. P. et al. 2005 Importância de boas práticas de higienização de tetos em rebanhos leiteiros na qualidade microbiológica do leite. In: CONGRESSO

LATINO AMERICANO, 2; e BRASILEIRO DE HIGIENISTA DE ALIMENTOS, 7, 2005. Búzios. **Anais...Búzios**.

FAGLIARI, J.J.; LUCAS, S.A.; FERREIRA NETO, J.M.. 1990 Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos no Califórnia Mastitis teste o exame bacteriológico. **Cienc. Veterinária**. v.4, n.1, pg.4-5.

FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. 2000 A qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68-69, p. 70-77.

FURTADO, S. C. 1998 Leveduras: uma fonte potencial de deterioração em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n. 54, p.7-9.

GOUNOT, A. M. 1986 Psychrotrophic microorganisms. **Nederlands Melk en Zuiveltijds**, Chicago, n. 42, p. 1192-1197.

GRANGE, J. M.; YATES, M. D. 1994 Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection in cattle. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.40, n.1/2, p.137-152.

JAY, J. M. 1998 **Modern food microbiology**. 6 ed. Maryland: Aspen, 2000. 679p.

KANTOR, I. N. **Situación de la tuberculosis bovina em América Latina y El Caribe**. OPAS/OMS. Nota técnica n.8 23p.

LEITE JUNIOR, A. F. S.; FLORENTINO, E. R.; OLIVEIRA, E. B.; SÁ, S. N.; TORRANO, A. D. M. 2000 Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, em campina Grande-PB. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.73, p.53-59.

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

MACDONLAD, J.S.; Streptococcal and Staphylococcal mastitis. **Vet. Clín. North Am. Large Anim. Pract.**, v.6, p.269-285, 1984.

MENDONÇA, C. L. et al. 1999 Etiologia da mastite bovina. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.5, n.1, p.107-118,

MORENO, I.; VIALTA, A.; LERAYER, A. L. S.; SALVA, T. J. G.; VAN DENDER, A. G.F.; WOLF, B.; MACHADO, R. C. 1999 Qualidade microbiológica de leites pasteurizados produzidos no Estado de São Paulo. **Indústria de Laticínios**, São Paulo, v.20, n.20, p.56-61.

MURATA, L. T. F.; ALCÂNTARA, M. R. S.; NUNES, M. C. D.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L.; 1998 Avaliação das sobremesas lácteas, características que podem comprometer a garantia de qualidade. In: SIMPÓSIO DE SEGURANÇA ALIMENTAR E SAÚDE DO ESTADO DE SÃO PAULO, 1998, São Paulo. **Anais do I Simpósio de Segurança Alimentar e Saúde do Estado de São Paulo**. Disponível em: <http://www.cip.saude.sp.gov.br/trabalho.htm> Acesso em: 22 de Janeiro de 2004.

MUTUKUMIRA, A. N.; FERESU, S. B.; NAVHUS, J. A.; ABRAHAMSEN, R. K. 1996 Chemical and microbiological quality of raw Milk produced by Smallholder farms in Zimbabwe. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.59, n.9, p.984-987.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. 1987. **Guia para La calidad Del água potable**. Washington: OMS, v.2.

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

PHILPOT, W. N. 1984 Economics of mastitis control. In: JARRET, J. H. (Ed.). **Veterinary Clinics From North America**, v.6, p. 233-245.

PRITCHARD, D. G. A. 1998 century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. **Journal of Comparative Pathology**. Edinbburg, v.99, p.357-399.

REINBOLD, G. W. 1983 Indicator organisms in dairy products. **Food Technology**, v. 37, n. 6, p. 111-3.

RODRIGUEZ, J. G.; MEIJA, A.; DEL PORTILLO, P.; PATARROYO, M. E.; MURILLI, L. A. 1995 Species-specific identification of *Mycobacterium bovis* by PCR. **Microbiology**, v.141, p.2131-2136.

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

SILVA, M. H. 1991 **Efeito do resfriamento e estocagem sobre alguns grupos de microrganismos e propriedades físico-químicas do leite**. Viçosa: UFV, p.104.

SHALM, O. W.; CARROL, E. J.; JAIN, N. C. 1971 **Bovine Mastitis**. Philadelphia : Lea e Febiger, , p.31.

SILVEIRA, I. A.; CARVALHO, E. P.; TEIXEIRA, D. 1998 Influência de microrganismos psicrotróficos sobre a qualidade do leite refrigerado. Uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.12, n. 55, p. 21-27.

SMITH, K.L.; TODHUNTER, P.A., SCHOMBERGER, P.S. 1985. Enviromental mastitis: cause, prevalence, prevencion. **J. Dairy Sci.**, v.68, p.1531-1553.

SOUZA, L.C.; CORTÊS, V.A. 1992 Condições sanitárias da água de bebida fornecida aos animais do Campus de Botucatu/SP. **Veterinária e Zootecnia** . São Paulo. v.4, p.17-24.

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

STUKEL, T. A; GREENBERG E. R.; DAIN, B. J.; REED, F. C., JACOBS, N. J. A 1990 longitudinal study of rainfall and coliform contamination in small community drinking water supplies. **Environ Sci Technol**, 24, p.571-575.

TIMMS, L. L.; SHULTZ, L.H. 1987 Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.70, n.12, p.2648-2657.

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

VON DE AA. 1971. **Higiene Veterinária Moderna**. 1 ed. Zaragoza: Acribia, p.151.

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

ZANELLA, M. B. et al. 2006 Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 153-159, jan.

## **CAPÍTULO 1**

### **QUALIDADE SANITÁRIA E MICROBIOLÓGICA DA ÁGUA UTILIZADA EM PROPRIEDADES LEITEIRAS EM AMARGOSA, BAHIA <sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo submetido ao comitê editorial do periódico científico da Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.

## Qualidade sanitária e microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras em Amargosa, Bahia

### RESUMO

A água utilizada no manejo da ordenha pode interferir tanto na sanidade do rebanho quanto na qualidade do produto final: o leite. Foi realizada a coleta da água de torneira usada na higienização do úbere dos animais, equipamentos e utensílios da ordenha oriunda de cinco propriedades leiteiras do município de Amargosa, Bahia, objetivando avaliar a qualidade sanitária da mesma. Para isso foram realizadas análises microbiológicas da água a partir da técnica dos tubos múltiplos e da contagem de microrganismos mesófilos. Com relação a água utilizada no processo da ordenha, em 100% das propriedades a contagem de microrganismos mesófilos e em 40% das propriedades NMP de coliformes totais e *Escherichia coli* esteve fora dos padrões determinados pela Portaria nº 518/2004 do Ministério da Saúde. Os resultados obtidos mostraram que a água utilizada em propriedades leiteiras pode representar risco à qualidade do leite.

**Palavras-chave:** água, qualidade, ordenha, coliformes, mesófilos.

### ABSTRACT

The water used in the handling of milk can cause risk in the animal health and in the quality of milk. It was realized a collecting of faucet water used in the higienization of animal nipples, equipments and milk instruments by five dairy farms at the Amargosa's city, Bahia, aiming evaluate sanitary quality of the water. For that, it were realized microbiologicals analysis of water using counting of mesophilic microorganisms and NMP of total coliforms total and *Escherichia coli*. Regarding the water used milk process, 100% of dairy farms the counting of mesophilic microorganisms and 40% of dairy farms the NMP total coliforms total and *Escherichia coli* didn't meet requirements by regulation 518/2004 issued by Brazilian Health Ministry. Results showed that water used in dairies may be harmful and jeopardize milk quality.

**Key words:** water, quality, handling, coliforms, mesophilic.

## Introdução

A qualidade do leite depende de vários fatores como o manejo e estado sanitário do rebanho, a limpeza do local e asseio do pessoal, a higiene dos equipamentos e utensílios usados durante a ordenha e particularmente a qualidade da água utilizada nesse processo produtivo.

Na maioria das vezes a água usada nas propriedades leiteiras é negligenciada quanto a sua qualidade e não atende, com frequência aos padrões preconizados pela portaria nº 518 de 25 de março de 2004.

Para avaliar as condições sanitárias de uma água, utilizam-se bactérias do grupo coliforme que podem atuar como indicadores de poluição de origem fecal, pois ocorrem em grande número na flora intestinal humana e de animais de sangue quente. A presença de coliformes na água indica contaminação, com risco potencial da presença de organismos patogênicos e sua ausência evidencia uma água bacteriologicamente potável.

O risco de ocorrer mastite por *Staphylococcus aureus* aumenta quando se utiliza água não tratada no processo de obtenção de leite ou quando água de lavagem do úbere está contaminada por coliformes (Schukken et al., 1991). Outro exemplo de contaminação veiculado pela água foi verificado em pesquisa por Hutabarat et al. (1985), em que determinou-se que a incidência de mastite foi de 22,4% quando a água era de boa qualidade e de 38,0% quando de má qualidade.

Segundo Lager et al. (2000), a contaminação bacteriana de água é muito grave, porque afeta a saúde da família rural e do rebanho, a higiene e a desinfecção dos equipamentos de ordenha. Isto porque após o enxágüe final com essa água ocorrerá recontaminação dos equipamentos, ao invés do efeito desejado.

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

Este trabalho teve como objetivo verificar o papel da água durante a produção de leite como via de transmissão de microrganismos mesófilos, e de

quantificar os coliformes totais e termotolerantes em uma propriedade leiteira no município de Amargosa, situado no estado da Bahia.

### **Material e Métodos**

O trabalho foi realizado em cinco propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia durante os meses de abril, maio e junho de 2009, cuja a produção é entregue num laticínio localizado no referido município.

Constatou-se que das seis propriedades leiteiras pesquisadas, apenas uma realizada a lavagem do úbere, porém não secava com papel toalha. Nenhuma delas realizava o “pré-dipping” e o “pós-dipping”. Verificou-se que a média de produção de leite era de 10L/dia. O número médio do plantel em lactação era de 30 vacas. Essas informações foram obtidas a partir da aplicação de um questionário zootécnico.

As amostras de leite foram colhidas nas propriedades durante a primeira ordenha do dia no período da manhã. Estas foram processadas no laboratório de tecnologia de leite da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no mesmo dia de cada coleta.

Foram realizadas as seguintes análises :

#### **Deteção de coliformes**

Foi coletada, assepticamente, 500 mL de água de torneira da sala de ordenha, em 5 propriedades leiteiras no município de Amargosa, durante os meses de maio e de junho de 2009. Em seguida as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica com gelo reciclável e enviada ao sendo processadas no mesmo dia da coleta.

Inicialmente as amostras de água foram homogeneizadas. Em seguida, foi pipetado 1mL de cada amostra e inoculada em 9 mL de peptona estéril. A partir daí iniciou-se as diluições a partir de  $10^{-1}$ , sucessivamente até  $10^{-8}$ . Foram utilizados 25 tubos de ensaio com cinco séries de cinco tubos, sendo que cada série pertencia a uma diluição. Como foram realizadas 2 repetições, totalizaram-se o uso de 50 tubos de ensaio por amostra. Para realizar a fase presuntiva, ou seja a determinação de coliformes totais, foi utilizado 7 mL, em cada tubo de ensaio, do Caldo Lauril Sulfato Triptose, em que foi inoculado 1mL da amostra previamente diluída. Portanto a cada cinco tubos de ensaio foi inoculado 1 mL da

amostra com a diluição  $10^{-4}$  até a diluição  $10^{-8}$ . Após o final desse processo as grades contendo os 50 tubos de ensaio identificados foram levados à estufa de incubação à temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 48 horas. Passado esse período, realizou-se a 1ª leitura do material incubado. Foi verificado o número de tubos que deram resultados positivos, isto é, que sofreram turvação do meio e formação ou não de gás, detectado em tubos de Durham invertidos. A turvação do meio ocorre decorrente da fermentação da lactose com acidificação deste. Apenas nos tubos positivos foi feito o seguinte processamento: foi retirado o inóculo com o auxílio de uma alça de platina flambada e inoculado primeiro em tubos de ensaio contendo o Caldo Bile Verde Brilhante a 2%, e destes para o Caldo EC, seletivo para *E. coli*. Importante mencionar que todo esse processamento da amostra foi realizado próximo ao bico de bunsen. Em seguida os tubos foram devidamente identificados e levados ao banho-maria à temperatura de  $44,5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 24 horas. Posteriormente foi feita a leitura dos tubos, sendo observado a turvação do meio EC, com a formação de gás, quando positivos para coliformes termotolerantes (Rompré et al., 2002). Essa fase é a confirmativa. Ao final de todo esse processo, obteve-se o resultado em que foi utilizado a tabela do Número Mais do Provável (NMP). O método utilizado foi o dos tubos múltiplos para a determinação do Número Mais Provável (NMP) (APHA, 1995).

### **Contagem de mesófilos**

Para o contagem de microrganismos mesófilos aeróbios e anaeróbios, foi feita a diluição  $10^{-1}$ , sucessivamente até  $10^{-5}$  próximo ao bico de bunsen, com auxílio de uma pipeta automática. Um volume de 1 mL da amostra de leite foi inoculado em um tubo contendo 9 mL de água peptonada, previamente preparada e esterilizada. Assim, foi obtida a diluição  $10^{-1}$  em tubo identificado. Foi pipetado 1 mL da amostra e adicionado na placa de petri vazia estéril, logo em seguida foi vertido 15 mL de meio de cultura ágar padrão de contagem (APHA, 1998). Este, denominado de PCA (Plate Count Agar) foi fundido e resfriado à  $45^{\circ}\text{C}$ , realizou-se a homogeneização do inóculo com o meio de cultura, através de movimentos suaves. As placas de petri foram incubadas na estufa à temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 48 horas, após completa solidificação do meio de cultura no interior das placas de petri. Esta técnica para contagem e isolamento de microrganismos é denominada de método espalhamento por profundidade (pour

plate). Foi realizada a leitura de colônias crescidas tanto na superfície como no interior do ágar solidificado utilizando um contador de colônias. Foram feitas 2 repetições, sendo que em cada repetição foram utilizadas 2 placas de petri, totalizando 4 placas. A técnica de diluição em placas foi realizada de acordo com metodologia descrita por Morton, R. D., 2001.

### Resultados e Discussões

Pela Portaria nº 518, a água utilizada em sala de ordenha deve apresentar um valor máximo de 1000 coliformes fecais em 100 mL de amostra. Esse parâmetro foi utilizado como referência para os valores encontrados das amostras de água coletadas a partir da pesquisa de bactérias do grupo coliformes. Já para a contagem de mesófilos, os resultados foram comparados aos padrões estabelecidos pela Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. De acordo com esta, o valor máximo da contagem bacteriana total é de 500 UFC /mL.

Os resultados das análises de água para a pesquisa de coliformes totais e termotolerantes provenientes de torneira da sala de ordenha das propriedades leiteiras do município de Amargosa, Bahia estão demonstrados na tabela 1.

Tabela 1 – Coliformes totais e termotolerantes em amostras de água de torneira da sala de ordenha coletadas em 5 propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia.

Propriedades	Nº de repetições	Coliformes totais (NMP/100mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)
1	R <sub>1</sub>	≥ 1600 A	≥ 1600 A
	R <sub>2</sub>	≥ 1600 A	≥ 1600 A
2	R <sub>1</sub>	90 B	90 B
	R <sub>2</sub>	90 B	60 B
3	R <sub>1</sub>	≥ 1600 A	900 A
	R <sub>2</sub>	≥ 1600 A	≥ 1600 A
4	R <sub>1</sub>	900 A	500 A
	R <sub>2</sub>	300 B	≥ 1600 A
5	R <sub>1</sub>	14 C	14 C
	R <sub>2</sub>	14 C	14 C

Em cada coluna, valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo Teste Tukey a 5 e 1 %.

Segundo os resultados encontrados pode-se afirmar que a propriedade 1 apresentou contagem de coliformes totais e termotolerantes  $\geq 1600$  NMP/100mL ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ), nas duas repetições realizadas. Já a propriedade 3 apresentou contagem de coliformes totais  $\geq 1600$  NMP/100mL ( $p < 0,05$  e  $0,01$ ), nas duas repetições realizadas e contagem de coliformes termotolerantes de 900 NMP/100mL na  $R_1$  e  $\geq 1600$  NMP/100mL na  $R_2$ . Na propriedade 4, apenas a contagem de coliformes termotolerantes, na  $R_2$  esteve fora dos padrões microbiológicos estabelecidos pela portaria nº 518, que foi  $\geq 1600$  NMP/100mL. Portanto, pode-se afirmar que as propriedades 1 e 3 encontravam-se fora dos padrões microbiológicos estabelecidos pela portaria nº 518. Em relação as propriedades 2, 4 e 5 verificou-se que estas se encontravam dentro dos padrões de qualidade sanitária determinados pela Portaria nº 518.

É provável que os resultados evidenciados a partir da pesquisa de coliformes totais e termotolerantes nas propriedades 1 e 3 sejam consequência do uso de uma água com qualidade duvidosa nessa etapa do processo produtivo. Cruz (1892), já citava a importância da qualidade da água para a saúde pública e a importância de estudos nesta área para a prevenção de enfermidades relacionadas com possíveis microrganismos patogênicos isolados.

Outro motivo seria a origem dessa água, segundo Geldreich (1998) apud Amaral et al. (2003) afirma que a água de escoamento superficial é o principal fator que modifica a qualidade microbiológica da água subterrânea, tornando-a um risco à saúde. Segundo Stukel et al. (1990) apud Amaral et al. (2003) esse risco é alto no meio rural, principalmente pela possibilidade de contaminação bacteriana das águas de poços velhos, inadequadamente vedados e próximos às fontes de contaminação. A inexistência, na maioria das fontes, de fatores de proteção para a preservação da qualidade da água (calçada ao redor da fonte, tampa, parede externa acima do solo, revestimento interno, localização no ponto mais alto do terreno, fossa com distância maior que 30 metros), evidencia a necessidade de um trabalho de orientação às pessoas que utilizam essas águas, com o objetivo de manter sua qualidade. Os altos índices de contaminação da fonte estudada evidenciam riscos à saúde que esse tipo de fonte pode representar, caso não sejam aplicadas medidas visando ao tratamento e à preservação da qualidade microbiológica da água.

Segundo OPAS (1987), a contaminação das fontes se dá pela incorporação de resíduos, principalmente de excretas humanas e animais. Amaral et al. (1995), verificaram que em muitas propriedades rurais ocorre a disposição inadequada de resíduos orgânicos das atividades humana e animal, confirmando a contaminação da água obtida nas propriedades leiteiras.

Resultados foram evidenciados por Rapini et al. (2003) em propriedades leiteiras da região metropolitana de Belo Horizonte, MG, em que 76,8 % e 60,9 % da água utilizada na limpeza dos equipamentos e utensílios de ordenha apresentavam coliformes totais e coliformes termotolerantes, respectivamente. Tornando necessário o monitoramento da qualidade da água, evitando a contaminação do leite.

Os resultados obtidos a partir da contagem de mesófilos oriundos das amostras de água de torneira utilizada durante a ordenha podem ser verificados nas tabelas 2, 3 e 4.

Tabela 2 – Contagem de microrganismos mesófilos obtidos de amostras de água de torneira da sala de ordenha das propriedades leiteiras, utilizando as diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ .

Propriedades	Nº de repetições	Mesófilos (NMP.mL <sup>-1</sup> )	Mesófilos (NMP.mL <sup>-2</sup> )
1	R <sub>1</sub>	122 x 10 <sup>1A</sup>	121 x 10 <sup>2A</sup>
		109 x 10 <sup>1A</sup>	88 x 10 <sup>2A</sup>
	R <sub>2</sub>	139 x 10 <sup>1A</sup>	81 x 10 <sup>2A</sup>
		123 x 10 <sup>1A</sup>	136 x 10 <sup>2A</sup>
2	R <sub>1</sub>	70 x 10 <sup>1A</sup>	85 x 10 <sup>2A</sup>
		82 x 10 <sup>1A</sup>	88 x 10 <sup>2A</sup>
	R <sub>2</sub>	91 x 10 <sup>1A</sup>	90 x 10 <sup>2A</sup>
		75 x 10 <sup>1A</sup>	77 x 10 <sup>2</sup>

Em cada coluna, valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo Teste Tukey a 5 e 1 %.

Tabela 3 – Contagem de microrganismos mesófilos obtidos de amostras de água de torneira da sala de ordenha da propriedade 3, utilizando as diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ .

Propriedade	Nº de repetições	Mesófilos (NMP.mL <sup>-3</sup> )	Mesófilos (NMP.mL <sup>-4</sup> )
3	R <sub>1</sub>	66 x 10 <sup>3 A</sup>	110 x 10 <sup>4 A</sup>
		65 x 10 <sup>3 A</sup>	42 x 10 <sup>4 A</sup>
	R <sub>2</sub>	89 x 10 <sup>3 A</sup>	73 x 10 <sup>4 A</sup>
		90 x 10 <sup>3 A</sup>	70 x 10 <sup>4 A</sup>

Em cada coluna, valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo Teste Tukey a 5 e 1 %.

Tabela 4 – Contagem de microrganismos mesófilos obtidos de amostras de água de torneira da sala de ordenha das propriedades 3, utilizando as diluições  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ .

Propriedades	Nº de repetições	Mesófilos (NMP.mL <sup>-4</sup> )	Mesófilos (NMP.mL <sup>-5</sup> )
4	R <sub>1</sub>	59 x 10 <sup>4 A</sup>	30 x 10 <sup>5 A</sup>
		64 x 10 <sup>4 A</sup>	127 x 10 <sup>5 A</sup>
	R <sub>2</sub>	76 x 10 <sup>4 A</sup>	303 x 10 <sup>5 A</sup>
		80 x 10 <sup>4 A</sup>	31 x 10 <sup>5 A</sup>
5	R <sub>1</sub>	35 x 10 <sup>4 A</sup>	33 x 10 <sup>5 A</sup>
		28 x 10 <sup>4 A</sup>	34 x 10 <sup>5 A</sup>
	R <sub>2</sub>	40 x 10 <sup>4 A</sup>	27 x 10 <sup>5 A</sup>
		26 x 10 <sup>4 A</sup>	26 x 10 <sup>5 A</sup>

Em cada coluna, valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo Teste Tukey a 5 e 1 %.

A partir dos resultados apresentados nas tabelas 2, 3 e 4, verificamos que todas as propriedades estudadas encontravam-se fora dos padrões estabelecidos pela Portaria nº 518 de 25 de março de 2004. De acordo com esta, o valor máximo da contagem bacteriana total é de 500 UFC /mL. Logo a água aqui avaliada não esteve dentro da legislação.

No que se refere à saúde pública, a água utilizada na produção de leite com qualidade higiênico-sanitária insatisfatória, como foi o caso das amostras analisadas nessa pesquisa, pode veicular microrganismos ao leite, transformando-se em um produto de risco à saúde humana. A esse respeito Galbraith e Pusey (1984) relatam, na Inglaterra, a ocorrência de 10 surtos de doenças transmitidas pelo leite contaminado pela água durante o processo de produção.

Devido a situação como estas, a baixa qualidade microbiológica da água utilizada nas fazendas, indica a necessidade de mais pesquisas e de adoção de medidas preventivas, devido ao risco de contaminação do leite, interferindo em sua qualidade final.

### **Conclusões**

Verificou-se que a água utilizada na sala de ordenha não estava dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação, desse modo torna-se necessário buscar garantir o uso de água de qualidade durante a ordenha, para contribuir com a obtenção de um leite de qualidade, através da realização de manejo sanitário durante todo o processo de produção na propriedade leiteira.

Isso evidencia a necessidade de um trabalho de promoção à saúde junto à população do meio rural, assim como o controle da qualidade da água para contribuir com a garantia de obtenção de um produto de origem animal que não coloque em risco a saúde humana, além de preservar a sanidade do gado leiteiro.

## Referências Bibliográficas

AMARAL, L.; JUNIOR, D.; NADER A.; FERREIRA, F. I.; BARROS, L. S. 2003 Ocorrência de *Staphylococcus* SP. Em água utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, Belo Horizonte, v.55, n.5, p. 620-623, out..

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1995 **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19 ed. Washington, p.1100.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1998 **Standard methods for examination of water and wastewater**. 20 ed. Washington: American Public Association,. p.1220.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº518**, de 25 de março de 2004. [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria\\_518\\_2004.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518_2004.pdf) Acesso em: 20 de ago de 2009

DELGADO-PERTIÑEZ, M.; ALCALD, M. J.; GUZMAM-GUERRERO, J.L.; COLTEL, J.M.; MEMA, Y.; CARAVACA, F. 2003 Effect of hygiene sanitary management of goat milk quality in semi-extensive systems in Spain. **Small Ruminant Research**, v.47, p.51- 61.

FOSCHINO, R.; INVERNIZZI, A.; BARUCCO, R.; STRADIOTTO, K. 2002. Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. **Journal of Dairy Research**, v.69, p.213-25,

GALBRAITH, N.S.; & PUSEY, J.J. 1984 Milkborne infections disease in England and Wales 1938-1982. In: FREED, D. L. J. (Ed.). **Health hazards of milk**. London: Baillieri Tindall,.

GELDREICH, E.E. 1998. The bacteriology of water. In: **Microbiology and Microbial Infections**. 9 ed, Arnold Pub, London

MORGAN, F.; MASSOURAS, T.; BARBOSA, M.; ROSEIRO, L.; RAVASCO, F.; KANDAKARIS, I.; BONNIN, V.; FISTAKORIS, M.; ANIFANTAKIS, E.; JAUBERT, G.; RAYNAL-LJUTOVAC, K. 2003 Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. **Small Ruminant Research**, v.47, p.39-49.

MORTON, R.D. 2001 Aerobic Plate Count. In: **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**, 4. ed. Washington DC. American Public Health Association. Frances Pouch Downes & Keith Ito (Eds.),. p.63-67.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD. 1987. **Guia para La calidad Del água potable**. Washington: OMS, v.2.

RAPINI, L. S.; SOUZA, R. M. B.; CERQUEIRA, M. M. O. P; SOUZA, M. R.; 2003 Qualidade microbiológica do água de propriedades leiteiras situadas na região metropolitana de Belo Horizonte MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes** v.58, n.333, p. 95-98 jul/ago.

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

ROMPRÉ, A.; Servais, P.; Baudart, J.; Roubin, M-R. de; Laurent, P. ().2002. Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging. **Journal of Microbiological Methods** , v.49: p.31-35,

SCHUKKEN, Y. H.; GROMMER, F. J.; VAN DER GREER, D. 1991 risk factors for clinical mastitis in herds with low bulk milk somatic cell count. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* . **Journal Dairy of Science**, v.74, p.826-832.

STUKEL, T. A; GREENBERG E. R.; DAIN, B. J.; REED, F. C., JACOBS, N. J. A  
1990 longitudinal study of rainfall and coliform contamination in small community  
drinking water supplies. **Environ Sci Technol**, 24, p.571-575.

## **CAPÍTULO 2**

**QUALIDADE SANITÁRIA E MICROBIOLÓGICA DO LEITE CRU DE  
PROPRIEDADES LEITEIRAS NO MUNICÍPIO DE AMARGOSA, BAHIA**

## **Qualidade sanitária e microbiológica do leite cru de propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia**

Resumo - O monitoramento da qualidade higiênico-sanitária do leite cru foi realizado através da determinação do NMP de coliformes totais e fecais, usando a técnica de tubos múltiplos em 5 propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia. Avaliaram-se também a sua qualidade microbiológica, a partir da contagem padrão em placas, pesquisa de fungos, de enterobactérias e de bactérias aeróbias e anaeróbias, e o teste de mastite. Os resultados obtidos das amostras de leite cru mostram que sua qualidade é insatisfatória, já que foi detectado 9,68% de mastite clínica e 35,48% de mastite subclínica; 12,74% de *Staphylococcus aureus*, 18,26% de enterobactérias, 12,5% de *Candida albicans*, 7,5% de *Candida krusei*, 10% de *Candida tropicalis* e 42,5% de outros tipos de *Cândida*, em 60% das propriedades a contagem de microrganismos mesófilos e em 100% das propriedades o NMP de coliformes totais e fecais esteve fora dos padrões determinados pela Instrução Normativa nº 51 do MAPA (IN 51). É importante monitorar a qualidade do leite cru produzido na propriedade para garantirmos que o produto não ponha em risco a saúde do homem.

Palavras-chave: leite cru, qualidade, coliformes, mesófilos, fungos

Abstract - A control of the sanitary-hygienic conditions of the raw milk, through the determination of the MPN of total coliform, fecal coliform in 5 dairies in Amargosa'city, Bahia. The microbiological quality of milk was examined about standard plate count, contamination fungus, aerobic e anaerobic bacterium and enterobacterium, and California Mastitis Test. The results showed that the quality of raw milk samples is unsatisfactory, for, only it was detected 9,68% of clinical mastits and 35,48% of subclinical mastits; 12,74% of *Staphylococcus aureus*, 18,26% of enterobacterium, 12,5% of *Candida albicans*, 7,5% of *Candida krusei*, 10% of *Candida tropicalis* and 42,5% of the others species of *Candida*, 60% of dairy farms the couting of mesophilic microrganisms and 100% of dairy farms the NMP of total coliforms and fecal coliforms didn't meet requirements of Ruling Protocol 51 of MAPA (NI 51) . It's important control the quality of raw milk produced in dairies for guarantee that the product doesn't may in risk the human health.

Key words: raw milk, quality, coliforms, mesophilic, fungus

## Introdução

O leite é um dos alimentos mais utilizados na dieta humana devido ao seu alto valor nutricional. Possui alta digestibilidade, além de ser uma fonte excelente de nutrientes como proteínas, carboidratos e sais minerais. Porém, devido a sua riqueza nutricional, o leite está sujeito à colonização por um grande número de microrganismos potencialmente patogênicos ao homem, sendo considerado como um meio de cultura favorável ao desenvolvimento microbiano.

O leite cru pode causar doenças zoonóticas, por isso o controle microbiológico desse alimento inicia-se com cuidados em relação à sanidade animal, com o manejo higiênico da ordenha, assim como condições adequadas de higiene durante o processo de beneficiamento para minimizar os prováveis riscos à saúde humana.

Entre os indicadores para se avaliar a qualidade do leite, os mais importantes estão os relacionados às suas características microbiológicas. A avaliação destes permite verificar as condições de obtenção, processamento e armazenamento adequado e a sua distribuição para o consumo. Podemos citar a incidência de mastite no rebanho como um indicador higiênico-sanitário desse processo leiteiro. Dentre os agentes causadores dessa enfermidade temos as bactérias, fungos e algas, sendo com maior frequência as bactérias. Contudo, os fungos leveduriformes e filamentosos são também agentes infecciosos do úbere da vaca, ocasionando desse forma em perdas produtivas em rebanhos leiteiros.

Os principais grupos de microrganismos indicadores de qualidade do leite são os aeróbios mesófilos e os coliformes. Os mesófilos são os microrganismos capazes de crescer a uma temperatura de 35° a 37°C em condições de aerobiose. Esses microrganismos indicam a qualidade com que o alimento foi obtido ou processado, e a presença destes em alta contagem indica procedimento higiênico inadequado durante as etapas da cadeia produtiva do leite. Já a contagem de coliformes é um importante indicativo de qualidade sanitária do leite cru, pois a presença desse grupo indica uma possível contaminação de origem fecal.

Com o objetivo de melhorar a qualidade do leite produzido, estão ocorrendo mudanças no setor leiteiro em relação à refrigeração do leite na propriedade e durante o transporte a granel. A refrigeração do leite, entre 4° a-

5°C, tem como objetivo controlar a multiplicação de microrganismos mesófilos. Essa mudança foi implementada pela Instrução Normativa nº 51, de modo que esta vem contribuindo com a modernização do mercado do leite, tornando-o um produto mais atrativo, tanto no mercado interno quanto no externo. É importante citar alguns programas de incentivo aos produtores, como por exemplo o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose que tem como objetivo reduzir a incidência de microrganismos patogênicos presentes no leite, garantindo dessa forma sua qualidade.

Este trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica e sanitária de leite cru através das seguintes análises microbiológicas: contagem de bactérias aeróbias mesófilas, determinação do Número Mais Provável (NMP), pesquisa de coliformes totais e fecais no leite, isolamento de bactérias aeróbias e anaeróbias, isolamento de fungos, especificamente *Cândida albicans*, *Cândida tropicalis*, *Cândida krusei* e outras espécies, pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* e micobactérias atípicas, além da realização de teste de mastite (CMT) em 10% do plantel em seis propriedades leiteiras no município de Amargosa, situado no estado da Bahia.

### **Material e Métodos**

Para determinar a qualidade do leite foi realizada a coleta asséptica do leite cru em seis propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia durante os meses de abril, maio e junho de 2009, em que três propriedades a ordenha era manual e as outras três era mecânica, sendo estas de pequenos produtores.

O leite coletado foi acondicionado assepticamente em frascos de vidro de 500 mL esterelizados e alocados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável e foram enviados ao laboratório de tecnologia de leite da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, onde as análises foram realizadas no mesmo dia da coleta.

#### **California Mastitis Test (CMT) - Teste de mastite**

A coleta das amostras de leite foi realizada em 6 propriedades leiteiras em 10% do plantel das fêmeas em lactação durante a primeira ordenha do dia. Para isso, primeiro realizou-se a higiene do úbere das vacas com água e secagem com papel toalha. Em seguida, os canais das tetas foram limpos com álcool etílico a 70%. De cada animal foi coletada 4 amostras, sendo uma de cada teta,

respectivamente. A metodologia usada para o CMT foi a preconizada por Schalm (1957). A reação inflamatória foi caracterizada com base na interpretação da reação do leite frente ao reagente, considerando-se o teste negativo quando houver formação de gel; suspeito com ligeira precipitação; e positivo com formação de gel em diferentes escalas (tabela 1)

Tabela 1. Interpretação do California Mastitis Test (CMT)

Interpretação	Reação
Sem formação de gel	Negativo
Ligeira precipitação	Traços (TR)
Formação de gel	Positiva fraca (+)
Gel mais espesso com mamilo central	Positiva (++)
Gel muito espesso aderido ao fundo da placa	Forte Positiva (+++)

#### **Análises microbiológicas:**

#### **Determinação do Número Mais Provável (NMP) - Pesquisa de coliformes totais e fecais no leite**

Inicialmente as amostras de leite foram homogeneizadas. Em seguida, foi pipetado 1mL de cada amostra e inoculada em 9 mL de peptona estéril. A partir daí iniciou-se as diluições a partir de  $10^{-1}$ , sucessivamente até  $10^{-8}$ . Foram utilizados 25 tubos de ensaio com cinco séries de cinco tubos, sendo que cada série pertencia a uma diluição. Como foram realizadas 2 repetições, totalizaram-se o uso de 50 tubos de ensaio por amostra. Para realizar a fase presuntiva, ou seja a determinação de coliformes totais, foi utilizado 7 mL, em cada tubo de ensaio, do Caldo Lauril Sulfato Triptose, em que foi inoculado 1mL de cada amostra previamente diluída. Portanto a cada cinco tubos de ensaio foi inoculado 1 mL de cada amostra com a diluição  $10^{-4}$  até a diluição  $10^{-8}$ . Após o final desse processo as grades contendo os 50 tubos de ensaio identificados foram levados à estufa de incubação à temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 48 horas. Passado esse período, realizou-se a 1ª leitura do material incubado. Foi verificado o número de tubos que deram resultados positivos, isto é, sofreram turvação do meio e formação ou não de gás, detectado em tubos de Dühran invertidos. A turvação do meio ocorre decorrente da fermentação da lactose com acidificação

deste. Apenas nos tubos positivos foi feito o seguinte processamento: foi retirado o inóculo com o auxílio de uma alça de platina flambada e inoculado primeiro em tubos de ensaio contendo o Caldo Bile Verde Brilhante a 2%, e destes para o Caldo EC, seletivo para *E. coli*. Importante mencionar que todo esse processamento das amostras foi realizado próximo ao bico de bunsen. Em seguida os tubos foram devidamente identificados e levados ao banho-maria à temperatura de  $44,5^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 24 horas. Posteriormente foi feita a leitura dos tubos, sendo observado a turvação do meio EC, com a formação de gás, quando positivos para coliformes termotolerantes (Rompré et al., 2002). Essa fase é a confirmativa. Ao final de todo esse processo, obteve-se o resultado em que foi utilizado a tabela do Número Mais do Provável (NMP). O método utilizado foi o dos tubos múltiplos para a determinação do Número Mais Provável (NMP) (APHA, 1995).

### **Contagem de bactérias aeróbias mesófilas**

O processamento das amostras de leite cru foi iniciado com a homogeneização destas. Em seguida, com auxílio de uma pipeta automática foi feita a diluição  $10^{-1}$ , sucessivamente até  $10^{-5}$  próximo ao bico de bunsen. Um volume de 1 mL de cada amostra de leite foi semeado em um tubo contendo 9 mL de água peptonada, previamente preparada e esterilizada. Assim, foi obtida a diluição  $10^{-1}$ , sucessivamente até  $10^{-5}$  em tubo identificado. Foi pipetado 1 mL de cada amostra e adicionado na placa de petri vazia estéril, logo em seguida foi vertido 15 mL de meio de cultura ágar padrão para contagem (APHA, 1998). Este, denominado de PCA (Plate Count Agar) foi fundido e resfriado à  $45^{\circ}\text{C}$ , realizou-se a homogeneização do inóculo com o meio de cultura, através de movimentos suaves. As placas de petri foram incubadas na estufa à temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 48 horas, após completa solidificação do meio de cultura no interior das placas de petri. Esta técnica para contagem e isolamento de microrganismos é denominada de método espalhamento por profundidade (pour plate). Foi realizada a leitura de colônias crescidas tanto na superfície como no interior do ágar solidificado utilizando um contador de colônias. Foram feitas 2 repetições, sendo que em cada repetição foram utilizadas 2 placas de petri, totalizando 4 placas por amostra. A técnica de diluição em placas foi realizada de acordo com metodologia descrita por Morton, R. D., 2001.

### **Pesquisa de *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* e micobactérias atípicas**

Para a pesquisa dos agentes etiológicos da tuberculose foi utilizado o Sistema Hemobac Trifásico Anaeróbico da Probac do Brasil. Inicialmente as amostras de leite foram descontaminadas, usando uma solução de hidróxido de sódio a 4%, e neutralizada com ácido hidrocloreídrico. A suspensão foi centrifugada a 13.000 RPM e o sobrenadante descartado, sendo que o sedimento que foi usado como inóculo para o isolamento de micobactérias.

O procedimento realizado foi o seguinte: após a desinfecção com álcool etílico 70% da tampa de borracha do recipiente contendo o caldo, foi inoculado 10 mL da amostra de leite descontaminada neste, seguido de homogeneização desta ao caldo. Realizou-se o encaixe do laminocultivo com esse recipiente contendo o caldo. Após a inversão do frasco, realizou-se a incubação a uma temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 2 horas. Em seguida retornou-se a posição original do frasco até que todo o líquido voltasse para a parte inferior. O sistema é novamente invertido e incubado a uma temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  na estufa por um período de 3 meses, de modo que esse processo foi monitorado até a sua finalização.

### **Isolamento de bactérias aeróbias e anaeróbias**

As amostras de leite cru coletadas foram previamente homogeneizadas, em seguida semeadas, com auxílio de swab esterelizado, nos seguintes meios de cultura: Ágar Sangue e Ágar MacConkey. Foram utilizadas 3 placas de petri esterelizadas contendo os respectivos meios de cultura também previamente esterelizados por cada repetição, sendo que foram realizadas 3 repetições, totalizando portanto um total de nove placas de petri para cada meio de cultura. Após o semeio da amostra de leite cru nos 3 meios de cultura referidos acima, as placas de petri foram incubadas na estufa a uma temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 48 horas.

Após esse período de incubação, as placas foram examinadas para o crescimento bacteriano no Ágar Sangue e no Ágar MacConkey. Quando houve crescimento três colônias de cada repetição foram semeadas em placas de petri contendo Agar Nutriente usando a técnica do estriamento, e a seguir foram incubadas em estufa a uma temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  por um período de 48

horas, e após armazenados sob refrigeração até a realização dos testes bioquímicos. Das placas de ágar nutriente, os isolados bacterianos foram caracterizados através da micromorfologia, com coloração Gram, determinando as bactérias Gram - negativas e as Gram - positivas, as quais foram observadas no microscópio óptico. Baseado nas lâminas que apresentaram bactérias Gram - negativas (coloração vermelha), os isolados foram inoculadas no BHI (meio para enriquecimento), para realizar os testes bioquímicos de enterobactérias e oxidase. A confecção de lâminas foi realizada para a coloração gram, a partir de inóculos de colônias desses meios de cultura segundo Tortora et al.(2000).

Referentes às lâminas, foram considerados como *Staphylococcus* sp, os isolados que apresentaram características micromorfológica típica de cocos Gram-positivos (coloração roxa), agrupados em cachos. Foram então retiradas amostras destas colônias com uma alça de platina a partir do ágar nutriente e inoculada no caldo BHI, sendo incubadas na estufa por 18 horas a 35 °C(*overnight*), os tubos com resultados positivos apresentaram turvação do meio, os quais foram utilizados para os testes confirmativo de *Staphylococcus aureus* (Staphy-test).

No Staphy-test foi utilizado dois reativos Staphy-test R e Sthaphy-test C, onde foram agitadas até ressuspender as hemácias e então adicionadas uma gota de cada reativo sobre a lâmina. Em seguida com o auxílio de uma alça de platina adicionou-se uma gota da suspensão de colônias dos tubos positivos com suspeita de *Staphylococcus aureus* do BHI, na gota do Staphy-test C(contrôle), e em seguida flambou-se a alça e procedeu-se da mesma maneira para o Staphy-test R realizando movimentos rotatórios até homogeneizar na lâmina para a realização da leitura através da observação da suspensão contra a um fundo escuro. As amostras positivas para *Staphylococcus aureus*, foram aquelas que em 5 segundos apresentaram reação de aglutinação fortemente positiva (formação de grumos) no Staphy-test R e negativa para Staphy-test C.

Foram consideradas como pertencentes à família *Enterobacteriaceae* as espécies com morfologia de bacilos Gram negativos, identificado nas lâminas e com citocromo oxidase negativos. Para identificação das espécies das enterobactérias isoladas, foi realizado inicialmente o método de suspensão direta de bactérias. Selecionou-se de 3 colônias, bem isoladas das placas de Agar nutriente, com auxílio da laça de níquel para cada tubo estéril contendo 3 mL da

solução inoculante Probac do Brasil, comparando-se com a solução padrão de turbidez (solução padrão McFarland 0,5), composta por sulfato de Bário ( $\text{BaSO}_4$ ).

Em seguida distribuiu-se 0,1 mL desta turvação, bem homogeneizada em cada porção da microplaca do painel de análise para enterobactérias, com auxílio de uma pipeta estéril.

Foram realizados testes bioquímicos a partir das seguintes provas: indol (IND), utilização de glicose e produção de acetoina (VP), utilização do citrato como única fonte de carbono (CIT), produção de gás sulfídrico ( $\text{H}_2\text{S}$ ), hidrólise da uréia (URE), triptofano desaminase (PDA), controle da descarboxilação (CTR), descarboxilação de lisina (LIS), de arginina (ARG) e de ornitina (ORN), malonato (MLN), fermentação e oxidação de glicose (GLIC), fermentação de lactose (LAC), sacarose (SAC), manitol (MAN), adonitol (ADO), mioinositol (MIO), sorbitol (SOR), rafinose (RAF), ramnose (RAM), maltose (MAL) e melobiose (MEL),  $\beta$ -D-galactosidase (ONPG), hidrólise da esculina (ESC).

Foi necessário pingar uma gota de óleo mineral estéril nas seguintes provas: produção de gás sulfídrico, hidrólise da uréia, controle da descarboxilação, descarboxilação de lisina, de arginina e de ornitina e fermentação de glicose. Por fim, incubou-se o painel de enterobactérias na estufa a uma temperatura de  $35^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  por 18 horas.

Após a incubação e adição de reagentes ( $\alpha$ -naftol e hidróxido de potássio no VP, cloreto férrico no PDA e reativo de Kovac's no IND) foi realizada a leitura por meio da mudança de cor nos compartimentos e os dados foram adicionados a uma planilha eletrônica componente do conjunto de análise. A identificação da espécie foi realizada pelo programa eletrônico (software) da Probac do Brasil, que também forneceu a porcentagem de confiança da identificação realizada.

Além disso foi realizada também a prova da oxidase do isolado em que foi feito um esfregão com um bastão de vidro na fita, a partir de colônias isoladas do Agar nutriente. A leitura foi realizada observando a presença de cor rosa, preta, correspondendo à oxidase (+) ou a não presença de cor, oxidase (-) alguns segundos após a prova.

**Isolamento de fungos: *Cândida albicans*, *Cândida tropicalis*, *Cândida krusei* e outras espécies.**

As amostras de leite, previamente homogeneizadas, foram inoculadas em Agar Dextrose Sabouraud através da técnica do estriamento com um Swab estéril e incubadas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante o período de 48 horas para isolamento de fungos.

Quando houve crescimento de fungos no Agar Dextrose Sabouraud, esses isolados foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura Agar Nutriente, onde foi realizado o estriado com uma alça de Níquel, incubados a uma temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas e após, foram armazenados em geladeira até serem realizados os testes bioquímicos.

Os testes bioquímicos foram realizados a partir da visualização das placas de petri em que houve crescimento de microorganismos, através de testes de fermentação de carboidratos, assimilação de nitratos e urease-carboidrato utilizando Meio de cultura Cromogênico – CROMOagar *Candida*, para detecção de fungos do gênero *Candida*. Com a alça de Níquel foi retirado uma pequena amostra de uma colônia dos fungos cultivadas no Agar Nutriente e a partir daí estriado no meio de cultura Cromogênico. Após o estriamento, o meio de cultura cromogênico foi incubado em uma temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  durante um período de 48 horas. Após esse período, foram identificados os isolados de fungos classificados através da cor típica da colônia onde, a cor verde corresponde a espécie *Candida albicans*, a cor azul acinzentado a *Candida tropicalis*, a cor rosa, rugosa a *Candida krusei* e a cor branca à rosa a outras espécies.

**Resultados e Discussões**

Do total de amostras submetidas ao CMT, obtivemos um total de 31 amostras, ou seja oriundas desse mesmo número de vacas em lactação nas 6 propriedades estudadas. Podemos observar os resultados na tabela 1.

Tabela 1 - Resultados dos testes *California Mastitis Test* (CMT) proveniente de 6 propriedades leiteiras no município de Amargosa – BA.

Propriedades	Vacas em lactação	*Animais	Resultados do CMT
1	63	2	Negativo
		3	Mastite Subclínica
		1	Mastite clínica
2	50	1	Negativo
		3	Mastite subclínica
		1	Mastite clínica
3	30	2	Negativo
		1	Mastite clínica
4	100	9	Negativo
		1	Mastite subclínica
5	40	2	Negativo
		2	Mastite subclínica
6	30	1	Negativo
		2	Mastite subclínica

\* Número de Animais submetidos ao teste (10% do plantel em lactação).

Foi verificado que das 31 vacas em lactação submetidas ao CMT, apenas 3 tiveram como resultado a mastite clínica. Sendo que em 11 animais foi detectado a mastite subclínica, uma das principais causas das perda econômica mundial associada a mastite bovina. As perdas econômicas do produtor de leite são atribuídas à queda da produção de leite (70%), aos custos no tratamento, aos exames laboratoriais e com veterinário (8%), a redução da qualidade do preço e do preço pago pelo leite, a perda na produção pelo descarte do leite durante a infecção e o tratamento (8%), a redução do potencial produtivo para o restante da lactação, a elevação do aumento do risco para infecções subseqüentes, ao aumento do descarte precoce e ao risco de morte do animal (14%) (Wescor, 1995; Milner et al., 1996). Desta forma, a prevenção da mastite é a chave para a

redução das perdas nesta atividade. E em 17 animais obteve-se como resultado negativo para incidência de mastite.

Para Fonseca e Santos (2000), não é raro encontrarmos no dia-a-dia falhas grosseiras no sistema de ordenha, que chega a comprometer a tarefa mais elementar de uma propriedade leiteira, que é a simples retirada do leite do interior da glândula mamária.

Brito et al. (1997) consideram o uso regular do CMT como importante ferramenta para melhoria do estado sanitário do rebanho, se utilizado para orientar a adoção de medidas para o controle de mastite, ou associado a práticas adequadas de manejo e higiene. Segundo Sargeant et al. (2001) e Dingwell et al. (2003), o CMT pode ter um papel útil no controle efetivo em programas leiteiros, como teste de triagem para detecção de vacas com mastite subclínica.

Em estudo realizado em fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul, Ribeiro et al. (2003) correlacionaram amostras de leite oriundas de vacas com mastite clínica, subclínica infecciosa e não- infecciosa, diretamente e indiretamente pelo CMT e exame microbiológico. A partir dos resultados obtidos nessa pesquisa quanto à identificação da mastite subclínica pelo CMT, sugere-se maior cautela se utilizada como indicativo de infecção intramamária, devido a ausência de crescimento bacteriológico em grande número de amostras.

A mastite é uma inflamação no úbere da vaca, provocado por microorganismos que são encontrados livres no meio ambiente. Os fungos são exemplos de microrganismos oportunistas, que aproveitam o sistema imunológico debilitado do animal e se desenvolvem provocando doenças e prejudicando o fluxo normal do leite causando prejuízo para o proprietário. *Candida* spp. vivem normalmente em saprobiose, mas em circunstâncias propícias podem desenvolver seu potencial patogênico. Usualmente, a presença de *Candida* spp. no leite ocorre sem patogenia associada, embora possa causar mastite nas formas subclínica, clínica ou crônica. Dependendo da gravidade da infecção, a queda da produção de leite pode ser rápida, apresentando alterações macroscópicas no leite com formação de flocos e grumos (Wawron e Szczubial, 2001).

Em relação aos resultados encontrados a partir da pesquisa de fungos das espécies *Cândida albicans*, *Cândida tropicalis*, *Cândida krusei* e outras espécies obteve-se o seguintes achados registrados na tabela 2:

Tabela 2 - Resultados do isolamento e diferenciação para a presença de fungos do gênero *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei* e outros tipos de *Candida*, isolados do leite de vaca, proveniente de propriedades leiteiras do município de Amargosa – BA..

<b>Propriedade</b>	<b>Isolados</b>	<b>Amostras</b>	<b>Presença de <i>Candida</i></b>
1	2	1	Outros tipos de <i>Candida</i> <i>Candida albicans</i>
	2	2	<i>Candida krusei</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
	2	3	<i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> <i>Candida krusei</i>
	2	4	Outros tipos de <i>Candida</i> <i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i>
	2	5	<i>Candida tropicalis</i> <i>Candida albicans</i>
	2	6	<i>Candida albicans</i> <i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i>
2	2	1	<i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> <i>Candida tropicalis</i> e <i>Candida krusei</i>
	2	2	<i>Candida tropicalis</i> <i>Candida tropicalis</i>
	2	3	<i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> <i>Candida tropicalis</i> e <i>Candida krusei</i>
	2	4	<i>Candida tropicalis</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
	2	5	Outros tipos de <i>Candida</i> Outros tipos de <i>Candida</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
3	2	1	Outros tipos de <i>Candida</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
	2	2	Outros tipos de <i>Candida</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
	2	3	<i>Candida albicans</i> <i>Candida albicans</i> e <i>Candida tropicalis</i>
4	2	1	Outros tipos de <i>Candida</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
	2	2	<i>Candida albicans</i> <i>Candida albicans</i> e outros tipos de <i>Candida</i>
	2	3	Outros tipos de <i>Candida</i> <i>Candida krusei</i>
	2	4	<i>Candida albicans</i> e <i>Candida krusei</i> Ausência de <i>Candida</i>
	2	5	Outros tipos de <i>Candida</i> Outros tipos de <i>Candida</i>
	2	6	Outros tipos de <i>Candida</i>

Os fungos podem ser isolados do leite através de testes microbiológicos, no caso deste trabalho foram isolados leveduras do gênero *Candida*. Dos leites analisados, apesar de 50% não apresentarem mastite micótica (Tabela 1), 97,5% dos testes bioquímicos apresentaram positivos para *Candida* (Tabela 2). No Brasil, no Estado de São Paulo, o isolamento de *C. albicans* ocorreu em 8,9% de 260 amostras de leite de vacas com mastite (Santos e Marin, 2005). No Rio Grande do Sul, Ferreiro *et al.* (1985) detectaram, em 896 amostras de leite mamítico, a presença de *Candida spp.* em 1,3% da amostragem, das quais 0,9% eram *Candida albicans*. Posteriormente, outro estudo no mesmo Estado não detectou a presença de *C. albicans* no leite de animais com mastite clínica e subclínica, apesar de as espécies do gênero *Candida* representarem 37,9% dos isolados fúngicos (Spanemberg *et al.*, 2008).

Pode-se verificar a ocorrência de sérios problemas no que diz respeito a comercialização do leite in natura em municípios produtores de leite, de modo que este alimento é vendido de forma ilegal, isto é fora dos padrões que exigidos pela Instrução Normativa 51 (IN 51). Por isso, a contaminação por microrganismos pode aumentar, já que não se sabe a real qualidade deste leite e nem como ele foi obtido durante o setor primário da cadeia produtiva leiteira.

O teste para a identificação de *Candida* foi feita em duplicata de vinte amostras, totalizando 40 amostras. Seriam 24 amostras em duplicata para 48, porém a propriedade quatro só foram realizados os testes bioquímicos com seis amostras, pois as mesmas deram 90% negativos para mastite micótica.

Do total das 20 (vinte) amostras analisadas para os testes bioquímicos, contida na tabela 2, apenas 2,5% não apresentou presença de *Candida*, mesmo tendo um percentual de 50% negativo para mastite na tabela 1.

Foram encontrados no leite cru, vindo direto dos tetos das vacas, os seguintes fungos leveduriformes do gênero *Candida spp.*: *Candida krusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis* e outros tipos não identificados. Observou-se a presença de fungos em todas as amostras de leite, exceto uma repetição de uma amostra da propriedade quatro. O alto índice de contaminação por *Candida spp.*, pode está relacionado com a falta de higiene durante o processo de ordenha.

A presença de fungos leveduriformes nas amostras analisadas foram de 12,5% de *Candida albicans*, 7,5% de *Candida krusei*, 10% de *Candida tropicalis* e

42,5% de outros tipos de *Candida*. Além disso, foi observado a presença de mais de um tipo de fungo leveduriforme em estriação única em várias amostras (Tabela 2), ou seja, foram encontrados 15% de presença de *Candida albicans* e *Candida krusei*, 5% de *Candida tropicalis* e *Candida krusei*, 2,5% de *Candida albicans* e outros tipos de *Candida* e 2,5% de *Candida albicans* e *Candida tropicalis*, em algumas amostras respectivamente.

Esse resultado mostra que os fungos podem conviver pacificamente com o hospedeiro porém, ao encontrarem condições favoráveis, podem desenvolver seu poder patogênico e causar infecções. As micoses oportunistas podem estar associadas a fatores intrínsecos ao hospedeiro (neoplasias, diabetes, dentre outras, bem como todas as doenças que alteram a imunidade celular) ou fatores extrínsecos (antibioticoterapia, corticoidoterapia, etc.) (Trabulsi *et al.*, 1999). De forma geral estes microrganismos estão associados a quadros patológicos como alergias, otomicoses, ceratomicoses, lesões do palato duro, meningites, endocardites, doenças sistêmicas, gastro-intestinais, pulmonares, geniturinárias, cutâneas, subcutâneas e ósseas (Kern e Blevins, 1999).

O consumo de leite contaminado pelo fungo do gênero *Cândida* sp, ou mesmo por toxinas produzidas por estes, pode acarretar danos à saúde humana, pois o risco existe, visto que este produto não sofreu o processo de pasteurização, levando à exposição dos indivíduos, em especial aos debilitados, a adquirir micoses oportunistas.

Por isso, medidas adequadas de manejo, principalmente em relação ao processo da ordenha, assim como métodos de higiene empregados nessa etapa de obtenção do leite, podem ser capazes de minimizar a ocorrência de mastites por fungos bem como reduzir a contaminação deste alimento durante a ordenha das vacas.

Para o isolamento de bactérias aeróbias e anaeróbias foram utilizadas amostras provenientes das três propriedades leiteiras da cidade de Amargosa, as quais sofreram análises e foram isoladas 96 colônias de bactérias. Foi possível identificar *Staphylococcus aureus* em apenas duas, com um percentual de 9,30 % e 3,44 % nas propriedades 1 e 3, respectivamente. Conforme os resultados expressos na tabela 3, houve uma grande diversidade de representantes da família Enterobacteriaceae isolada, com 2,32% das espécies: *Pragia fontium*, *Xenorhabdus nematophilus* e *Phtorhabdus asymbiotica* (propriedade 1); 12,5%

das espécies de *Photorhabdus asymbiotica*, *Photorhabdus luminescens* e *Yersinia aldovae* (propriedade 2) e 3,44% de *Xenorhabdus nematophilus*, *Photorhabdus asymbiotica* e *Shigella dysenteriae*, na propriedade 3. Todas propriedades apresentaram a ocorrência de *Streptococcus* spp. que foram identificados micromorfológicamente pelo método de coloração Gram. Dos isolados Gram – negativo que foram submetidos ao teste bioquímico de oxidase, 85,71% apresentaram resultado de oxidase negativa, caracterizando bactérias anaeróbicas facultativas.

A contaminação elevada constatada nas amostras de leite cru pode estar associada com procedimentos de higienização inadequados no sistema de produção, onde os equipamentos de ordenha são uma fonte importante de contaminação do leite, considerando que resíduos de leite presentes nas superfícies dos equipamentos constituem nutrientes para o crescimento de bactérias que contaminam o produto e multiplicam-se de forma lenta. Além disso, o contato do leite com animais e ambientes sujos, pode influenciar diretamente no índice de contaminação microbiana (Guerreiro *et al.*, 2005).

A ocorrência de *S. aureus*, subespécies do gênero enterobactérias e *Streptococcus* spp. estão relacionadas aos resultados positivos para mastite subclínica identificados através do teste CMT (California Mastitis Test) (Tabela 1), que foi realizado em 10% das vacas em estado de lactação presentes em cada propriedade leiteira em Amargosa, sendo então um indicativo de infecção da glândula mamária causada por estes agentes microbianos.

Fagliari *et al.*, (1990) em seus estudos sobre a qualidade do leite cru detectaram *S. aureus* em 54,0% amostras de leite de animais com mastite clínica e em 40,7% das amostras de animais com mastite subclínica na região de Ilha Solteira, SP.

Os microrganismos do gênero *Staphylococcus* também constituem risco à população consumidora do leite proveniente de vacas com mastite, uma vez que algumas cepas podem produzir toxinas termoestáveis e provocar intoxicação alimentar, desencadeando severos processos de gastroenterites principalmente em crianças e idosos (SÁ, 2004).

As fontes mais comuns de contaminação pelo grupo das enterobactérias são fezes (de origem humana e animal), funcionários e água. Santos (2006)

isolou individualmente 2,44% de enterobactérias em 82 amostras de leite (2/82) de vacas com mastites, na região de Uberlândia-MG.

Mais de 80 microrganismos diferentes já foram identificados como agentes causadores de mastite bovina, sendo que as espécies mais freqüentemente isoladas são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*.

A presença de bactérias patogênicas no leite cru é uma questão de saúde pública, sendo um risco potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados, e até para quem o manuseia.

Em levantamentos epidemiológicos nacionais e internacionais, o *S. aureus* está presente em cerca de 50% das infecções da glândula mamária dos bovinos leiteiros (BRABES et al., 1999). Brabes et al. (1999), analisando 127 amostras de leite de cinco propriedades leiteiras dos estados de São Paulo e Minas Gerais, encontraram uma prevalência de 40,15% para a espécie *S. aureus*. Neste mesmo estudo, verificou-se que houve predomínio de bactérias do gênero *Staphylococcus* na etiologia da mastite em três propriedades, com percentuais de positividade entre 32 e 80%. Segundo Harmon (1994), mais de 80 diferentes microrganismos foram identificados como agentes causadores de mastite bovina, sendo que as espécies mais freqüentemente isoladas são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Escherichia coli*.

Segundo os resultados encontrados pode-se afirmar que a propriedade 1 apresentou contagem de coliformes totais e termotolerantes 46 NMP/100mL em R<sub>1</sub> e >110 NMP/100mL em R<sub>2</sub>. Já as propriedades 2, 3 e 4 apresentaram contagem de coliformes totais e termotolerantes >110 NMP/100mL nas duas repetições realizadas. Embora não haja padrões microbiológicos para o leite cru encontrados na legislação para o leite bovino (IN nº 51), verificou-se que todas as propriedades pesquisadas estiveram fora dos padrões microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51 em relação aos valores máximos permitidos para o leite tipo C que é de 10 NMP/100mL para coliformes totais e de 2 NMP/100mL para coliformes termotolerantes.

**Tabela 3.** Microrganismos identificados em amostras de leite provenientes de três propriedades leiteiras da cidade de Amargosa-BA.

Propriedades	Espécies isoladas	Nº. de isolados	Porcentagem (%)
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	9,30
	<i>Pragia fontium</i>	1	2,32
	<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	1	2,32
	<i>Phthorhabdus asymbiotica</i>	1	2,32
	<i>Streptococcus sp.</i>	10	23,25
	2	<i>Phthorhabdus asymbiotica</i>	3
<i>Phthorhabdus luminescens</i>		3	12,5
<i>Yersinia aldovae</i>		3	12,5
<i>Streptococcus sp.</i>		6	20,68
3		<i>Xenorhabdus nematophilus</i>	1
	<i>Phthorhabdus asymbiotica</i>	1	3,44
	<i>Shigella dysenteriae</i>	1	3,44
	<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3,44

Os resultados das análises de leite cru para a pesquisa de coliformes totais e termotolerantes provenientes das propriedades leiteiras do município de Amargosa, Bahia estão demonstrados na tabela 4.

Em recente pesquisa, Rizzo-Benato (2004) encontrou valores que variaram de  $1,1 \times 10^2$  a  $2,9 \times 10^4$  NMP de coliformes totais / mL em 24 amostras de leite pasteurizado tipo C, e ainda que 70,8% dessas amostras estavam em desacordo com os padrões da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Brasil, 2001) para coliformes fecais.

Tabela 4 – Coliformes totais e termotolerantes em amostras de água de torneira da sala de ordenha coletadas em 5 propriedades leiteiras no município de Amargosa, Bahia.

Propriedades	Nº de repetições	Coliformes totais (NMP/100mL)	Coliformes termotolerantes (NMP/100mL)
1	R <sub>1</sub>	46,0	46,0
	R <sub>2</sub>	>110	>110
2	R <sub>1</sub>	>110	>110
	R <sub>2</sub>	>110	>110
3	R <sub>1</sub>	>110	>110
	R <sub>2</sub>	>110	>110
4	R <sub>1</sub>	>110	>110
	R <sub>2</sub>	>110	>110
5	R <sub>1</sub>	>110	>110
	R <sub>2</sub>	12	12

Os valores de coliformes totais (CT) e termotolerantes (CF) foram elevados, evidenciando a contaminação das amostras. Valores elevados de CT e CF também foram documentados por outros autores que analisaram leite tipo C na região Nordeste como na região Sul do país. Estudos efetuados, em João Pessoa – PB, registraram 98% das amostras pasteurizadas e ensacadas fora dos padrões (Nascimento, 1982) e em Campinas – São Paulo, Oliveira (1976) constatou que 77% das amostras analisadas estavam contaminadas.

Entretanto, na legislação não há registros de valores – limites para *E. coli* que permitam avaliar o grau de contaminação do leite por este microrganismo. Deve-se considerar que as tendências mais modernas sobre o uso de bactérias indicadoras de contaminação fecal sugerem *E. coli* como indicador mais específico, porque seria o único membro do grupo CF de origem exclusivamente fecal. Garboggini e Gallo, 1998).

Num país de clima tropical como o Brasil, se o leite cru não sofrer refrigeração adequada durante todo o tempo até o seu consumo, se for transportado em latões sujos e se for misturado com outros de qualidade inferior,

o processo de pasteurização não fornecerá um produto de boa qualidade, mas apenas o beneficiará (Borges e Oliveira, 1999)

Neste sentido, ressalta-se que a presença de coliformes no leite evidencia práticas de higiene e sanificação aquém dos padrões requeridos para o processamento de alimentos, representando condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, indicando uma recontaminação pós-processamento ou pasteurização inadequada, pois estes microrganismos não são resistentes ao calor (Silva e Junqueira, 1995).

Os resultados obtidos a partir da contagem de mesófilos oriundos das amostras de água de torneira utilizada durante a ordenha podem ser verificados nas tabelas 5, 6 e 7.

Tabela 5 – Contagem de microrganismos mesófilos obtidos de amostras de leite cru das propriedades leiteiras, utilizando as diluições  $10^{-1}$  e  $10^{-2}$ .

Propriedades	Nº de repetições	Mesófilos (NMP.mL <sup>-1</sup> )	Mesófilos (NMP.mL <sup>-2</sup> )
1	R <sub>1</sub>	109 x 10 <sup>1</sup>	117 x 10 <sup>2</sup>
		149 x 10 <sup>1</sup>	120 x 10 <sup>2</sup>
	R <sub>2</sub>	140 x 10 <sup>1</sup>	100 x 10 <sup>2</sup>
		154 x 10 <sup>1</sup>	125 x 10 <sup>2</sup>
2	R <sub>1</sub>	161 x 10 <sup>1</sup>	186 x 10 <sup>2</sup>
		82 x 10 <sup>1</sup>	37 x 10 <sup>2</sup>
	R <sub>2</sub>	93 x 10 <sup>1</sup>	152 x 10 <sup>2</sup>
		95 x 10 <sup>1</sup>	164 x 10 <sup>2</sup>

Tabela 6 – Contagem de microrganismos mesófilos obtidos de amostras de leite cru da propriedade 3, utilizando as diluições  $10^{-3}$  e  $10^{-4}$ .

Propriedade	Nº de repetições	Mesófilos (NMP.mL <sup>-3</sup> )	Mesófilos (NMP.mL <sup>-4</sup> )
3	R <sub>1</sub>	103 x 10 <sup>3</sup>	75 x 10 <sup>4</sup>
		90 x 10 <sup>3</sup>	85 x 10 <sup>4</sup>
	R <sub>2</sub>	95 x 10 <sup>3</sup>	54 x 10 <sup>4</sup>
		97 x 10 <sup>3</sup>	55 x 10 <sup>4</sup>

Tabela 7 – Contagem de microrganismos mesófilos obtidos de amostras de água de leite cru das propriedades 4 e 5, utilizando as diluições  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$ .

Propriedades	Nº de repetições	Mesófilos (NMP.mL <sup>-4</sup> )	Mesófilos (NMP.mL <sup>-5</sup> )
4	R <sub>1</sub>	59 x 10 <sup>4</sup>	30 x 10 <sup>5</sup>
		64 x 10 <sup>4</sup>	127 x 10 <sup>5</sup>
	R <sub>2</sub>	76 x 10 <sup>4</sup>	303 x 10 <sup>5</sup>
		80 x 10 <sup>4</sup>	31 x 10 <sup>5</sup>
5	R <sub>1</sub>	135 x 10 <sup>4</sup>	45 x 10 <sup>5</sup>
		58 x 10 <sup>4</sup>	56 x 10 <sup>5</sup>
	R <sub>2</sub>	47 x 10 <sup>4</sup>	32 x 10 <sup>5</sup>
		32 x 10 <sup>4</sup>	62 x 10 <sup>5</sup>

A partir dos resultados apresentados na tabela 5, verificamos que as amostras obtidas das propriedades 1, 2 e 3 (amostras que utilizou-se a diluição  $10^{-3}$ ) encontravam-se dentro dos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51 (Brasil, 2002). De acordo com esta, o valor máximo da contagem bacteriana total é de  $5 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>, logo, o leite aqui avaliado esteve dentro da legislação. Porém, mesmo estando o leite dentro deste padrão microbiológico, as condições inadequadas de higiene na produção e ordenha, tipo de ordenha, tratamento e saúde do animal (Foschino et al., 2002; Morgan et al., 2003; Delgado Pertiñez, 2003) foram observadas nesta propriedade, de modo que não se enquadraram dentro das práticas de manejo adequadas a uma propriedade leiteira. Como exemplo, podemos citar que não havia sala de ordenha apropriada, não foi realizada o pré e pós dipping, assim como a higienização do úbere. Por fim, depreende-se que a utilização apenas desta variável pode não ser eficiente na avaliação da qualidade higiênica do leite produzido nesta propriedade.

Já em relação as propriedades 3 (amostras que utilizou-se a diluição  $10^{-4}$ ), 4 e 5 podemos verificar nas tabelas 5, 6 e 7 respectivamente que as amostras de leite cru não estava dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 51 (Brasil, 2002), tendo como parâmetro de avaliação o valor máximo da contagem bacteriana total de  $5 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup>. Isso pode ter ocorrido devido à falta de higiene durante a obtenção do leite na propriedade. Segundo Fonseca e Santos (2000), raramente uma alta CBT é decorrente de

problemas de mastite na propriedade, salvo em algumas exceções como quando há alta ocorrência de mastite causada por *Streptococcus agalactiae*, ou mesmo em surtos de *Streptococcus uberis* e *E. coli*.

Nero et al. (2004) mostraram que 48,57% de amostras de leite cru coletadas nos Estados de Minas Gerais (Viçosa), Rio Grande do Sul (Pelotas), Paraná (Londrina) e São Paulo (Botucatu) estão em desacordo com a Instrução Normativa nº 51 e discutem que fatores de higiene, armazenamento e capacitação de pessoas influenciam na qualidade do leite. Observa-se nos resultados descritos anteriormente que a porcentagem de contagens de mesófilos em desacordo com a legislação (50%) são semelhantes as observadas por Nero et al. (2004).

Acreditamos que as propriedades leiteiras onde houve alta CBT pode estar relacionada, principalmente, em relação ao tempo transcorrido entre a ordenha e o beneficiamento do produto. Isto porque existe a necessidade de transportar o produto até o laticínio, onde ocorrerá a pasteurização. Este tempo pode variar, mas na maioria das vezes excede o período de 4 horas, além de ser transportado à temperatura ambiente. Nas propriedades pesquisadas apenas as propriedades 1 e 2 que executavam o transporte do produto a um tempo inferior a 3 horas, por se localizarem próximo ao laticínio.

Segundo Santos e Fonseca (2007), a utilização do pré-dipping pode reduzir a mastite ambiental em 50%, a CBT em 80% e a contagem de coliformes em 70%, enquanto pós-dipping reduz a mastite contagiosa em 50%. Esse procedimento não foi realizado em nenhuma das propriedades leiteiras onde se fez esta pesquisa. A imersão dos tetos em solução desinfetante antes e após a ordenha é recomendada e utilizada mundialmente no controle de mastites, sendo considerada como um método preventivo de alta eficácia. Prata (2001), Hemlling (2002) e Broutin (2004) afirmam que a pré-imersão auxilia consideravelmente no controle da contaminação do leite.

Considerando que o equipamento de ordenha é uma fonte importante de contaminação do leite e os procedimentos de limpeza e higienização, podem influenciar diretamente no índice de contaminação microbiana do leite, Santos e Laranja da Fonseca (2001) relataram que os microrganismos podem aderir nas superfícies dos equipamentos e utensílios de ordenha e resistir à lavagem e higienização, indicando que um nível tecnológico utilizado na ordenha não

implica, necessariamente, em um leite com melhor qualidade microbiológica e sim em mais um item a ser considerado como possível agente de contaminação bacteriana.

O leite é um produto rico em diversos nutrientes possibilitando a rápida multiplicação de microrganismos. Associados a higiene de ordenha, as condições de armazenamento nas propriedades rurais exercem grande influência na sua qualidade. Assim o leite obtido e armazenado em condições inadequadas pode representar uma contagem bacteriana até 5000 vezes superior a aquela obtida e armazenado em condições ideais (Faria, 1998).

É importante afirmar que o controle higiênico-sanitário dos rebanhos e da ordenha é fundamental para garantir a composição ideal do leite e reduzir o risco de transmissão de agentes de doenças à população consumidora.

### CONCLUSÕES

- Há uma estrita relação entre a ocorrência dos agentes microbianos e a presença da mastite clínica e subclínica, detectada nas amostras analisadas, necessitando de ações direcionadas para a solução de tal problema e visando a melhoria da qualidade do produto.
- Os fungos leveduriformes do gênero *Cândida* encontrados nas amostras de leite analisadas representam um problema sério aos consumidores, pois os fungos *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* e outros tipos de *Candida*, são agentes que podem causar doenças, bem como podem interferir no processamento de produtos na indústria de laticínios.
- Elevadas concentrações de microrganismos indicadores de qualidade foram encontradas no leite cru, os quais são de grande interesse do ponto de vista de saúde pública, representando perigo potencial para aqueles indivíduos que o ingerem.
- Os agentes etiológicos da tuberculose bovina pesquisados não foram encontrados.
- Torna-se necessário rever os procedimentos de ordenha e higienização de equipamentos, assim como a utilização de tanques refrigerados para armazenamento do leite, que associado ao manejo adequado, possam contribuir com a melhoria da qualidade do leite.

## Referências Bibliográficas

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1995 **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 19 ed. Washington, p.1100.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 1998. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 20.ed. Washington: American Public Health Association,. pg.9 (47-66).

BRABES, K. et al. 1999. Participação de espécies coagulase positivas e negativas produtoras de enterotoxinas de gênero ***Staphylococcus*** na etiologia de casos de mastite bovina em propriedades de produção leiteira dos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Rev Napgama**, v.3, p.4-11.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2002. **Instrução Normativa nº 051**, de 18 de setembro de 2002. Diário Oficial da União, Brasília, 20 set.. Seção 1, p.13-22.

BRITO, J. R. F et al. 1997. Sensibilidade e especificidade do “California Mastitis Test” como recurso diagnóstico da mastite subclínica em relação à contagem de células somáticas. Pesquisa Veterinária Brasileira, rio de Janeiro, v.17, n.2, p.49-53.

DELGADO-PERTIÑEZ, M.; ALCALD, M.J.; GUZMAN-GUERRERO, J.L.; COLTEL, J.M.; MESMA, Y.; CARAVACA, F. 2003. Effect of hygiene sanitary management of goat Milk quality in semi-extensive systems in Spain. **Small Ruminant Research**, v.47, p.51-61.

FAGLIARI, J.J.; LUCAS, S.A.; FERREIRA NETO, J.M. 1990. Mastite bovina: comparação entre os resultados obtidos no Califórnia Mastitis teste o exame bacteriológico. **Cienc. Veterinária**. v.4, n.1, pg.4-5.

FERREIRO, L. et al. 1985. Mastite bovina na Grande Porto Alegre, RS – Brasil. **Arquivos da Faculdade de Veterinária – UFRGS**, v.13, p.81-88.

FOSCHINO, R.; INVERNIZZI, A.; BARUCCO, R.; STRADIOTTO, K. 2002 Microbial composition, including the incidence of pathogens, of goat Milk from the Bergamo region of Italy during a lactation year. **Journal of Dairy Research**, v.47, p.39-49, 2003.

GUERREIRO, P.K.; MACHADO, M. R. F.; BRAGA, G.C.; GASPARINO, E. & FRANZENER, A. S. M. 2005. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciênc. Agrotécnica**. Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222.

HARMON, R.J. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. **J Dairy Sci**, v.77, p.2103-2112.

MORGAN,F.; MASSOURAS,T; BARBOSA,M.; ROSEIRO, L.; RAVASCO, F.; KANDAKARIS, I.; BONNIN, V.; FISTAKORIS, M.; ANIFANTAKIS,E.; LAUBERT, G.; RAYNAL-LJUTOVAC, K. 2003. Characteristics of goat milk collected from small and medium enterprises in Greece, Portugal and France. **Small Ruminant Research**, v.47, p.39-49.

KERN, M.E.; BLEVINS, K.S. 1999. **Micologia Médica** 2 ed. São Paulo. Premier 46f.

ROMPRÉ, A.; Servais, P.; Baudart, J.; Roubin, M-R. de; Laurent, P. ().2002 Detection and enumeration of coliforms in drinking water: current methods and emerging. **Journal of Microbiological Methods** , v.49: p.31-35.

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

SANTOS, R.C.; MARIN, J.M. 2005. **Isolation of *Candida* spp. From mastitic bovine milk in Brazil**. Mycopathologia, v.159, p.251-253.

SPANAMBERG, A. et al. 2008. **Efeito do congelamento sobre a viabilidade de células leveduriformes**. Acta Scientiae Veterinaire, v.36, n.1, p.43-54.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPertz, O. F.; CANDEIAS, J.A.N. 1999.  
**Microbiologia**. 3. Ed., São Paulo: Atheneu, p.239-285.

WAWRON, W.; SZCZUBIAL, M. 2001. **Treating mastitis mycotica in cows**.  
Medycyna Weterynaryjna, v.57, p.863-866.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Diante da realidade encontrada nas propriedades leiteiras do município de Amargosa, torna-se necessário um maior investimento financeiro, além da realização de capacitações, educação e treinamento continuado direcionados aos produtores rurais da região estudada, com vistas à adequação às exigências da IN n° 51 do MAPA.

Em relação a qualidade da água utilizada no processo de obtenção do leite pode-se verificar que esta é insatisfatória e preocupante, sendo importante a introdução de um programa de controle da melhoria da qualidade dessa água para melhor eficácia dos processos de higienização do úbere, dos equipamentos e utensílios de ordenha, objetivando com isso a redução da contaminação do leite.