JOSÉ CAVALCANTE DE QUEIROZ

**AVALIAÇÃO SANITÁRIA DO LEITE CRÚ
TRIBUÍDO NOS MUNICÍPIOS DE JUQUITIBA
E ITAPECERICA DA SERRA
SÃO PAULO - 1990-1992**

Tese apresentada ao Departamento de Prática de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Saúde Pública.

Orientador: Prof. Titular OMAR MIGUEL

São Paulo

1994

A ELE, fonte de toda a luz, paz e sabedoria

Aos meus pais, Themistocles e Georgina
"in memoriam", por me terem dado a vida
e ensinado a vivê-la.

A minha esposa Olinda, pela
compreensão e colaboração.

Aos meus irmãos Antonio e Cida
pelo apoio e estímulo permanente

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador

Prof. Dr. Omar Miguel, pelo apoio, compreensão, estímulo e orientação exemplar.

Aos meus Mentores

Prof. Dr. Sebastião Timo Iaria

Profa. Dra. Sirdéia Maura Perrone Furlaneto, pela dedicação e participação técnica, contribuindo decisivamente para o desenvolvimento desta pesquisa.

A Profa. Dra. Lourdes de Freitas Carvalho pelo estímulo, amizade, apoio moral e financeiro, que contribuiu sobremaneira para realização deste trabalho.

A Médica Veterinária Maria Beatriz Kerr C. Q. Bonometti, pela imensa colaboração prestada à colheita do material de campo.

Aos colegas do PAICAL (Programa de Assessoria a Indústria e Comércio de Alimento) da Coordenadoria de Abastecimento da Secretaria da Agricultura de São Paulo:

Dr. Friedmam Galli

Dra. Terezinha Zupelari Schifftan

Dra. Iamato Komatsu

pela colaboração e dedicação demonstradas quando da realização dos exames físicos e químicos que compõem esta pesquisa.

A todos os técnicos que militam no laboratório de microbiologia do Instituto de Ciências Biomédicas da U.S.P. onde foram realizados os exames bacteriológicos que embasam esta pesquisa.

Ao Dr. José Mazelli - competente e digno Supervisor Sanitário do ERS-12.

Ao Senhor Nelson Natel, auxiliar agropecuário da DIRA-Capital da Secretaria da Agricultura e Abastecimento de São Paulo, com sede em Itapeverica da Serra.

Quero agradecer especialmente a eles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento desta pesquisa:

Prof. Dr. Arnaldo Augusto Franco de Siqueira

Profa. Dra. Evelin Navede de Castro Sá

Prof. Dr. Gil Vianna Paim

Prof. Dr. Pedro Manuel Leal Germano

Ao Senhor Etevaldo Sousa dos Santos, pela colaboração, dedicação e esmero na digitação de todo este trabalho.

A Senhora Cornélia Frota Ferreira, pela inestimável colaboração prestada durante o início deste trabalho.

A Senhora Maria Lúcia E. de Faria Ferraz e demais funcionários da Biblioteca da Faculdade de Saúde Pública, pela colaboração e esmero na revisão das referências bibliográficas.

E a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

Muito Obrigado

R E S U M O

Este trabalho tem por finalidade reunir informações para que em um local de produção de leite com finalidade econômica se possa ter um produto com o mínimo possível de bactérias, não patogênicas para o consumo humano.

Descrevemos o desenvolvimento da glândula mamária, porque, é aí que começa o problema do leite: podemos chamá-la de "Fábrica de leite", com todos os seus inconvenientes.

Tomamos a precaução de informar sobre os cuidados higiênicos e mecânicos quando houver a manipulação do úbere para a extração do leite. Ressaltamos as possíveis fontes de contaminação do leite iniciando com o animal passando pelo meio ambiente, pelo ordenhador, transporte e distribuição.

Relacionamos os locais utilizados para o manejo dos animais em produção e as condições higiênicas necessárias para tal.

Sobre microrganismos, lembramos os que se desenvolvem no leite e os transformam causando alterações prejudiciais ao produto e os outros que prejudicam os consumidores causando-lhe doenças, algumas muito graves, outras menos graves; mas todas quebrando a higidez do consumidor e por consequência avolumando o rol das doenças notificáveis.

Analisamos os componentes do leite, frente a legislação vigente, apresentando uma tabela com a composição do leite das diversas espécies animais.

Repassamos as análises químicas e físicas que os regulamentos impõem e apresentamos as recomendações do Ministério da Saúde quanto á flora bacteriana mínima permitida.

Os objetivos são bem claros, pois há necessidade de uma assistência sanitária aos criadores, uma orientação aos comerciantes e esclarecimentos às autoridades administrativas, da saúde e educação.

As tabelas obtidas com as análises realizadas, demonstram claramente as distorções encontradas nas amostras de leite colhidas nas regiões de Itapecerica da Serra e Juquitiba. A porcentagem de amostras de leite que estariam condenadas somam, para Itapecerica da Serra 76,18% e para Juquitiba 71,72%. Esse quadro dá idéia perfeita de que a produção de leite naquela região está abandonada pelas autoridades responsáveis pela Vigilância Sanitária (Setor Saúde) e pela Defesa Sanitária Animal (Setor Econômico).

S U M M A R Y

This paper aims at assembling information in order that the least number possible of non-pathogenic bacteria for human consumption can be achieved in a site designed for a profitable dairy.

The development of the mammary gland is described since it is there that the problem of milk begins; it can be called a "milk-factory", with all its inconveniences.

All precautions are taken to inform about sanitary and mechanical procedures on the process of milk-extraction carried out by udder handling. Some possible sources of milk-contamination are emphasized, beginning with those related to the animal and going on with those originated from the environment, the milker, and the milk transportation and distribution.

The most common sites used for managing animals in production are mentioned, as well as the needed sanitary conditions for such end.

In what microorganisms are concerned to, we point out the ones which are developed within the milk, transforming it and causing harmful alterations to the product and others that injure the consumer's health causing diseases, some of them very serious, other less serious, but all of them breaking the consumer's state of health and, as a consequence, increasing the role communicable diseases.

Milk components are analysed in face of the current legislation with the presentation of a table containing the milk-composition concerning various animal species.

A review on the chemical and psysical analyses required by law is made, presenting the recommendations of the Ministry oh Health as to the minimal bacterial flora allowed.

The objectives of the paper are rather clear, since there is a need for sanitary assistance on the part of the cattle breeders, orientation to be provided to milk-traders and englightenment to both, the health and education administrative authorities.

Data from the analyses carried out clearly demonstrate the distortions found out in milk-samples collected along the Itapecerica da Serra and Juquitiba regions. The percentage of milk-samples which would be condemned by health authorities sums up 76.18% for Itapecerica da Serra and 71.72% for Juquitiba. This picture gives a perfect idea of how the milk-production in that region is left abandonmed by the authorities in charge of the Sanitary Surveillance (Health Sector) and the Animal Sanitary Defense (Economic Sector).

Í N D I C E

	PÁGINA
1. INTRODUÇÃO	1
2. PRODUÇÃO DO LEITE	10
2.1. Desenvolvimento e estrutura da glândula mamária	10
2.2. Obtenção pela ordenha manual	15
2.3. Cuidados higiênicos para com o leite em sua fonte de produção	18
3. FONTES DE CONTAMINAÇÃO DO LEITE	20
3.1. Gado leiteiro	20
3.2. Outros animais e insetos	20
3.3. Ar	21
3.4. Solo	21
3.5. Água	22
3.6. Estábulo	22
3.7. Equipamentos e utensílios	23
3.8. Manipuladores	23
4. CONDIÇÕES HIGIÊNICAS DO LEITE	25
4.1. Currais de espera e manejo	25
4.2. Dependência de abrigo e arraçoamento	25
4.3. Local para lavagem dos animais	26
4.4. Sala de ordenha	27
4.5. Desinfetantes utilizados	28

5. TEMPERATURAS ADEQUADAS AO CRESCIMENTO	
BACTERIANO	30
6. MICRORGANISMOS MAIS ENCONTRADOS NO LEITE	32
7. DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS AO HOMEM PELO LEITE ...	34
7.1. Viroses	34
7.2. Rickettioses	37
7.3. Infecções e intoxicações bacterianas	38
Tuberculose	38
Brucelose	39
Carbúnculo	40
Botulismo	41
Clostridium perfringes	41
Intoxicação alimentar	42
Febre tifóide e paratifóide	44
Salmoneloses	45
Infecções estreptocócicas	47
8. ALTERAÇÕES DO LEITE PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS.	49
8.1. Azedamento ou acidificação	49
8.2. Produção de gás	50
8.3. Proteólise	51
8.4. Leite viscoso	53
8.5. Alterações de coloração	53
8.6. Alterações da gordura do leite	55
8.7. Produção de alcali	55

9. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE.....	56
9.1. Componentes principais do leite	57
9.2. Considerações sobre os componentes principais do leite	58
9.3. O colostro	60
9.4. A composição do leite de animais não bovinos.....	61
9.5. Principais análises do leite	62
10. OBJETIVOS	64
10.1. Objetivos Gerais	64
10.2. Objetivos Específicos	65
11. MATERIAL E MÉTODO	66
11.1. Obtenção das Amostras	66
11.1.1. Escolha e coleta das amostras..	66
11.1.2. Exames físicos e químicos.....	67
11.1.3. Exames bacteriológicos.....	70
12. ESCOLHA DA ÁREA.....	71
12.1. Identificação da Área Geográfica - Itapecerica da Serra.....	73
12.1.1. Evolução histórica da cidade...	73
12.1.2. Características sócio-econômico- culturais.....	74

12.2. Identificação da Área Geográfica -	
Juquitiba.....	88
12.2.1. Evolução histórica da cidade...	88
12.2.2. Características sócio-econômico-	
culturais.....	90
13. RESULTADOS	100
14. DISCUSSÃO.....	103
15. CONCLUSÕES.....	122
16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	124
TABELAS	134
ANEXOS	149
MAPAS.....	186

1. INTRODUÇÃO

A produção de leite deriva de algumas espécies animais, essas espécies são adaptadas e tecnicamente conduzidas para tal, a espécie bovina é a de maior destaque, pois a vaca já foi chamada de "a mãe da humanidade".

A produção de leite no Brasil no ano de 1990, segundo informações apresentadas pela Universidade de Viçosa, MG, foi de 13,4 milhões de toneladas, apesar dessa aparente superprodução, o Brasil teve que importar 40 mil toneladas de leite em pó para consumo, evitando dessa maneira o colapso do abastecimento no país.

O Brasil é o país que apresenta 5 tipos de leite para consumo⁽¹²⁾ Ministério da Agricultura - Leite A, Leite B, Leite C, Leite Magro e Leite Esterilizado, fora todos os tipos de leite industrializados, como leite em pó, leite condensado, leite reconstituído e os outros leites compostos⁽⁷⁾.

Desde tempos imemoriais, o homem ordenha os seus animais e aproveita o produto para a elaboração de vários lactícínios. Há seis mil anos, era o leite reconhecido como importante alimento, fazendo parte integrante das refeições dos antigos. Segundo as velhas escrituras da Ásia Central, era comum entre os povos do Tibet fabricar alguns derivados do leite. Os antigos Indus conheciam a manteiga, os babilônios faziam queijos. Há sete mil anos, Gengiskan, em suas longas excursões guerreiras, dava aos seus soldados como

parte da dieta de campanha o leite dessecado⁽⁷⁾.

Os europeus não encontraram na América vestígios da criação de animais leiteiros e do uso de leite como alimento.

Foi Martim Afonso de Souza quem, em 1534, pela primeira vez introduziu o gado no Brasil. Eram animais das Ilhas da Madeira e das Canárias. Duarte Coelho iniciou a criação em Pernambuco. Thomé de Souza, mais ou menos, em 1550, importou animais da Ilha do Cabo Verde⁽⁷⁾.

Uma grande riqueza - a indústria pecuária de valor e futuro - foi, pois, desde os primeiros tempos coloniais aparecendo no país. O gado foi se espalhando em quase todas as capitanias, principalmente, nas do Piauí, do Maranhão, do Pará, do Ceará, de Pernambuco, da Bahia, de São Paulo e das Minas. Em 1703, Garcia Rodrigues "teve autorização para iniciar" no pouso da Borba do Campo, hoje Barbacena, a criação de bovinos, segundo os documentos, é desde essa data "que começou a ser racionalmente industrializado o queijo no Brasil". E o Rei tomou interesse pela nova indústria, animando em 1772, a fabricação do queijo e da manteiga. Lá pelo ano de 1780, ao lado de outras indústrias, os colonos cuidavam também das questões relativas ao leite, datando desse tempo a instalação das "fábricas de lactícínios". Em 1796, já havia notícias de que os queijos mineiros pagavam direitos alfandegários⁽⁷⁾.

Portugal, apoiando a incipiente produção de sua colônia fez com que, em meados de 1799, alguns industriais viessem para aqui tentar a sorte⁽⁷⁾.

A produção do leite, no entanto, mal chegava ao consumo regional. A manteiga consumida no Brasil era quase toda salgada e provinha, especialmente, da Inglaterra e Holanda. A manteiga sem sal é fabricada no país desde a instalação da Colônia Suíça de Nova Friburgo. Foi esta fundada no reinado de D. João VI. Com o Império, vieram alguns técnicos europeus que, já em melhores instalações, iniciaram no Rio de Janeiro, a fabricação de diversos laticínios. Em São Paulo, em 1839, começou-se a fabricar queijos na região de Batatais.

Depois de 1864, a indústria pastoril, tomou certo cunho de organização oficial. Desenvolveu-se a criação nas províncias do Rio Grande do Sul, Mato Grosso, Minas, Goiás, Paraná e Piauí. Em Minas, à partir de 1870, tomou a indústria pecuária grande impulso, podendo-se considerar que essa época marcou o início da organização mineira de laticínios.

Construída em bases mais ou menos técnicas apareceu, no Maranhão, em 1888, a primeira fábrica de manteiga, estando já bem adiantada a produção industrial em Minas Gerais. No Piauí, apesar das grandes dificuldades de transportes, de material e de técnicos, a indústria de manteiga foi progredindo. Na Fazenda Campos, em 1889, foi construída uma grande fábrica.

São Paulo tem nestes últimos anos, apresentado grande surto de progresso. O gado holandês, foi introduzido no Vale do Paraíba, em Guaratinguetá, mais ou menos, em 1889, por Rafael Brotero. São Paulo importava reprodutores em 1904.

Até o Regime Republicano, o leite era quase na totalidade utilizado e manipulado domesticamente. O primeiro estabelecimento de leite condensado foi instalado em Araras, em 1908. No Vale do Paraíba, em 1920, foram construídas "usinas" destinadas a exportar leite para a Capital. E o progresso se caracterizou por outras realizações: novas usinas, novas fábricas, exposições de laticínios em 1925, no Palácio das Indústrias.

O leite é lamentavelmente, um produto controlado pelo Governo, desde 1945, e esse controle é político, pois a produção se incere dentro da economia de livre mercado e se vende o leite dentro do regime de tabelamento, facilmente se percebe que a economia não pode ter o desenvolvimento igual a de outros países.

Ainda são baixas as taxas de produtividade por animal, baixíssimos os índices de aproveitamento por hectare e os produtores de leite do país, são na verdade, miniprodutores, uma vez que não conseguem oferecer, em todas as bacias leiteiras na média anual, índice de produtividade de 60 litros na safra e de 40 litros na entresafra. A produtividade do rebanho brasileiro, é abaixo de 3 litros de leite vaca/dia, e os dados do IBGE, nos dão conta que há 120 milhões de vacas em lactação por ano. No Brasil, a produção de leite gira em torno de 700 litros/vaca/ano.

O que tem acontecido, em termos de produção de leite, no país, é que as usinas, as fabricas e as cooperativas têm procurado suprir as necessidades do

mercado, através da expansão territorial. Então o leite do Estado de Goiás, é transportado por 1000 Km, para abastecer a Capital de São Paulo; vemos também que da região nordeste de Minas Gerais, o leite é enviado para o Rio de Janeiro, percorrendo 700 Km em estradas.

Falta ao nosso país, uma política objetiva, patriótica e honesta, para que a produção de leite seja incentivada e financeiramente amparada, dando-lhe condições sanitárias de comercialização do produto.

Na América Latina, a redução da produção de leite tem como causa principal, a inflamação da mama da vaca, que é da ordem de 40% e se esse leite fosse produzido alimentaria 24 milhões de crianças carentes por ano (Simpósio Nacional da Agropecuária Brasileira na Conjuntura Atual - Câmara dos Deputados - Centro de Documentação e Informação - Coordenação de Publicações, Brasília, 1979).

O controle sanitário dos alimentos é uma atividade indispensável à sociedade atual tendo em vista a veiculação de doenças através dos mesmos.

Os alimentos de origem animal são os que preocupam mais as autoridades sanitárias, por três motivos principais: serem essenciais à alimentação, serem produtos custosos e se comportarem como verdadeiros meios de cultura para alguns microrganismos patogênicos.

Apesar das proibições legais à comercialização do leite cru (Lei 1283/50 e Dec. 30691/52), a venda desse produto se realiza abertamente na periferia de São Paulo e em

numerosas cidades do Estado, muitas até de elevado nível econômico e cultural.

Alguns exemplos de enfermidades que podem ser veiculadas pelo leite cru, são: a tuberculose, brucelose, estafilococcias, estreptococcias, salmonelose, campylobacterioses, listeriose, febre Q e outras, além de parasitoses e viroses mais comuns no nosso meio, incluídas neste trabalho.

Várias são as causas pelas quais o leite pode ser o veiculador de agentes microbianos, sendo a principal o leite proveniente de animais não saudáveis, que pode conter microrganismos patogênicos para o homem e para os próprios animais. Podem ocorrer doenças sistêmicas no animal, com lesões localizadas. As doenças sistêmicas são numerosas e entre as localizadas, as mastites e inflamações próprias do úbere, são as mais freqüentes.

Outra modalidade pela qual o leite pode ser incriminado como veiculador de doenças é a operação ordenha, ato de retirada do leite, e a manipulação do produto. O animal sendo saudável, seu leite pode se contaminar durante a ordenha e manipulação, no próprio ambiente do estábulo, através das mãos e baldes sujos, poeira, insetos, água não tratada, fezes e urina de animais, utensílios não higienizados, etc.

Após essa etapa o leite ainda passa pelo "engarrafamento" ou envasamento; esses vasilhames podem ser de diversas origens, como por exemplo, aguardentes, "whisky",

"vodka", etc., quando distribuído na localidade (município, bairro, etc.). Porém, se for enviado para locais distantes, ele será envasado em sacos plásticos reforçados e congelado a -10°C , acumulados até um determinado dia da semana ou até o comprador retirá-los. Isto ocorre, ainda, dentro da propriedade, mas depois o alimento é transportado sem refrigeração em veículos adaptados do tipo carro de passeio, sem condição mínima de higiene. Assim, parte do produto é distribuída pelo bairro e outra é entregue a estabelecimentos comerciais, como bares e empórios. Nestes últimos, o leite é colocado em vasilhame de dez ou quinze litros, guardado em refrigerador para ser vendido fracionado em um, dois ou três litros cujo vasilhame o freguês traz. Outra parte é distribuída na zona rural em frascos colocados em cima de muros ou murões, quando então os frascos vazios são recolhidos para serem novamente utilizados.

A variação da microbiota, tanto qualitativa como quantitativa, depende das condições climáticas da região de produção do leite, isto confirmado por diversos autores (7,27,29,30,31,39,42,56 e 61) etc.

Há uma estreita relação entre a carga microbiana inicial presente no leite cru e o tempo de conservação do produto, principalmente quando as temperaturas ambientais são altas e a exposição prolongada (7,29,30,31). Considerando-se esse fato, recomenda-se que o leite seja resfriado após a ordenha e o tempo que antecede ao consumo não ultrapasse a sete horas. O alto número de bactérias encontradas no leite

crú geralmente é oriundo de utensílios empregados na ordenha e de latões de armazenamento e transporte.

A preocupação das autoridades sanitárias nacionais para com o leite crú vem desde o século passado, através de Decretos Reais do Primeiro Império do Brasil; porém, a consolidação dessa preocupação, no Município da Capital de São Paulo, só se deu com o Ato n.º 2602 de 12 de dezembro de 1925⁽⁵⁷⁾. Essa norma jurídica definia o leite e informava a existência de vários tipos do alimento, produzidos por outros animais, além do gado vacum. Determinava, também, que não seria permitida a venda de leite que não fosse puro, normal, integral e sadio e alertava para o modelo que era padrão mínimo, oficialmente adotado pela Prefeitura de São Paulo (Ato n.º 2630 de 23/04/1925).⁽⁶⁰⁾

A norma jurídica, em seu artigo 76, permitia mediante licença especial da Prefeitura a venda ambulante de leite quente e aos copos, ordenhado à vista do consumidor, observando o seguinte:

1º - "Só será permitida a condução de vacas para o fornecimento de leite, aos copos, mediante prévio exame clínico, procedido pelo Veterinário da Diretoria Sanitária, o qual atestará: o perfeito estado de saúde do animal; se a vaca está bem nutrida e limpa; se foi inoculada com tuberculina, dentro de seis meses, com reação negativa."

2º - "O leite deverá ser extraído com o máximo asseio, com o úbere perfeitamente lavado com água morna e enxuto com toalha limpa."

3º - "O ordenhador, durante o trajeto, deverá trajar avental branco e manter as mãos e antebraços bem limpos."

4º - "Não será permitida a venda do leite do animal antes de decorridos 20 dias do parto, nem durante os últimos dois meses de prenhez."

5º - "O comerciante de leite quente e aos copos trará consigo, para ser apresentada aos consumidores, quando o exigirem, a caderneta na qual constem os exames procedidos no animal, assinados pelo veterinário chefe da Diretoria Sanitária."

Nessa mesma norma havia o que era chamado de "leite infantil", especialmente produzido para ser consumido por crianças. Esse produto era produzido por vacas sadias, muito bem controladas por veterinários e instaladas em granjas especificamente orientadas para a produção desse leite. Todos os funcionários de tais granjas passavam por exames médicos periódicos para evitar que fossem portadores de doenças infecto-contagiosas. (60)

2. PRODUÇÃO DO LEITE

2.1. Desenvolvimento e estrutura da glândula mamária

Para compreender as modificações que ocorrem durante a formação e secreção do leite, devemos lembrar de alguns conceitos anatômicos e embriológicos. No início da vida embrionária, já são percebidas as primeiras linhas das futuras glândulas mamárias, nas partes laterais do tronco, como resultado da proliferação celular da túnica embrionária exterior (ectoderma). Estas linhas do leite, que em princípio só constam de uma série de camadas de células epiteliais, logo provocam uma saliência para o exterior até formarem núcleos do leite. Neles aparecem os "mamilos lácteos" que se fundem no mesênquima e assim constituem os núcleos mamários(16,18 e 44).

Uma capa córnea superficial espessada envagina-se dando origem às tetas; entretanto, os núcleos mamários, que inicialmente eram compactos, logo proliferam na parte interna profunda formando cordões celulares canalizados que originam a "formação primária" da glândula mamária.

O canal galactóforo e a cisterna já estão claramente estabelecidos. A formação primária se ramifica em outras formações secundárias(16,18 e 44)

Depois do nascimento, os fenômenos de desenvolvimento se circunscrevem com fundamento no sistema conjuntivo da glândula mamária. As fêmeas, ao entrarem na puberdade, exibem uma intensa hiperplasia do úbere sob influência dos hormônios foliculares e do corpo amarelo. No entanto, o úbere só alcança seu desenvolvimento total durante o período de gestação.

Cada quarto do úbere é uma glândula independente das outras três, como comprovado facilmente por preparações isoladas, utilizando-se injeções de líquidos coloridos nos quartos(16,44).

As quatro unidades glandulares comunicam-se com o meio ambiente através do canal da teta ou canal galactóforo. Este é ponto crítico, pois a forma, o estado de desenvolvimento da teta e do canal facilitam ou protegem o quarto de uma penetração de microrganismos patogênicos que podem provocar infecção de origem exógena.

O parênquima glandular contém o tecido gerador do leite e tem forma lobular. A parte responsável pela excreção do produto é constituída por um sistema de condutos ramificados que desembocam na cisterna que, por sua vez, se comunica com o canal galactóforo(16,44).

A vascularização do úbere é muito grande, dela dependendo a produção do leite, pois, pela mama passam 10% da totalidade do volume sanguíneo corpóreo diário, para que ela realize sua função produtora.

A mucosa da cisterna é sempre coberta por uma dupla capa de células epiteliais, predominando formas cilíndricas e prismáticas altas; estas células não têm função secretora.

As descamações de células epiteliais cornificadas, misturadas com uma massa de aspecto sebáceo, contribuem para a formação de um tampão que normalmente oblitera o canal galactóforo. Essa massa tem função importante de obstar a penetração de germes do meio ambiente para o interior da glândula mamária. Isto se deve à presença de ácidos graxos existentes no interior do úbere das vacas sãs e que não existem nas vacas portadoras de mamites.

O processo de lactação é acionado por uma série de complexos mecanismos endócrinos⁽⁴⁴⁾.

Após o nascimento do bezerro, a lactação aparece com extrema rapidez, em duas fases, o começo da lactação ou **lactogênese** e a manutenção e continuação da lactação ou período de **galactopoiese**. Na primeira, há um aumento da prolactina e decréscimo do nível de progesterona no organismo materno. Essas duas substâncias agem no estroma secretor, estimulado pelo lóbulo posterior da hipófise que motiva a contração das células da cesta (células produtoras de leite), empurrando, para fora, a secreção, facilitando a descida do leite.

Na segunda fase, o período de lactação (galactopoiese) é dependente da ação da prolactina e da somatotropina. Este período pode ser reduzido caso haja ação maior das glândulas suprarenais e tireóide (lobo posterior).

A secreção obtida no curso da ordenha completa é uma mistura de componentes formados em locais diferentes e épocas distintas, isto é, o leite final é a homogeneização dos seus componentes. Como exemplo, nos primeiros jatos, a porcentagem de gordura é da ordem de 1% e, no final, de 11%.

Após a ordenha do animal, o leite deve ser mantido em baixa temperatura. Esta deve ser mais próxima de 0°C quanto maior for o tempo entre a ordenha e a distribuição. O tempo máximo não deve ultrapassar sete horas, especialmente nas épocas mais quentes do ano (12,20,29). A multiplicação dos contaminantes do leite pode ser reduzida diminuindo-se a temperatura do mesmo à faixa de 15-20°C. Em alguns locais isto pode ser conseguido utilizando-se água corrente (7,30).

A limpeza e higiene dos utensílios usados na ordenha e no transporte têm importância especial na conservação do produto. Os baldes utilizados na ordenha devem ser lavados e desinfetados nas propriedades e os vasilhames empregados na distribuição devem ser minuciosamente lavados e desinfetados antes de receberem o leite cru (7,13,14,15,18,27,37,44,46,47,48 e 53).

Os baldes devem ser de ferro estanhado, alumínio ou aço inoxidável, sendo este último caro e pouco utilizado (7,18,23,43 e 58).

A manipulação do leite na propriedade, no transporte e o costume de se manter o recipiente na porta do consumidor é prática precária e rudimentar, demonstrando facilmente deficiências higiênicas em todas as etapas.

Supõe-se que a contaminação do leite pelo processo antigo de venda ainda quente, era muito pouca, pois, se houvesse, seria oriunda das mãos do ordenhador ou do úbere das vacas.

É muito importante evitar-se ao máximo a contaminação inicial do leite. Daí a preocupação de se realizar uma ordenha higiênica em úbere sadio.

A microbiota normal existente no leite pode ser determinada através da contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos. É realizada em meio rico e em temperaturas de 25 a 30°C (4,6,7,13,14,15,26,27,68 e 69) e se o método utilizado permitir uma leitura rápida, a preservação e controle das alterações que venham ocorrer poderão ser realizadas de maneira eficaz. Esses microrganismos são hoje denominados psicotróficos, pois eles crescem também em temperaturas próximas a 0°C (19,20,21,56,60 e 65).

Amostras de leite cru^(28,29) recém-coletadas e que apresentavam contagens menores do que $2,5 \times 10^4$ (25.000) até 10^5 (250.000) microrganismos psicotróficos por mililitro, quando estocadas por 4 dias em temperaturas entre 2 e 8°C, apresentavam contagens aumentadas.

Dentre os microrganismos que alteram o leite cru e seus derivados, quando estocados a baixas temperaturas, temos aqueles em forma de bastonetes Gram-negativos não formadores de esporos e catalase positivos. Bactérias do gênero *Pseudomonas* são mais frequentemente encontradas, embora os gêneros *Alcaligenes*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia* e

Flavobacterium também se mostrem comumente presentes. Durante a estocagem, estas bactérias multiplicam-se, podendo ocasionar a deterioração do produto, pois esse grupo possui espécies que têm ação proteolítica e/ou lipolítica (17,18,24,25,28,34,39 e 45).

Entre as bactérias Gram-negativas, da família *Enterobacteriaceae*, são incluídos os coliformes; neste grupo encontramos os gêneros *Enterobacter* e *Klebsiella* como os mais frequentes no leite cru (17,32,33,36,42 e 49).

De acordo com as espécies dos coliformes psicrotróficos presentes no leite cru e derivados, teremos informações sobre a conservação do produto e as condições sanitárias de sua produção, bem como da possível presença de contaminação de origem fecal (13,14,15,20,25,28,29,39,45,47 e 50).

2.2. Obtenção pela Ordenha Manual

Há aspectos importantes a serem analisados e observados na obtenção do leite pela ordenha manual, a fim de se ter um produto de boa qualidade.

A ordenha é a operação para extrair periodicamente, a intervalos variáveis, o leite produzido na mama de uma fêmea (vaca, cabra, etc.) em lactação (16,18,22,28,34,38 e 43).

Quando a prática adotada é de duas ordenhas diárias, recomenda-se espaço de 10 horas entre uma e outra, ao passo que quando houver necessidade de se realizar três ordenhas, o intervalo deve ser de 8 horas (16,34,43 e 44).

A atividade de ordenha desencadeia uma série de reações fisiológicas que tem sede na própria glândula mamária e em outras áreas, fora da mama (16,34,43).

O conhecimento da anatomia do úbere e de seu mecanismo fisiológico é muito importante para se efetivar uma ordenha bem próxima da perfeita (16,18,28,34,43,51,59 e 62).

O úbere é a glândula secretora e armazenadora de leite, compondo-se de quatro quartos independentes, separados entre si por membranas.

Na extremidade inferior de cada quarto situa-se a teta; circundando o canal da teta, existe um músculo em forma de anel, que é o esfíncter, cuja finalidade é mantê-la fechada, impedindo a saída do leite.

No interior da teta encontra-se o canal galactóforo, que possui uma cisterna que é a da teta; esta, por sua vez, se comunica com as cisternas do úbere, localizadas nos quartos mamários. Das cisternas partem canais lactíferos que se ramificam em outros de menor calibre e que terminam nos alvéolos, onde ocorre a formação do leite.

O ato de ordenhar manualmente consiste em envolver a teta com a mão, em sua porção superior, com os dedos polegar e indicador e, depois, fazendo-se com que todos os demais dedos acionem todo o comprimento da teta, forçando a passagem do leite através do canal galactóforo^(16,34,43 e 44).

Na ordenha manual, as mãos devem trabalhar na posição diagonal em relação aos tetos. O quarto anterior direito é submetido à ordenha ao mesmo tempo que o quarto posterior esquerdo e assim também o quarto anterior esquerdo, com o quarto posterior direito. Não é recomendada a ordenha lateral ou longitudinal.

Para esgotar bem o úbere, deve-se fazer movimentos de massagens rápidas e leves, de cima para baixo, com a finalidade de se obter total extração do leite.

Tanto a ordenha manual como a mecânica devem ser realizadas com rapidez, no espaço de 5 a 7 minutos, devido ao fato de o tempo de inativação da oxitocina (hormônio responsável pela descida do leite) ser de 8 a 9 minutos^(16,34,43,44).

As recomendações para que ocorra uma boa ordenha, são as seguintes^(16,34,43): esta deve ser completa, a fim de evitar a perda do teor gorduroso do leite e evitar que existam condições predisponentes para mastites; deve ser indolor e, para tanto, feita suavemente a fim de que a vaca não sinta dor e venha a reter o leite; em silêncio - todo ruído ou qualquer serviço ruidoso no estábulo deve ser

suspenso durante a ordenha para não se estressar o animal; higiênica - o úbere deve ser higienizado antes e depois da ordenha, lavando-o e enxugando-o com panos limpos ou com toalhas de papel (9,16,18,20,27,28,44,51,62,65).

Deve haver um serviço de educação sanitária para os ordenhadores e retireiros, com a finalidade de orientá-los e educá-los para que saibam lidar com os animais e seus produtos.

2.3. Cuidados higiênicos para com o leite em sua fonte de produção

O leite, a partir do momento de sua obtenção, está sujeito a uma série de contaminações, principalmente de origem microbiana, que passam a representar riscos à sua conservação e à saúde do consumidor, quer como leite fluído ou produtos derivados. Deste fato, decorre a necessidade de se dispor de adequado sistema de vigilância e controle de consumo do leite, a partir de sua obtenção (9,14,17,18,34,61,62).

Antes de se enumerar as ações que o inspetor deve fazer executar, é imprescindível chamar a atenção para os aspectos mais importantes do ponto de vista higiênico-sanitário, na fase de obtenção do produto (9,14,17,18,34,61,62).

O leite, como secreção animal e face ao ambiente e modo como é obtido, pode representar um risco sanitário, por

melhores que sejam as condições (12,21,26,28,34,38,40,43,61,62).

O alimento pode facilmente se contaminar com agentes patogênicos e toxigênicos. Neste ponto se distingue dois grandes grupos clássicos de toxinfecções alimentares: as doenças de origem microbiana e as de origem tóxica, provocadas por substâncias biossintetizadas nos alimentos pela proliferação de certos microrganismos toxigênicos (16,24,31,33,38,41,43,59,61,62).

Do ponto de vista infectante, de início, deve-se distinguir o grupo dos microrganismos de baixa Dose Mínima Infectante (DMI), da ordem de 10^1 a 10^2 /mcg, à qual pertencem os vírus, as *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* e *Shigella flexneri*, e os de alta DMI, da ordem de 10^4 a 10^6 /mcg, para os demais sorotipos de salmonelas, *Shigella sonnei*, *Clostridium perfringes*, *Escherichia coli* enteropatogênica e *Vibrio parahemoliticus* (31,32,37,62,63).

Afora os riscos sanitários, os contaminantes saprófitas do leite determinam alterações, atuando sobre a lactose, proteínas e gorduras, levando o produto à deterioração e perda (44,45,54,60,63,64,67).

3. FONTES DE CONTAMINAÇÃO DO LEITE

3.1. Gado leiteiro

Diversas enfermidades, que constituem as zoonoses, podem ser veiculadas ao homem através do leite. No caso específico da vaca leiteira, merecem ser destacadas as contaminações através de equipamentos, onde 90% são por *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* e *Streptococcus uberis* (18,26,29,30,31,34); as do interior do úbere que, mesmo em condições assépticas, carregam entre 10^2 a 10^3 por ml de *Bacillus mesentericus*, *B. subtilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus* e *Corynebacterium* (26,37,43,44,45); contaminações oriundas da microbiota fecal, como *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus bovis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacillus* e *Micrococcus* (12,25,26,28,37,43,45,52,53,54,71,72).

3.2. Outros Animais e Insetos

Outros animais domésticos, insetos e roedores no ambiente de ordenha, representam alto risco de contaminação do leite. As moscas são os principais vetores de contaminantes do alimento. Estes insetos contaminam tetos, equipamentos e o próprio produto, carregando elevada carga de microrganismos de esterco e resíduos orgânicos existentes próximos ao ambiente.

3.3. Ar

A contaminação do ar está na dependência do ambiente. A flora microbiana em suspensão será a resultante da dessecação de resíduos orgânicos ou poeira levantada no ambiente.

Os gêneros bacterianos mais comumente encontrados no ambiente são os *Bacillus*, *Sarcina*, *Micrococcus* e muitos outros, esporulados ou não, os fungos, etc. Este tipo de contaminação pode ser insignificante ou compreender vários milhões por ml (9,15,16,18,20,27,29,34,36,43,55,61,62).

3.4. Solo

Os contaminantes do solo, que em precárias condições de higiene podem afetar o leite e provocar enfermidades no homem, são os eliminados pelo homem e animais através de excrementos.

Os gêneros que podem ser encontrados, dentre outros, são os *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Sarcina*, *Escherichia*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Salmonella* (43,45,48,59,60,62,66).

3.5. Água

A água de higienização dos animais, do ordenhador e de utensílios pode tornar-se o veículo de contaminantes diversos, de acordo com sua qualidade. Em águas não tratadas, encontram-se os gêneros *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Proteus*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Aerobacter*, *Escherichia*, *Salmonella* etc. O *Alcaligenes viscolactis* e *Enterobacter aerogenes* são as bactérias que ocasionam o leite viscoso e em geral são procedentes da água (7,9,18,20,27,28,34,43,59,62,66).

3.6. Estábulo

Os estábulos que não possuem condições higiênico-sanitárias constituem-se num considerável risco de contaminação para o leite. É indispensável que tenham um piso calçado, íntegro, com inclinação e canaletas de desague, permitindo manter as mais perfeitas condições de higiene. A ventilação e iluminação são outro aspecto fundamental na manutenção e preservação da higiene ambiental (9,16,28,43,59,62,66,70).

3.7. Equipamentos e Utensílios

As superfícies que entram em contato direto com o leite, como as partes internas dos vasilhames, tanque, latões, tubulações, resfriadores, ordenhadeiras etc., se não mantidas sob rigorosa higiene, são as maiores vias de contaminação do leite. No sistema convencional de coleta de leite em latões, estes são os que mais tempo permanecem em contato com o leite, sendo incriminados como a principal via de contaminação do leite (5,13,14,16,18,26,34,39,44,50,54,55,58,62,66).

3.8. Manipuladores

O homem é a principal fonte de contaminação do leite que, direta ou indiretamente, permanece em contato com o produto, uma vez que participa da ordenha, manipulação inicial, transporte, industrialização, transporte final e exposição ao consumo.

A inobservância de boas normas de higiene por parte dos manipuladores durante a ordenha, coleta e transporte, acarretará contaminações nocivas à saúde e alterações do leite (7,9,18,27,30,31,34,38).

As condições de tratamento do leite, visando reduzir os níveis de contaminação, devem reunir uma série de requisitos que poderão variar segundo o nível tecnológico de cada área e País e, ainda, segundo o padrão de leite que se pretende obter(18,27,36,38,41,43,45,47).

4. CONDIÇÕES HIGIÊNICAS DO LEITE

Como regra geral, as instalações e equipamentos devem observar o seguinte:

4.1. Currais de espera e manejo

De existência obrigatória, deverão possuir área mínima de 2,50m² por animal a ser ordenhado, pavimentação de paralelepípedos rejuntados, lajotas ou piso concretado, cercas de material adequado (tubos de ferro galvanizado, correntes, réguas de madeira sem formar cantos vivos, etc.) e mangueiras com água sob pressão para higienização. Destinados aos animais a serem ordenhados, deverão ser situados estrategicamente em relação à dependência de ordenha (9,16,18,34,59,62,66).

4.2. Dependência de abrigo e arraçoamento

Destinada somente para fins mencionados, deve observar: pé-direito mínimo de 3 (três) metros; estrutura da cobertura bem acabada e de material de boa qualidade; paredes em alvenaria, quando existentes, com bom acabamento e pintadas com tinta de cor clara; como substitutivos das paredes, poderão ser empregados tubos galvanizados, correntes ou outro material apropriado e aprovado; piso impermeável, revestido de cimento áspero ou outro material de qualidade

superior, com dimensões e inclinação suficientes para o fácil escoamento de águas e resíduos orgânicos; sistema de contenção de fácil limpeza e higienização, devendo ser evitado o uso de canzil de madeira; manjedouras (cochos) de fácil limpeza e higienização, sem cantos vivos, revestidas com material impermeável, de modo a facilitar o escoamento das águas de limpeza; os bebedouros devem, igualmente, ser de material de bom acabamento, côncavos e de fácil limpeza, recomendando-se o uso de bebedouros individuais (9,16,34,59,62,66).

4.3. Local para lavagem externa dos animais

Destinado à lavagem externa dos animais a serem ordenhados, deve ser situado estrategicamente em relação ao acesso à sala de ordenha, ser provido de instalação de água, necessária ao uso especificado, possuir piso de cimento, lajota ou paralelepípedo rejuntado, com ralos ou canaletas de fundo côncavo para coleta e escoamento das águas e resíduos (59,66).

4.4. Sala de ordenha

A ordenha deve ser feita em dependência apropriada, destinada exclusivamente a esta finalidade, e localizada afastada da dependência de abrigo e arraçoamento, bem como de outras construções para alojamento de animais^(21,22). Deve observar os seguintes itens:

- Construção de alvenaria, pé-direito mínimo de 3 (três) metros, com áreas de iluminação e aeração suficientes.
- Possuir paredes revestidas com azulejos, ou outro material impermeável, até a altura de 2 (dois) metros.
- Piso impermeável, anti-derrapante, revestido de cimento ou outro material de qualidade superior, provido de canaletas de fundo côncavo, com dimensões e inclinação suficientes para fácil escoamento de águas e resíduos orgânicos.
- Possuir forro em material impermeável, de fácil limpeza e manutenção de sua higiene. Em se tratando de cobertura em estrutura metálica, com telhas de alumínio, fibra-cimento-amianto, ou tipo calhetão, é dispensado o forro.
- Portas e caixilhos das janelas metálicos.
- Instalação de água sob pressão para perfeita limpeza e higienização da dependência.
- Sistema de contenção de fácil limpeza e higienização.

- Possuir equipamento para a ordenha mecânica, pré-filtragem e bombeamento até o tanque de depósito. O equipamento de ordenha, tubulações, bombas sanitárias e outros, devem ser, conforme o caso, em aço inoxidável, vidro, fibra de vidro, ou outros materiais. Deve possuir bom acabamento e garantir facilidade de higienização mecânica e conservação.
- As dimensões da dependência e a capacidade do equipamento devem possibilitar a realização total da ordenha no menor espaço de tempo possível (9,16,23,34,43,59,62,66).

4.5. Desinfetantes utilizados

Para Pisos:

- (1) sulfato de cobre a 4%
- (2) creolina a 4%
- (3) hipoclorito de sódio a 10%
- (4) detergentes quaternários da amonia
- (5) leite de cal c/ alumem, caiação das paredes
- (6) lixivia de soda a 10% (5 litros de leite de cal a 10% + 95 litros de lixivia de soda a 10%) para pisos, em caso de moléstias infecciosas (7,43).

Para Lavar o Úbere:

- (1) hipoclorito de sódio - 15ml (uma colher de
sopa) (7.43)
água - 10 litros

Para Desinfetar Baldes e Utensílios:

- 1) hipoclorito de sódio - 30ml (duas colheres de
sopa) (7,43)
água - 10 litros

5. TEMPERATURAS ADEQUADAS AO CRESCIMENTO BACTERIANO

A temperatura é, provavelmente, o mais importante dos fatores ambientais que afetam a viabilidade e o desenvolvimento microbiano. O crescimento microbiano é possível entre -8 até 90°C, sendo mais comum em torno dos 35°C. (ICMSF, 1983) (36)

Estudando-se as faixas de temperatura de crescimento microbiano, pode-se observar quatro grupos fisiológicos fundamentais de bactérias: termófilas, mesófilas, psicrotrófilas. (ICMSF, 1983) (36)

Muitos dos microrganismos mesófilos são de origem humana ou animal; alguns são patogênicos e outros, mais numerosos, são os que alteram os alimentos. Esse grupo todo se desenvolve bem em temperaturas que variam de 30 a 45°C e consegue se desenvolver mais lentamente entre 5 e 10°C. Em meio favorável, o tempo de desenvolvimento ou de multiplicação em temperatura ótima é de 1/2 hora, mais ou menos (01,02,03,35,36).

Os termófilos crescem ao redor de 55 a 65°C e em alguns casos até entre 75 e 90°C, sendo de 35°C a temperatura mínima de atividade bacteriana. (ICMSF, 1983) (36)

Os psicrotróficos são microrganismos que se desenvolvem bem ao redor de 0°C, mas que crescem muito bem em temperaturas ao redor de 25 a 30°C e até de 35°C. Alguns autores os consideram como subgrupo dos mesófilos. Nesse

grupo estão incluídas as Gram-positivas e Gram-negativas; aeróbias, anaeróbias facultativas etc., as leveduras dos gêneros *Candida*, *Tonilopsis*, *Cryptococcus* etc. e também os bolores: *Penicillium*, *Cladosporium* etc. (01,02,03,45,61,68,69,72,73).

6. MICRORGANISMOS MAIS ENCONTRADOS NO LEITE

No leite, encontram-se mais comumente bactérias do gênero *Streptococcus*. São acidificantes pois atacam a lactose produzindo ácido lático e algumas espécies desse gênero são utilizadas como fermentos iniciadores na elaboração de produtos derivados do leite, enquanto outros, são prejudiciais. Assim, *S. lactis*, *S. cremoris*, *S. diacetylactis*, *S. faecium*, *S. faecalis*, são responsáveis pelo aroma e sabor de queijos, coalhadas e manteigas, enquanto que o *S. liquefaciens* ataca a lactose provocando uma fermentação anormal, e por ser também proteolítico pode liquefazer o coágulo protéico. O *S. pyogenes* pode também estar contaminando o leite e é oriundo do contacto das mãos de ordenhadores ou da pele do próprio animal. (ICMSF, 1983) (36)

Coliformes também podem estar presentes no leite; com muita frequência, provocam a acidificação do produto, coalhando o leite que passa a apresentar sabor desagradável e odor fecal (4,7,13).

Micrococcus e *Lactobacillus* também são encontrados no leite, sendo os primeiros acidificantes e produtores de pigmentos, modificando a cor do produto final; os últimos podem atingir o leite através do solo ou do ambiente e provocar fermentação prejudicial, como o *L. buchneri*, ou produzir manchas ferruginosas em queijos, como o *L. plantarum* (4,7,13,26).

Outras bactérias podem também ser encontradas no leite, como as dos gêneros *Propionibacterium* e *Staphylococcus*, sendo que estas últimas distribuem-se principalmente na fase gordurosa do leite, sendo bastante resistentes às altas temperaturas e ao sal. (ICMSF, 1983) ⁽³⁶⁾

Bolores e leveduras, como os dos gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Saccharomyces* e *Torula*, também podem ser encontrados no leite, sendo responsáveis por fermentação da lactose, com formação de ácidos láctico e acético, álcool, gás carbônico e hidrogênio.

Encontramos ainda, no leite, bacilos anaeróbios produtores de esporos, como por exemplo o *Cl. perfringens* ^(36,43,52,61,68,69).

7. DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS AO HOMEM PELO LEITE

O leite é um excelente meio de cultura para uma variedade de microrganismos, principalmente bactérias, fato que torna este produto perigoso do ponto de vista da Saúde Pública.

No leite, os germes não só permanecem vivos por muito tempo, como também conseguem multiplicar-se atingindo altos números.

A prevenção de doenças de origem humana ou animal, que podem ser transmitidas pelo leite, é um problema de Saúde Pública. Os germes patogênicos mais frequentes no leite podem ser originados de fêmeas doentes ou de pessoas infectadas que ordenham o animal ou manipulam o leite^(23,36,38,43).

7.1. Viroses

O isolamento e identificação de vírus humanos em alimentos, obviamente, é de interesse significativo em Saúde Pública, porém, são poucos os trabalhos realizados com vistas ao isolamento e identificação de vírus em alimentos, apesar de já estar comprovado que existem vírus de origem humana e animal que podem estar presentes.

Não se conhece claramente, ainda, a importância do vírus como causa de enfermidades transmitidas pelo leite; esta deficiência é atribuída à falta de técnicas de laboratório apropriadas para o estudo do vírus em alimentos e à insuficiência de dados epidemiológicos.

Os adenovírus, provavelmente, são transmitidos pelo leite, uma vez que a via usual de transmissão é a via respiratória(23,26,30,38).

No caso dos Enterovírus, cujo desenvolvimento se faz no trato gastrointestinal do homem e de animais, são de maior importância os vírus da poliomielite, os vírus Coxsackie e os vírus Echo. Existem na literatura citações de alguns surtos de poliomielite cuja origem adveio da ingestão de leite contaminado(23,26,30,38).

A pasteurização inativa o vírus da poliomielite, porém, vírus Coxsackie, suspenso no leite, parece ser resistente aos métodos de "pausterização alta" a 71°C por 15 segundos. A sua resistência aumenta quando suspenso em nata(38).

Como os enterovírus aparecem nas fezes de portadores sãos, tanto a contaminação do leite cru, como a do leite já pasteurizado, pode ser maciça, contribuindo para a difusão destes vírus, sendo provavelmente, um meio de transmissão destes enterovírus(23,26,30,38).

O vírus da hepatite infecciosa, uma vez excretado pelas fezes humanas, pode também ser veiculado pelo leite(38).

Além da contaminação direta através das mãos dos manipuladores, a infecção também pode ser propagada pelo emprego, na indústria, de águas de má qualidade, caso esta água não tenha sofrido um tratamento adequado; a hepatite infecciosa é uma das doenças mais graves que podem ser transmitidas pelo leite^(23,36,38,43,54).

Existem evidências epidemiológicas de que estes vírus são responsáveis por epidemias, como a ocorrida na Georgia em 1945, cujo veículo de transmissão foi leite ingerido cru⁽³⁸⁾.

Os dados a respeito da termo-resistência do vírus são escassos; sabe-se que sobrevive a uma temperatura de 56°C durante 30 minutos, porém ignora-se o efeito de temperaturas superiores⁽³⁸⁾.

Pode ainda ser veiculado através do leite, o vírus da encefalite transmitida por carrapatos, vírus este pertencente ao grupo B dos Arbovírus. O vírus passa de um vertebrado a outro, através de carrapatos e ácaros, e a infecção no homem pode se dar também por via oral, sobretudo pela ingestão do leite cru procedente de cabras infectadas⁽³⁸⁾.

No leite de animais infectados experimentalmente, o vírus chega a atingir uma concentração centenas de vezes superior à sanguínea, o que provavelmente se deve ao fato de haver uma multiplicação no úbere. Este vírus foi isolado do leite de cabra e somente após inoculação experimental, do leite de vaca e ovelha⁽³⁸⁾.

Em creme, manteiga e coalhadas elaboradas com leite contaminado, demonstrou-se também a presença do vírus. Este vírus sobrevive por 2 meses em creme e manteiga conservadas a 4°C e 2 semanas em coalhadas; em queijos, desaparecem 2 meses após a elaboração⁽³⁸⁾.

O aquecimento a 70°C durante 20 minutos inativa totalmente o vírus. É inativado também pela pasteurização lenta ou pelo aquecimento a 72°C e 85°C por 10 segundos⁽³⁸⁾.

A doença causada por este vírus e provocada pela ingestão de leite cru de cabra, é denominada encefalite meningocócica bifásica ou febre bifásica do leite⁽³⁸⁾.

7.2. Rickettsioses

Febre Q - É uma enfermidade difundida mundialmente e produzida por uma rickettsia, ou seja, a *Coxiella burnetii*. Provoca no homem o aparecimento de febre, calafrios, suor, dores na nuca e cabeça, quadro este que muitas vezes se confunde com o de malária. Provoca o aborto em animais⁽³⁸⁾.

A *Coxiella burnetii* é excretada com a urina, fezes e leite. Os reservatórios são os animais produtores de leite, principalmente vacas, ovelhas e cabras. A infecção humana se dá através da poeira dos locais em que se encontram animais infectados, das excreções e secreções de animais, bem como através da ingestão do leite cru⁽³⁸⁾.

Em zonas onde o gado leiteiro está infectado, um número elevado de amostras de leite revela-se contaminado pela *Coxiella burnetii*. O gado infectado elimina a *Coxiella burnetii* pelo leite durante um período de 200 dias, aproximadamente⁽³⁸⁾.

Tanto o úbere, como o leite, não apresentam qualquer anormalidade aparente. A *Coxiella burnetii* mostra certa termoresistência e pode sobreviver a algumas combinações tempo-temperatura utilizadas na pasteurização⁽³⁸⁾.

Após vários estudos, chegou-se à conclusão de que a *Coxiella burnetii* é, sem dúvida, mais termoresistente do que o bacilo da tuberculose, considerado como o microrganismo mais termoresistente de todos os patogênicos não esporulados presentes no leite^(38,43).

A *Coxiella burnetii* sobrevive em creme cru ou quando é submetida a uma pasteurização inadequada. A pasteurização do leite a 63°C por 30 minutos ou a 71,6°C por 15 segundos destrói o microrganismo^(38,43).

7.3. Infecções e intoxicações bacterianas

Tuberculose - O bacilo da tuberculose, quando encontrado no leite, normalmente é do tipo bovino (*Mycobacterium bovis*), o qual causa a tuberculose bovina, sendo também patogênico para o homem^(38,43).

Vacas portadoras de mamites produzidas pelo *M. bovis*, podem eliminar durante meses os bacilos responsáveis, no homem, por infecções tuberculosas de localizações as mais variadas, adquiridas através da ingestão do leite cru. Na criança, provoca escrfulose que é a tuberculose dos gânglios cervicais(38,43).

O bacilo da tuberculose do tipo humano, pode ser encontrado no leite, quando este é contaminado maciçamente, geralmente por escarro. A presença de um número alto de bacilos do tipo humano no leite, indica contaminação maciça, uma vez que o *M. tuberculosis* não se multiplica no leite(38,43).

Os diferentes processos de pasteurização existentes inativam o bacilo da tuberculose, tanto do tipo humano como do bovino. Deve ser salientado que as temperaturas e tempos empregados no processo de pasteurização do leite foram estabelecidos, levando-se em conta a termo-resistência do bacilo da tuberculose(38,43).

Brucelose - é uma doença infecto-contagiosa de natureza crônica, comum ao homem e aos animais, e causada por bactérias do gênero *Brucella*. Podem ocorrer focos de infecção na glândula mamária do animal(38,43).

O veículo de transmissão mais frequente deste germe ao homem é o leite cru, sendo que seus derivados obtidos de matéria prima não pasteurizada podem também transmitir as brucelas ao homem(38,43).

Três das seis espécies de *Brucella* (*B. abortus*, *B. suis* e *B. melitensis*) podem ser veiculadas ao homem, através da ingestão do leite não pasteurizado⁽³⁸⁾.

A *Brucella abortus* chega a sobreviver por 6 dias em leites fermentados e cerca de 4 meses em creme e manteiga conservados a 10°C e até 6 meses em queijos^(38,43).

O animal doente pode eliminar a bactéria juntamente com o leite, durante 7 anos consecutivos, antes do aparecimento dos sintomas^(38,43).

O combate à brucelose, transmitida pelo leite, deve ser feito através do controle da doença no gado leiteiro e no tratamento térmico adequado do leite e dos produtos lácteos^(38,43).

Carbúnculo - é uma doença infecciosa causada pelo *Bacillus anthracis* que atinge principalmente animais.

A transmissão desta bactéria através do consumo de leite cru é rara, apesar de que o bacilo pode ser encontrado no leite de animais curados^(38,43).

A forma vegetativa do bacilo é sensível ao tratamento térmico e, portanto, destruído pela pasteurização. Porém, as formas esporuladas são muito mais termoresistentes, podendo sobreviver à pasteurização. É sabido entretanto, que o aquecimento do leite contaminado em auto-clave, por 10 minutos à pressão de 1kg/cm² destrói todas as formas esporuladas^(38,43).

A presença de um número reduzido de esporos em um leite mantido à temperatura suficientemente baixa, capaz de impedir que ocorra a sua germinação e desenvolvimento, não parece representar um perigo importante. A maioria dos casos de carbúnculos de origem digestiva se deve à ingestão de carne contaminada^(38,43).

Botulismo - é uma intoxicação de origem alimentar causada pela ingestão de exotoxinas produzidas pelo *Clostridium botulinum*.

Os esporos de *Cl. botulinum* encontram-se no solo e podem com frequência contaminar o leite e produtos derivados⁽³⁸⁾.

A pasteurização não destrói as formas esporuladas uma vez que estas apresentam alta resistência ao calor. Os produtos lácteos, entretanto, raramente são responsabilizados por quadros de botulismo, não se tendo conhecimento de quais os fatores responsáveis pela inibição do microrganismo nestes alimentos⁽³⁸⁾.

Clostridium perfringens - Os esporos de *Cl. perfringens* aparecem com muita frequência em fezes do homem, animais e até insetos. Estão presentes no solo, no ar, em vegetais, nas carnes e pescados. Sobrevivem quase que indefinidamente no ambiente e portanto podem estar difundidos em larga escala nos estábulos⁽³⁸⁾.

A presença desta bactéria em leite pasteurizado é da ordem de 16 a 18%. Em condições não bem esclarecidas, o **Cl. perfringens** pode multiplicar-se rapidamente após cocção ou um aquecimento inadequado e provocar quadros de gastroenterites quando consumido. Em crianças foram observados casos de diarréia e vômitos provocados pela ingestão de leite inadequadamente aquecido e conservado à temperatura de 25°C⁽³⁸⁾.

O saneamento do meio e o tratamento térmico, bem como um resfriamento rápido após o processo de pasteurização, são medidas eficazes, impedindo a multiplicação deste microrganismo⁽³⁸⁾.

Intoxicação alimentar - O **Staphylococcus aureus** pode ser encontrado no leite e produtos derivados, como resultado da contaminação do úbere, ou através de portadores humanos⁽³⁸⁾.

O maior perigo que oferece a contaminação do leite com **S. aureus** reside no fato de que algumas cepas podem produzir uma enterotoxina capaz de causar, no homem, um quadro de gastroenterite aguda⁽³⁸⁾.

Esta enterotoxina é termoestável e os estafilococos que as produzem acham-se com grande frequência em portadores sãos e no gado leiteiro. Este tipo de intoxicação pode ser produzida inclusive por leites pasteurizados, bastando para isto que o produto tenha permanecido à temperatura favorável à multiplicação dos estafilococos e durante um tempo suficiente para a formação de uma quantidade de enterotoxina

capaz de provocar intoxicação^(33,38).

É de suma importância a resistência da enterotoxina.

Como já foi referido anteriormente, a enterotoxina estafilocócica produzida no leite cru resiste aos diferentes métodos de pasteurização, resistindo inclusive à ebulição por 30 minutos, sem que sua atividade seja reduzida, sendo necessário que esta ebulição se prolongue por uma hora, ou mais, para que se consigam resultados favoráveis. O aquecimento em autoclave sob pressão de 1kg/cm^2 produz a destruição completa da enterotoxina em 20 minutos⁽³⁸⁾.

Os filtrados de cultivo, conservados à temperatura de 0 a 4°C , conservam sua potência durante 2 meses no mínimo. As combinações de tempo e temperatura normais de pasteurização, por sua vez, destróem os estafilococos que se encontram presentes no leite. Entretanto, algumas cepas existentes em produtos lácteos, como sorvetes e cremes, exigem ligeiros aumentos de tempo e temperatura⁽³⁸⁾.

O leite que contém a enterotoxina estafilocócica não apresenta sabor ou odor anormal, sendo portanto um leite que pode ser consumido, sem que haja qualquer suspeita de sua presença. A enterotoxina formada no leite pode se manter ativa em diversos produtos derivados. Assim, pode estar presente no leite em pó, em sorvetes, queijos, etc.⁽³⁸⁾.

Quando o leite é resfriado à temperatura de pelo menos 10°C, imediatamente após ordenha, conservado a essa temperatura até o seu beneficiamento, e o tratamento térmico efetuado poucas horas após a ordenha, evita-se a multiplicação dos estafilococos. Nunca se deve permitir, por exemplo, que o leite submetido a um tratamento térmico parcial, como por exemplo, durante o preparo do leite em pó, permaneça a uma temperatura favorável à rápida multiplicação de germes⁽³⁸⁾.

Febre tifóide e paratifóide - Depois da água, o leite constitui provavelmente o principal veículo de transmissão dessas infecções causadas pelas *S. typhi*, *S. paratyphi*, *S. schottmuelleri* e *S. hirschfeldii*, sobretudo em locais onde não se submete este produto a um tratamento térmico eficaz. Nos países onde a maior parte do leite distribuído à população é pasteurizado, a frequência dessas infecções transmitidas pelo leite tem diminuído consideravelmente⁽³⁸⁾.

O responsável pela contaminação do leite pode ser um portador humano ou um convalescente, que tenha entrado em contacto com este alimento, ou pode haver uma contaminação indireta através da água, moscas, vasilhames, etc⁽³⁸⁾.

Como aqueles microrganismos se multiplicam no leite à temperatura ambiente, uma pequena contaminação inicial pode dar lugar a concentrações perigosas de germes, inclusive, após a diluição do alimento. A este respeito deve ser salientado que basta um número pequeno daqueles germes para

provocar a infecção no homem⁽³⁸⁾.

A *S. typhi* sobrevive durante longos períodos em produtos lácteos conservados a temperaturas de congelação. Em sorvetes mantidos em temperatura de -20°C a *S. typhi* conserva sua viabilidade por mais de dois anos⁽³⁸⁾.

Sabendo-se que os diferentes processos de pasteurização destroem de forma eficaz os bacilos das febres tifóide e paratifóide, a identificação destes bacilos no leite pasteurizado só poderá acontecer através de uma contaminação após o tratamento térmico.

Salmoneloses - As salmonelas causam infecções frequentes no rebanho bovino e em outros animais em todos os países. Nas salmoneloses de bovinos, podem ocorrer quadros clínicos e subclínicos, devido principalmente a 2 sorotipos: a *S. dublin* e *S. typhimurium*.

A frequência e distribuição das distintas cepas de salmonelas varia segundo as zonas e a época e todas elas são potencialmente patogênicas para o homem⁽³⁸⁾.

O leite desempenha um papel importante na transmissão destes germes, uma vez que a infecção no homem, por um outro tipo de *Salmonella*, exige um número relativamente grande de microrganismos.

Difícilmente um contacto direto do animal com o homem produz uma infecção intensa deste último, a não ser que o animal sofra uma infecção clínica e elimine os germes em grande quantidade; o leite é um bom meio de cultura para as salmonelas procedentes do gado ou de portadores humanos e

constitui, por conseguinte, um excelente veículo de transmissão em que os germes em presença de certas combinações de tempo e temperatura, alcançam com rapidez o número necessário para provocar um quadro clínico de infecção⁽³⁸⁾.

O leite atua também, com frequência, como veículo de transmissão indireta dos germes de animais ao homem, sobretudo em zonas urbanas onde não existe um contacto direto⁽³⁸⁾.

Uma fêmea leiteira com um quadro de salmonelose clínica, pode eliminar, em alguns casos, salmonelas pelo leite. A infecção procede, em geral, de fezes de animais portadores ou enfermos⁽³⁸⁾.

A contaminação do leite pode proceder também de estábulos, onde as vias de transmissão são múltiplas: forragens, excrementos de roedores, pó, utensílios, ordenhadores ou operários que manejam o leite, aves de curral, moscas e carrapatos.

A contaminação do leite e produtos lácteos pode resistir durante períodos mais ou menos longos, segundo as condições de armazenamento, porém o suficiente para produzir infecções humanas, a menos que o produto contaminado receba um tratamento térmico adequado⁽³⁸⁾.

Os métodos de pasteurização destroem com facilidade as salmonelas, porém pode haver contaminação do leite ao ser envasado, se a operação não for cercada dos devidos cuidados⁽³⁸⁾.

Infecções estreptocócicas - Os estreptococos comumente responsáveis por mastites bovinas são os *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus uberis* e a ocorrência, no úbere de animais, de estreptococos patogênicos para o homem, como o *Str. pyogenes*, é rara.

O leite pode ser contaminado com esta bactéria através de manipuladores que apresentam quadro de infecção estreptocócica ou de portadores. Em alguns casos, as pessoas que disseminam o *Str. pyogenes* infectam o gado leiteiro provocando, neste, a instalação de mastites subclínicas ou clínicas, que determinam a passagem para o leite de um grande número de estreptococos⁽³⁹⁾.

Apesar da pasteurização adequadamente conduzida destruir estes microrganismos, o leite após o processo de aquecimento pode recontaminar-se através das mãos infectadas de manipuladores⁽³⁸⁾.

O *Str. pyogenes* pode ser responsável por tipos distintos de doenças humanas. A origem de muitas epidemias de angina séptica e escarlatina têm sido atribuídas ao consumo de leite procedente de vacas infectadas.

Os estreptococos do grupo A, de Lancefield (*Str. pyogenes*), quando presentes no leite, são destruídos através de tratamento térmico, porém os surtos se devem, quase sempre, ao leite cru, mau pasteurizado ou contaminado após o processo de pasteurização⁽³⁸⁾.

A presença de estreptococos patogênicos no leite ou derivados pasteurizados, é o suficiente para condenar o produto.

Muitas outras doenças podem ainda ser transmitidas pelo leite crú ou leite contaminado após a pasteurização, tais como: cólera, difteria, leptospiroses, listerioses, pasteureloses, infecções por *Mycoplasma* e fungos patogênicos, etc.³⁸

8. ALTERAÇÕES DO LEITE PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS

Por possuir açúcares, o leite sofre fermentações ácidas, ocasionadas por bactérias. As principais alterações são:

8.1. Azedamento ou acidificação

O leite com número alto de bactérias fermenta rapidamente, com produção de ácido láctico, responsável pela queda do pH original (6,7) a pH 5. Quando o pH baixa a 4,6, ocorre a precipitação de caseína e o produto tem um odor e sabor azedo. Há precipitação de proteínas que liberam um soro claro⁽⁴⁴⁾.

Caso estejam presentes lactobacilos, estes continuam a se multiplicar, bem como sua atividade fermentativa continua até o pH do leite alcançar a 4. Neste pH, porém, bolores e leveduras conseguem crescer, utilizando o ácido láctico e, desta forma, o pH se eleva, chegando próximo à neutralidade. Nestas condições, outras bactérias (proteolíticas) conseguem crescer, provocando uma decomposição da caseína precipitada e liquefazendo o leite coalhado. Para a putrefação são necessárias, via de regra, algumas semanas⁽⁴⁴⁾.

Os acidificantes normais do leite são os *Streptococcus lactis* e o *Streptococcus cremoris*. Outras bactérias que também acidificam o leite são os *Lactobacillus*, coliformes e *Clostridium perfringes*.

Os *Lactobacillus* que são usados na indústria de laticínios, na fabricação de coalhadas são, por exemplo, os *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. caucasicus*, etc. (16,27,50)

O leite submetido ao tratamento térmico, capaz de destruir todas as formas vegetativas, pode sofrer, entretanto, uma fermentação butírica com formação de H_2 e CO_2 através de bactérias esporuladas pertencentes ao gênero *Clostridium* (16,27,44,50).

8.2. Produção de Gás

A formação de ácido pode ser acompanhada de produção de gás, que é indesejável em produtos lácteos.

O *Cl. perfringens* é um germe altamente sacarolítico, capaz de fermentar quase todos os hidratos de carbono comuns, com produção de ácido e grande quantidade de gás. É capaz de produzir uma fermentação violenta do leite, cujo coágulo tem um aspecto característico, apresentando-se todo retalhado⁽⁴⁴⁾.

Outras espécies também são formadoras de gás, como os coliformes e *Bacillus* que liberam H_2 e CO_2 , ou germes propiônicos, leveduras e os lácticos fermentativos que produzem somente CO_2 .

A produção de gás pode ser verificada pela formação de espuma na parte superior do frasco se o leite é líquido⁽⁴⁴⁾.

No leite cru, os germes produtores de gás com maior probabilidade de se multiplicarem são os coliformes, por poderem competir bem com outros produtores de ácido⁽⁴⁴⁾.

Em temperatura de refrigeração, é difícil a multiplicação de bactérias dos gêneros *Clostridium* e de *Bacillus* formadores de gás, que não são capazes de competir vantajosamente com os produtores de ácido à temperatura elevada, porém poderão atuar caso estes não estejam presentes^(16,27,44).

8.3. Proteólise

A hidrólise de proteínas lácticas por ação microbiana é acompanhada geralmente pela produção de um sabor amargo, produzido por alguns peptídios. A proteólise é favorecida pelo armazenamento a temperaturas baixas, pela destruição de germes lácticos pelo calor, pela destruição de ácidos formados no leite por ação de bolores e leveduras ou ainda pela neutralização de ácido por metabólitos de outros microrganismos⁽⁴⁴⁾.

As alterações produzidas por microrganismos proteolíticos podem ser produzidas por diversas espécies do gênero *Micrococcus* que podem estar no úbere da vaca e produzir proteólise mesmo do leite recolhido assepticamente⁽⁴⁴⁾.

O *S. faecalis* var. *liquefaciens* é um organismo lático, proteolítico e termodúrico e, portanto, capaz de produzir proteólise no leite pasteurizado.

As espécies de *Bacillus* que sobrevivem à pasteurização possuem cepas proteolíticas e fermentadoras de lactose, que produzem proteólise ácida. A proteólise produzida por bactérias que não fermentam a lactose, varia segundo os germes; pode ir desde uma proteólise ligeira até a digestão da caseína⁽⁴⁴⁾.

Muitas destas bactérias coalham o leite antes de digerir a caseína, porém outras hidrolizam a proteína tão rapidamente que não há tempo para aquele fenômeno se manifestar⁽⁴⁴⁾.

As bactérias dos gêneros *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Flavobacterium* desenvolvem-se a temperaturas baixas, sendo portanto capazes de produzir proteólise em leite mantido à temperatura de refrigeração. Com exceção, porém, do gênero *Micrococcus*, nenhuma é termodúrica e, portanto, não devem estar presentes no leite pasteurizado⁽⁴⁴⁾.

8.4. Leite Viscoso

Tanto o leite como o creme e o soro podem adquirir um aspecto filamentoso. Este fenômeno é produzido por bactérias capsuladas e é devido ao material capsular composto de gomas e mucina⁽⁴⁴⁾.

Há 2 tipos fundamentais de viscosidade de origem bacteriana: (a) um em que o fenômeno se manifesta fundamentalmente na parte superior e é causado pelo crescimento de *Alcaligenes viscolactis*, que é um microrganismo procedente do solo e da H₂O e cresce facilmente a 10°C; (b) viscosidade generalizada que pode ser produzida por várias espécies de bactérias: *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Enterobacter aerogenes*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*⁽⁴⁴⁾.

Uma pasteurização adequada destrói rapidamente a maioria destas espécies bacterianas.

8.5. Alterações de Coloração

A cor do leite e do creme pode ser alterada dependendo de vários fatores, tais como a alimentação do animal, cor da gordura, etc. Entretanto, microrganismos podem alterar a cor do leite, ao mesmo tempo que produzem outras alterações.

A cor do leite pode ser alterada devido a multiplicação de bactérias ou fungos pigmentados e o produto pode apresentar um véu ou anel corado na superfície ou pode se mostrar todo corado(16,44).

Leite azul: alteração causada pelo *Pseudomonas synchyanea*. Esta bactéria pode produzir cor que oscila do cinza azulado ao pardo. Se crescer junto com o *Streptococcus lactis*, produz-se cor azul escura. Espécies de *Geotrichum* (bolor) também conferem coloração azul ao leite(16,44).

Leite amarelo: devido a bacilos como o *Pseudomonas synxantha* ou espécies de *Flavobacterium*, que coram o leite ou creme. Paralelamente à pigmentação ocorre proteólise e lipose(16,44).

Leite vermelho: o leite pode tomar coloração avermelhada pelo desenvolvimento de *Serratia marcescens*. Esta cor raramente aparece, pois outras bactérias existentes no leite impedem a multiplicação de bactérias produtoras de pigmento vermelho(16,44).

Outros microrganismos como *Brevibacterium erythrogenes*, *Micrococcus roseus* e *Torula glutinis* produzem cor vermelha na superfície ou no sedimento, colônias vermelhas ou róseas na superfície do leite e cremes ácidos(16,44).

Leite pardo: pode proceder da oxidação da tirosina pelo *Pseudomonas fluorescens*(16,44).

8.6. Alterações da gordura do leite

A gordura do leite pode apresentar-se alterada devido à ação de bactérias, levedos e bolores. Quando por bactérias, é devida a germes aeróbios ou facultativamente anaeróbios. As alterações podem ser devidas à oxidação de ácidos graxos não saturados, produzindo-se aldeídos e cetonas, ocasionando um odor azedo; hidrólise de ácidos graxos e rancificação(16,44).

Estas alterações na gordura ocorrem graças à ação de bactérias lipolíticas produtoras de lipases. Neste grupo, encontramos: *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, muitos bolores e algumas leveduras(16,44).

8.7. Produção de alcali

As bactérias que produzem estas alterações podem ser bactérias psicrófilas ou mesófilas e muitas delas são termodúricas. Entre as formadoras de alcalis temos: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas tripolii*, *Alcaligenes faecalis*, *Alcaligenes viscolactis viscosus* e *Micrococcus ureae*(16,44).

9. ANÁLISE FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE

As fêmeas de todos os mamíferos segregam leite para alimentar os seus filhos recém-nascidos. Todo leite se compõe de água e de vários elementos nutritivos necessários à prole, como sejam gordura, proteína, carboidrato e vitaminas, mas a proporção desses elementos varia no leite das diferentes espécies de animais^(7,12,16,18,23,26,34,40,44,50,55,58,64,65,74).

Ao descrever a composição do leite de vaca, os demais componentes além da água são denominados, de uma forma geral, sólidos do leite. Os sólidos são frequentemente classificados em dois grupos: gorduras e sólidos não gordurosos.

A porcentagem destes últimos sólidos é ordinariamente determinada medindo-se a densidade do leite com o termolacto densímetro em condições padronizadas e determina-se a porcentagem da gordura pela prova de Babcock ou por outro método apropriado^(7,12,16,18,44).

Em geral, só se considera a gordura como fator determinante do valor do leite de vaca para fins comerciais, ou como índice da capacidade produtiva da vaca. Mas, para fixar as normas legais e instituir a regulamentação da venda do leite no mercado, toma-se em consideração, além do teor de gordura, o de sólidos não gordurosos, e as autoridades fiscalizadoras se baseiam frequentemente nesta classificação para analisar o leite e encontrar adulterações ou alterações na composição^(7,12,26,28,44,50,55).

As normas legais indicam que o leite de vaca em geral, deve conter não menos de 3,00 ou 3,25 por cento de gordura e não menos de 8,00 por cento de sólidos não gordurosos (7,12,24,34,44,50,55,58,64,74).

O leite é uma emulsão de glóbulos graxos, estabilizada por substâncias albuminóides num soro que contém em solução: açúcar (a lactose), matérias protéicas, sais minerais e orgânicos e pequena quantidade de vários produtos, tais como lecitina, uréia, aminoácidos, ácido cítrico, ácido láctico, ácido acético, álcool, lactocromo, vitaminas, enzimas, etc. (7,12,24,34,44,50,55,58,64,74).

9.1. Componentes principais do leite

A média dos principais componentes do leite de diferentes raças, segundo Fleischmann, é a seguinte:

Água	87,5%	(875 por mil)
Matéria gorda	3,6%	
Caseína	3,0%	
Albumina	0,6%	
Lactose (açúcar)	4,6%	
Sais minerais (cinzas) ..	0,7%	100%

A matéria seca total, que compreende todos os elementos do leite, menos a água, tem em média - 12,5%.

A matéria seca desengordurada, que compreende todos os elementos do leite menos a água e a matéria gorda, tem em média 8,9%.

A matéria azotada, na qual está compreendida a caseína e a albumina, 3,6%(7,12,16,74).

9.2. Considerações sobre os componentes principais do leite

Consideremos isoladamente os componentes principais do leite quanto as suas características mais notáveis⁽⁷⁾:

- (1) A água constitui, em volume, o principal componente do leite. Entra em média na percentagem de 87,5%, influenciando sensivelmente na densidade do leite. Como causa da variação da percentagem de água na composição do leite, salientam-se os seguintes fatores: a raça do gado e o tempo de lactação. No fim da lactação o leite é muito mais concentrado que no começo.
- (2) A matéria gorda do leite é formada de glóbulos de diversos tamanhos, que se encontram em suspensão no líquido, dando-lhe aspecto emulsivo e opaco. Estes glóbulos são perfeitamente visíveis ao microscópio^(7,12,16).

A matéria gorda tem o peso específico de 0,93 a 15°C, funde-se a 33°C e solidifica-se entre 20 a 25°C de temperatura. Por ser menos densa, a matéria gorda flutua

quando o leite está em repouso, constituindo em grande parte o que se chama nata-creme^(7,12,16).

A matéria gorda é formada dos seguintes ácidos: butírico, capróico, caprílico, láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oléico e didroxiesteárico. A matéria gorda pode ser separada por centrifugação ou por decantação. Com os choques produzidos pela agitação lenta do creme nas "batedeiras", forma-se a manteiga e soro (leitelho).

A matéria gorda é o elemento mais variável do leite; sua variação vai de 1,5 a 7,0%, sendo em média para o leite de diversas procedências de 3,5%. É a matéria gorda o elemento de maior valor do leite^(7,12,16).

- (3) A caseína forma uma solução coloidal, constituindo ela a maior parte da matéria azotada do leite. A densidade da caseína é de 1,486 a 15°C e, em média, encontrada na proporção de 3% no leite. Obtém-se a caseína, quer pela precipitação natural (fermentação) ou com o auxílio de coalhos e ácidos. A caseína é o principal componente dos queijos e das coalhadas^(7,12,16).

- (4) A albumina, também chamada lacto-albumina, é inteiramente solúvel na água, não se coagula pelo coalho, mas sim pelos ácidos e pelo calor. A albumina é a película que se forma no leite logo após o seu cozimento, ou ainda, é ela a espuma que se observa quando se está fervendo ou desnatando o leite. Obtém-se, do soro da fabricação do queijo, a ricota, pela precipitação da albumina do soro,

por meio de acidificação coadjuvado pelo aquecimento^(7,12,16).

(5) A lactose, ou açúcar do leite, pertence ao grupo dos sacarídeos. A lactose é encontrada no leite de todos os mamíferos; no leite de vaca, acha-se ela na percentagem de 4,6%. A transformação da lactose em ácido láctico causa a precipitação da caseína e, portanto, a coagulação do leite^(7,12,16).

(6) Os sais entram em pequena percentagem (0,7%) na composição do leite⁽⁴⁾ e destes os cloretos na quantidade de no máximo 0,17g/100 ml.

9.1.3. O colostro

Os corpúsculos de colostro, ou de Donné, são elementos esféricos, volumosos, constituídos por granulações de volume variável de gordura no citoplasma e com um núcleo único; estes elementos aparecem juntos com leucócitos e células epiteliais, logo após a parição. É um leite amarelo-pardo, de aspecto sujo, mucoso, de consistência heterogênea. Tem odor peculiar, sabor rançoso e geralmente fraca reação ácida. Coagula-se por ebulição e pela prova de álcool; dá alto índice de catalase^(7,16,).

A composição do colostro modifica-se rapidamente como demonstram as análises seguintes, praticadas por Englig⁽⁷⁾:

Tempo após aparição	Densidade a 15°C	Matéria seca %	Matéria gorda %	Caseína %	Albumina %	Lactose %
Após (*)	1,068	26,93	3,54	2,65	16,56	3,00
24 horas..	1,043	19,37	4,75	4,50	6,25	2,85
72 horas..	1,035	13,36	4,08	3,33	1,03	4,10

Fonte: Citado por BHEMER, M.L.A.⁽⁷⁾

(*) Imediatamente após o nascimento do bezerro.

9.4. A composição do leite de animais não bovinos

O leite da mulher não se coagula pela ação do coalho, apresenta-se mais fluído e contém mais açúcar e menos albuminóides que o da vaca^(7,16).

O leite de égua é mais doce do que o de vaca porém contém menos albuminóides e se destaca dos demais por sua pequena percentagem em matéria gorda^(7,16).

Conforme quadro da Enciclopédia Química de Thorpe, é a seguinte a composição do leite de animais não bovinos:

	Densidade a 15°C	Água %	Albumi- nóide	Matéria Gorda	Lactose %	Matéria Seca	Sais %
Mulher	1,031,5	87,70	1,90	4,50	5,30	13,30	0,18
Cabra	1,032,3	87,60	3,70	4,20	4,00	12,40	0,56
Égua	1,031,0	89,00	2,70	2,50	5,50	11,00	0,50
Ovelha	1,038,5	88,17	6,52	6,86	5,23	11,83	0,98
Jumenta	1,033,0	90,70	1,70	1,55	5,80	9,30	0,50

Fonte: Behmer, M.L.A. (7)

9.5. Principais Análises do Leite

Para conhecermos a composição de um produto e avaliarmos o seu valor intrínseco, precisamos proceder a determinadas dosagens de seus principais elementos.

Não podemos julgar um produto, como o leite, quanto ao seu valor total, riqueza de matéria gorda, estado de conservação ou presumível fraude, sem a ajuda preciosa de determinadas dosagens analíticas.

No capítulo "Material e Métodos" apresentamos as práticas indicadas para determinar os elementos principais e para pesquisar as fraudes no leite^(7,11,12) e no ANEXO 1, apresentamos às técnicas indicadas para a realização da pesquisa que satisfaz as imposições legais sobre o leite.

10. OBJETIVOS

O leite, por suas qualidades nutritivas e seu grande consumo, pode se tornar um veículo de disseminação de germes patogênicos para o homem caso seja consumido nas condições naturais, sem fervura ou pasteurização. O risco será tanto maior, quanto menores forem os cuidados higiênicos na produção, transporte e comercialização do leite cru.

10.1. Objetivos Gerais:

Identificar - as distorções de ordem higiênico-sanitárias existentes na produção, transporte e comercialização do leite nos municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba.

Propor - soluções viáveis para que o leite existente e produzido naquela área possa ser consumido com segurança pela população local, principalmente pelas crianças.

Desenvolver - atividades de entrosamento com autoridades responsáveis pelo fomento e produção de alimentos, entidades oficiais que respondam pela fiscalização dos produtos alimentícios. Contatos com autoridades constituídas da Prefeitura, Estado e União, visando conseguir apoio ao serviço e também efetuando a implantação de campanhas educativas sanitárias para a população em geral.

10.2. Objetivos específicos

- (a) Pesquisar a presença de microrganismos no leite cru, através de determinações quantitativas de bactérias mesófilas, psicrótróficas, termófilas, coliformes totais e fecais, pesquisa de bactérias do gênero Salmonella e de contagem de Staphylococcus aureus.
- (b) Determinar a frequência da ocorrência dessas bactérias, no leite cru.
- (c) Apontar as diferenças existentes entre os dados bacteriológicos obtidos.
- (d) Comparar as características físicas e químicas dessas amostras de leite, frente a legislação sanitária em vigor.
- (e) Examinar clinicamente todos os animais produtores de leite cru, do experimento.
- (f) Utilizar a prova do C.M.T. como índice de transtornos individuais dos quartos da glândula mamária não perceptíveis clinicamente.
- (g) Realizar prova sorológica para diagnóstico da brucelose.
- (h) Realizar tuberculinização dos animais produtores de leite
- (i) Utilizar todas essas informações para atingir os objetivos gerais propostos.

11. MATERIAL E MÉTODO

11.1. Obtenção das Amostras

As amostras são compostas pelo leite de vacas ordenhadas no estábulo, pela correspondente amostra do leite envasado e distribuído para venda e vendido nos estabelecimentos comerciais e nos domicílios.

11.1.1. Escolha e coleta das amostras

A primeira atitude foi visitar a área a ser trabalhada, percorrendo as propriedades rurais que produzem leite, isto é, que possuem gado de leite, fazem a ordenha e vendem o leite para consumo público.

Essas propriedades tinham produção regular e eram tradicionais na região.

Na região urbana, foram visitados os estabelecimentos comerciais que vendem leite cru, sendo a intenção levantar, apenas, aqueles que possuíam uma clientela fixa.

Nas propriedades rurais e estabelecimentos comerciais foram feitas avaliações das condições sanitárias existentes.

Cada produtor de leite forneceu 5 (cinco) porções amostrais para o experimento; 1(uma) porção é igual a 1 e 1/2 litros de leite, sendo 1/2 litro para a área de bacteriologia e 1 litro para a área físico-química. Essas porções foram estipuladas pelas unidades que realizaram os exames físico-químicos e os bacteriológicos, fundamentadas na quantidade de provas que foram realizadas.

Nos estabelecimentos comerciais, o critério de colheita foi o mesmo, 5 (cinco) amostras de leite cru, que deram informações do universo da mercadoria recebida.

Toda amostra colhida foi envasada em frascos com rolhas, previamente esterilizados, colocados em caixa de material isotérmico (isopor) contendo gelo e rapidamente era levada aos laboratórios do Instituto de Ciências Biomédicas da USP e o do Parque "Fernando Costa" (Secretaria da Agricultura e Abastecimento). "PAICAL"

11.1.2. Exames Físicos e Químicos

Só podemos julgar um produto como o leite, quanto ao seu valor total, (porcentagem de matéria gorda, estado de conservação ou presumível fraude) com a ajuda preciosa de determinadas técnicas analíticas⁽⁷⁾.

Daremos a seguir a seqüência dos itens da pesquisa na área físico-química que foram realizadas neste trabalho.

Densidade: é a relação entre gravidade-específica e sólidos totais do leite.

A densidade média do leite a 15°C é de 1.032, podendo variar de 1.027 a 1.035. A densidade diminui com a elevação da temperatura. A densidade do leite tem o valor mais baixo uma hora depois da ordenha. O aparelho que mede a densidade do leite é o termolacto densímetro^(7,16,23).

Gordura: conhecemos a qualidade do leite através da riqueza em matéria gorda, pois é o componente de maior valor comercial. A quantidade de lipídios no leite varia de 3 a 4,5%. A gordura é determinada no leite por diversos processos, sendo mais utilizado o "ácido-butirometro de Gerber"^(7,12,16).

Extrato seco total: é o conjunto de todos os componentes do leite, com exceção da água. A porcentagem de matéria seca é indispensável para se julgar da integridade de um leite. Em um leite normal deve haver um mínimo de 11,41% de matéria seca e 8,25% de matéria seca desengordurada^(7,12).

Acidez: o leite ao sair do ubere é ligeiramente ácido. Sua acidez normal está compreendida entre 16 a 20° DORNIC ou seja, 1,60 a 2,00g de ácido láctico por litro. O aumento da acidez é proveniente do desdobramento da lactose, provocada pelos fermentos lacticos e pelos microorganismos que se multiplicam no leite. A acidez inicial do leite é devida a presença de fosfatos inorgânicos e a seguir é devida ao ácido lactico produzido pela ação dos microrganismos sobre a lactose^(7,12,16).

Fatores que influem, modificando o pH do leite:

- a perda de CO_2 depois da ordenha;
- o estado do ubere da vaca (mastites)
- o desenvolvimento de microrganismos (flora acidificante);
- temperaturas baixas, etc.

O leite fresco comum e normal, tem pH 6,5 a 6,8 ou 16° a 20° Dornic(7,12,16).

Peroxidase: é a enzima que tem a propriedade de desdobrar a água oxigenada, dando oxigênio nascente e água. Essa enzima se origina nos leucócitos que estão presentes mesmo em leites normais. Essa enzima é destruída quando o leite é aquecido a 70° ou 80°C , variando com o tempo.

A peroxidase é indicadora da temperatura que o leite foi submetido, ela está presente em leites que foram pasteurizados com técnica apropriadas(7,12,16).

Fosfatase: é uma enzima termo-sensível, que está sempre presente no leite cru. A destruição da fosfatase pelo calor está em relação com a temperatura e o tempo de aquecimento(7,12,16). Essa propriedade da fosfatase é aproveitada para avaliar a pasteurização.

Sais: o total de sais no leite varia de 0,69 a 0,77%. A composição dos sais no leite é semelhante à dos sais do embrião(feto) da espécie de que provem o leite, com excessão do ferro que se acham em menor proporção(7,12,16).

Nesta tese a pesquisa de sais deu lugar à pesquisa de "cloretos" apenas. O máximo permitido de cloretos é de

0,17g por 100/ml.

As técnicas de exames físicos e químicos estão relacionadas e descritas no ANEXO 1.

11.1.3. Exames Bacteriológicos

Os exames bacteriológicos do leite líquido foi realizado segundo técnicas recomendadas pela American Public Health Association - Standard Methods for Examination of Dairy Products - 1984⁽³⁾ e pela International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) - 1978⁽³⁵⁾.

O exame bacteriológico foi realizado através das seguintes determinações: contagem de bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas mesófilas, psicotróficas, termófilas, determinação do Número Mais Provável (NMP), de bactérias coliformes e coliformes fecais; contagem, isolamento e identificação de *Staphylococcus aureus*, bem como a pesquisa de bactérias do gênero *Salmonella*.

As técnicas de pesquisa bacteriológicas estão descritas no ANEXO 1.

12. A ESCOLHA DA ÁREA DE PESQUISA

A escolha dos Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba, na região Metropolitana de São Paulo (Mapa 1), deve-se ao "Projeto Itapecerica" financiado pela Organização Kellogg: A Profa. Dra. Lourdes de Freitas Carvalho, Coordenador Geral do Projeto, gentilmente financiou parte desta pesquisa, por reconhecer a importância que ela teria na área de Saúde Pública e também porque era o único projeto de pesquisa que envolvia alimento de origem animal, portanto atividade de Saúde Pública Veterinária.

Outra causa da escolha da área de trabalho foi a manifestação da Diretoria da ERS-12 ou SUS-12, com sede em Itapecerica da Serra, São Paulo.

Os motivos alegados foram vários, mas os principais foram as informações recebidas através dos Inspectores de Saneamento, que havia comercialização de leite cru e que não havia vigilância sanitária para os locais de produção de leite, que na área de competência da ERS-12 não havia uma só usina de beneficiamento de leite.

A Diretoria da Unidade de Saúde, designou o Dr. José Mazelli, Supervisor Sanitário para nos fornecer as listas com endereço e nome dos proprietários dos sítios que produzem leite e o vendem para o consumo na área urbana.

Havia informações da Unidade de Saúde de Itapecerica da Serra (ERSA-12) que os pequenos e médios produtores de leite da região estavam comercializando leite cru com as famílias da periferia da cidade, porque havia pouco leite pasteurizado e comercializado na cidade.

Os objetivos gerais desse trabalho dizem respeito à sanidade dos animais produtores de leite, do produto (leite) a sua manipulação (ordenha, transporte e distribuição) e ao consumo pela população.

Há vários anos que essa região da grande São Paulo se ressentia da falta de atenção das autoridades sanitárias da União e do Estado, por isso que a agropecuária está relegada ao ostracismo.

Essa região segundo informações da Secretaria da Agricultura de São Paulo, dispõe de um número razoável de bovinos de leite (60.000 cabeças), igual número de gado de corte, aproximadamente 200.000 cabeças de suínos, seguramente 500.000 aves de corte(*).

* Programa Integrado de Pesquisa - Governo do Estado de São Paulo, Secretaria da Agricultura e Abastecimento - São Paulo - 1985 - PIPq - Gado de Leite - São Paulo p. 1-19, 1985)

12.1 Identificação da Área Geográfica - Itapecerica da Serra

12.1.1. Evolução histórica da cidade

A atual localidade de Itapecerica da Serra, teve suas origens num aldeamento indígena e foi fundada a 3 de setembro de 1562, pelos padres da Companhia de Jesus e foi administrada espiritualmente pelo Padre Belchior de Pontes.

Esse núcleo da população indígena foi consideravelmente aumentado com a maior parte dos indígenas que habitavam a aldeia de Carapicuíba, para onde foram trazidos por Afonso Sardinha e doutrinados pelo Padre Belchior de Pontes.

Em 1827, a população se via aumentada pela mudança radical na colonização da região com a imigração alemã custeada pelo governo brasileiro, transformando-se o aldeamento de índios em Colônia. A partir dessa época foram implantados os primeiros marcos para o desenvolvimento da região. Em 8 de maio de 1877, a Lei Provincial de número 3 elevou-a à categoria de Vila, e à 19 de dezembro de 1906, através da Lei Estadual nº 1038, foi elevada à categoria de cidade.

Com o crescente progresso e a descaracterização de zona tipicamente rural para zona urbana, a população de Itapecerica passou a sofrer a influência das migrações internas com a chegada às suas terras de indivíduos

provenientes de vários Estados do Brasil, principalmente do nordeste.

Como Itapecerica está construída sobre pedras, denominaram-na com esse nome derivado de Tupi-Guarani, que etimologicamente, na língua portuguesa quer dizer "Pedra Escorregadia" (ITA = PEDRA, PICIRICA = LISA ou ESCORREGADIA). O acréscimo de "Serra", originou-se devido à localização do município, cuja cidade fica a 920 metros de altitude.

Apresenta assim Itapecerica, topografia bastante acidentada, constituindo-se de colinas de formas arredondadas que se sucedem, inicialmente cobertas por vegetação típica da Mata Atlântica (MAPA 2).

12.1.2. Características sócio-econômico-culturais

A economia do município de Itapecerica da Serra já foi baseada na extração e beneficiamento de madeira e na produção de carvão vegetal, se situando atualmente, na área horti-fruti-granjeira e no desenvolvimento do seu parque industrial que já conta hoje com 40 indústrias.

Quase 50 empresas formam o setor agropecuário da região, o comércio varejista é composto de aproximadamente 100 estabelecimentos e cerca de 100 escritórios que compõem o setor de prestação de serviços, sendo a maioria deles do setor imobiliário.

Os efeitos resultantes das imigrações se fizeram sentir, notadamente os da colônia alemã, que podem ser

observados na parte educacional, nos costumes e nos usos.

Os dados estatísticos referentes à população na primeira metade do século XX são um tanto contraditórios, embora sirvam para demonstrar a modéstia do crescimento demográfico em 1900, 10.480 habitantes; em 1920, 11.830 habitantes; em 1934, 12.615 habitantes e em 1940, 14.304 habitantes.

Já o recenseamento de 1950 registrou uma admirável alteração que espelha perfeitamente a transformação sofrida pela paisagem regional. A população recenseada em Itapecerica e seus antigos Distritos foi a seguinte: Itapecerica (sede), 8.245 habitantes; Embú, 4.028 habitantes; Juquitiba, 5.836 habitantes; Embú-Guaçú, 3815 habitantes e Taboão da Serra, 5.886 habitantes, num total de 27.810 recenseados.

Vinte e cinco anos depois, no recenseamento realizado no Brasil, em 1975, esses mesmos distritos já se apresentam emancipados, cada um formando seu próprio município com a seguinte população: Itapecerica da Serra, 35.000 habitantes; área de 342 Km quadrados, densidade, 102,34 hab/Km²; Embu 45.000 habitantes, área de 76 Km quadrados, densidade, 592,11 hab/Km²; Embu-Guaçu, 13.000 habitantes, área de 200 Km quadrados, densidade 65 hab/Km²; Juquitiba, 8.000 habitantes, área de 569 Km quadrados, densidade 14,06 hab/Km²; Taboão da Serra, 75.000 habitantes, área de 23 Km quadrados, densidade de 3.260,86 hab/Km².

O clima da região é úmido. A média de temperatura anual oscila entre 17 e 18 graus e o total de chuvas durante

o verão varia entre 1.300 e 1.500 mm. De novembro a março, caem de 5 a 80% das chuvas anuais enquanto o total é inferior a 15%.

Atualmente o único distrito de Itapecerica é São Lourenço da Serra e os limites do município são: Embú e São Paulo ao norte, Juquitiba ao sul, Embu-Guaçu a leste e Ibiúna e Cotia a oeste.

Os principais rios da região são: Juquiá, São Lourenço e Laranjeiras. O ponto mais elevado está no Morro do Chapéu, com 1.200 metros de altura. A vegetação é composta de madeiras de lei, das quais as mais encontradas são as Canelas, de diversas qualidades, o Gumaxava, Guatambu, Aracapiranga, Macaranova, Passuaré, Jacarandá, etc.

Localizada em um planalto em região bastante acidentada, circundada por um majestoso rendilhado de montanhas, distante do marco "0" geográfico da Praça da Sé, Capital, apenas 34 Km e o seu acesso pode ser por Santo Amaro ou pela Rodovia Régis Bitencourt - BR-116, duas ótimas rodovias, margeadas por lindas paisagens, que por si só proporciona um agradável passeio.

Contribuindo para o progresso da região - mais recentemente -, foram os efeitos de imigração japonesa com a dedicação dos mesmos, aos trabalhos na agricultura.

Pelo demonstrativo seguinte, através de dados numéricos, outras informações são prestadas sobre diversos aspectos do município.

ITAPECERICA DA SERRA

ESPECIFICAÇÃO	DADOS NUMÉRICOS
Aspectos Físicos	
Posição geográfica da sede municipal	
latitude.....	23°43'
longitude.....	46°51'
altitude da sede municipal (m)	920
área (km ²)	342
Aspectos Demográficos	
População residente (censo de 1980)	
no município.....	60.716
na sede municipal.....	57.482
densidade demográfica(hab/km ²)	177,53

Características do trabalho realizado em Itapeccerica da
Serra

Preliminarmente, fizemos levantamento das propriedades rurais que tem como uma das atividades a comercialização do leite "in natura".

Numerosas propriedades foram percorridas, mas nos fixamos em sete sítios que produzem e comercializam em média 120 litros/dia de leite. A comercialização se faz de duas maneiras:

- a) distribuição às residências;
- b) venda na propriedade.

Na região encontramos outras propriedades que tem bovinos produtores de leite, não produzindo quantidade suficiente de leite que permita vender, pois o pouco que é retirado se destina somente ao consumo interno na propriedade.

A cidade possui diversos estabelecimentos comerciais, como padarias, bares e lanchonetes, mas que não comercializam o leite "in natura", só leite processado tipo C (pasteurizado) distribuído pela Companhia Paulista e o leite B que é distribuído pelas Companhias Lagoa Bonita e Flor da Nata, em quantidade insuficiente.

A relação que segue se refere às propriedades que produzem e comercializam o leite cru:

1. Sítio São João
2. Sítio das Palmeiras
3. Chácara 3 Meninas
4. Convento Ma. Imaculada
5. Granja Busher
6. Sítio "Claudio Klomber"
7. Frigorífico Eder

As propriedades visitadas, mas que não preenchiam as condições mínimas necessárias para o nosso trabalho, estão relacionadas a seguir:

1. Sítio dos Patos
2. Sítio do Bentinho
3. Sítio Santo Izidoro
4. Sítio do Albertinho
5. Sítio Sr. Jodoque Rosa
6. Sítio Villares
7. Sítio Sr. Ubiraci Cantatori
8. Sítio Jota-Jota
9. Sítio Sr. Leodegar Hofottertrs
10. Sítio Kinil
11. Sítio Kelet Ladslaw
12. Sítio Roberto Galvão
13. Sítio Ilídio Pereira Martins
14. Granja Oasis Palmeiras
15. Sítio Rinethe Weishanpt

Em Itapecerica iniciamos com os exames clínicos e de sanidade dos animais produtores de leite. Fizemos a coleta de amostras de sangue e leite, para a realização de exames de brucelose e mamite respectivamente. As amostras de leite coletadas foram submetidas à prova "Califórnia Mastitis Test" (CMT) que permite o exame de 4 quartos de um úbere.

As mamites ou mastites são os processos inflamatórios agudos ou crônicos das glândulas mamárias.

Caracterizam-se por alterações patológicas do tecido glandular provocando aumento significativo do conteúdo de leucócitos do leite e ainda provocando alterações físico-químicas e freqüentemente bacteriológicas no mesmo.

As mastites provocam também grandes perdas econômicas pois:

- o leite produzido é impróprio para o consumo humano e impróprio para a fabricação de produtos derivados;
- ocorre diminuição da produção de leite no rebanho;
- nos casos crônicos pode haver a perda dos quartos afetados ou mesmo de todo o úbere e o animal é enviado prematuramente para o abate.

A interpretação dos resultados do CMT é feita seguindo as indicações da empresa que produz o antígeno.

DETERMINAÇÃO	DIAGNÓSTICO
Negativo (-)	Não há sinal de infecção
Positivo (+)	Mastite
Positivo (+ +)	Mastite
Positivo (+ + +)	Mastite

* ver características dadas pela Empresa FATEC no ANEXO 4

As Tabelas seguintes demonstram os resultados obtidos nas diferentes propriedades visitadas:

TABELA 1 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 54 QUARTOS DE MAMAS DE 14 VACAS DO SÍTIO SÃO JOÃO, ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	8	14,8
+	13	24,1
++	18	33,3
+++	15	27,8
T O T A L	54	100,0

TABELA 2 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 44 QUARTOS DE MAMAS DE 11 VACAS DO SÍTIO DAS PALMEIRAS, ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQUÊNCIA	PERCENTAGEM
-	3	6,8
+	23	52,3
++	17	38,6
+++	1	2,3
T O T A L	44	100,0

TABELA 3 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 75 QUARTOS DE MAMAS DE 19 VACAS DA CHÁCARA TRÊS MENINAS, ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQUÊNCIA	PERCENTAGEM
-	40	55,3
+	26	34,7
++	9	12,0
+++	0	0
T O T A L	75	100,0

TABELA 4 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 36 QUARTOS DAS MAMAS DE 9 VACAS DO CONVENTO MARIA IMACULADA, ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	11	30,6
+	21	58,3
++	3	8,3
+++	1	2,8
T O T A L	36	100,0

TABELA 5 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 11 QUARTOS DAS MAMAS DE 3 VACAS DA GRANJA BUSHER, ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	8	72,7
+	2	18,2
++	1	9,1
+++	0	0
T O T A L	11	100,0

TABELA 6 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 59 QUARTOS DAS MAMAS DE 15 VACAS DO SÍTIO "CLAUDIO KLOMBER", ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	20	33,9
+	11	18,6
++	24	40,7
+++	4	6,8
T O T A L	59	100,0

TABELA 7 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 40 QUARTOS DAS MAMAS DE 10 VACAS DO FRIGORÍFICO ÉDER, ITAPECERICA DA SERRA, 1992.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	21	52,5
+	9	22,5
++	10	25,0
+++	0	0
T O T A L	40	100,0

Verificamos que nestas propriedades é alta a taxa de mastites. Isto está ocorrendo porque muitas vezes:

- a alimentação é deficiente para os animais;
- são precárias as condições de estabulação e higiene;
- a ordenha é realizada com falta de limpeza e higienização do úbere, bem como das mãos do ordenhador. São utilizados panos sujos e ocorre pressão inadequada sobre as tetas provocando ordenha incompleta favorecendo a instalação de mastite subclínica.

Com esses resultados, a outra fase será orientar os proprietários e o pessoal responsável pelo manejo dos animais com um programa sanitário visando:

- medidas higiênicas na ordenha;
- manejo correto dos animais;
- melhoria das condições de estabulação;
- vigilância sanitária;
- educação sanitária;

Com as amostras de sangue foram realizadas as provas para detecção de Brucelose.

A Brucelose é uma doença infecto contagiosa produzida pela *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*, *B. ovis* e *B. canis* constituindo-se em uma zoonose e provocando grandes perdas econômicas.

Na espécie bovina, a susceptibilidade à infecção por *Brucella*, só ocorre após o animal ter atingido a maturidade sexual.

As provas utilizadas para o diagnóstico de brucelose foram: Soroaglutinação Rápida em Placa ou "Prova de Huddleson" e Prova de Antígeno bengala ou "Card Test".

Abaixo estão os resultados obtidos nas diversas propriedades:

1. Sítio São João:

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 0%
- Resultados negativos - 100%

2. Sítio das Palmeiras:

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 18,1%
- Resultados negativos - 81,9%

3. Sítio 3 Meninas:

- Resultados positivos - 15,8%
- Resultados suspeitos - 5,2%
- Resultados negativos - 78,9%

4. Convento Maria Imaculada:

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 10%
- Resultados negativos - 90%

5. Granja Busher:

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 0%
- Resultados negativos - 100%

6. Sítio "Claudio Klomber":

- Resultados positivos - 5,88%
- Resultados suspeitos - 11,76%
- Resultados negativos - 82,36%

7. Frigorífico Eder:

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 0%
- Resultados negativos - 100%

Dados consolidados do exame de brucelose

PROPRIEDADE	1	2	3	4	5	6	7	%
Positivos	0	0	15,8	0	0	5,88	0	3,1
Suspeitos	0	18,1	5,2	10	0	11,76	0	6,5
Negativos	100	81,9	78,9	90	100	82,35	100	90,4
								100,0

Verificamos com estes resultados, que é baixa a porcentagem de animais com brucelose. Assim orientamos os proprietários para que abatem imediatamente estes animais. Em relação aos animais cujos resultados foram suspeitos vamos repetir o exame e orientar que estes sejam isolados do rebanho.

12.2 Identificação da Área Geográfica - Juquitiba

12.2.1. Evolução histórica da cidade

Até 1887, a região onde hoje está Juquitiba era conhecida como Bairro de São Lourenço e pertencia à Freguesia de Itapecerica da Serra, à qual se ligava por um precário caminho de terra, só percorrido pelos tropeiros e seus burros de carga. Naquele ano, um grande proprietário local, Manoel Jesuino Godinho, incentivado pela religiosidade de sua mulher, Francisca Maria da Penha, resolveu construir uma capela dedicada a Nossa Senhora das Dores, em torno da qual pretendia que se formasse uma comunidade.

A partir de 1º de novembro de 1887, a localidade ganhou a denominação de Capela Nova da Bela Vista de Juquiá e a manteve até 27 de dezembro de 1907, quando a Lei nº 1117 oficializou o nome de Juquitiba, ou seja, "Terra de Muitas Águas", em Tupi-Guarani.

A emancipação político-administrativa de Juquitiba é relativamente recente, pois só foi desmembrada de Itapecerica da Serra em 28 de fevereiro de 1964, por força da lei nº 8092 do Estado de São Paulo.

A partir dessa época, Juquitiba vem acelerando seu desenvolvimento e no presente conta com uma população de 20 mil habitantes, dos quais 14 mil, residem na zona urbana e 6 mil, na zona rural.

A cidade de Juquitiba, sede do município é Comarca de Itapecerica da Serra, está situada à margem do Km 71, da Rodovia Régis Bitencourt, BR-116, que liga a Capital de São Paulo à Curitiba. O centro da cidade está situado à altitude aproximada de 700 metros acima do nível do mar. Juquitiba é a última cidade do planalto, na direção de Curitiba e encontra-se nos limites da Serra de Paranapiacaba (Mapa 2).

O município é caracterizado pelo seu aspecto montanhoso, e está ainda coberto por apreciável porcentagem de matas, muito embora vultuosas quantidades de madeiras de lei para a fabricação de carvão vegetal, já tinham sido extraídas. A água é extremamente abundante, há numerosos córregos, ribeirões e rios, sendo os mais notáveis, os rios São Lourenço e Juquiá.

Pelo atrativo de sua situação privilegiada, do clima excelente de que desfruta, pela abundância de água existente, o município de Juquitiba, já se tornou uma região de turismo e para repouso e lazer de fim-de-semana, onde existem pequenas propriedades rurais de exploração mista, agricultura e pecuária.

O reflorestamento da região trará consigo a indústria, anexa ao beneficiamento local da madeira obtida, trazendo prosperidade para a região.

12.2.2. Características sócio-econômico-culturais

A economia do município de Juquitiba foi baseada na extração e beneficiamento da madeira e na produção de carvão vegetal e hoje ela se situa na produção de horti-fruti-granjeira e mais a produção de leite para consumo da cidade e dos próprios pecuaristas, cuja produção é pequena, mas constante.

Juquitiba possui Cartório de Registro Civil, Delegacia de Polícia, água potável (SABESP), coleta de lixo, energia elétrica (ELETROPAULO), agências de Correios, sistema telefônico, funerária, Hospital Municipal, ligado ao SUS, com 5 unidades de saúde, farmácias, consultórios odontológicos e rede bancária.

Há na cidade de Juquitiba, uma bem montada Biblioteca Municipal, um Jornal "O Imperial", loja maçônica "Progresso de Juquitiba e as Sociedades Amigos de Bairros.

Há também igrejas evangélicas e o principal centro religioso é a Paróquia de Nossa Senhora das Dores, a continuação da Capela construída pelo fundador da cidade.

As divisas do Distrito: a oeste, o município se limita com Ibiúna, pelos rios Juquiá e Laranjeiras; a nordeste e sudeste, com o Distrito de Itapecerica da Serra, separada pelo Rio Laranjeiras, Ribeirão do Amparo Roque, Ribeirão da Varginha e pelo Espigão do Juquiá, Ribeirão do Campo, onde se encontra a Serra do Mar; ao sul, com a Serra do Mar; ao sudeste, com a divisa do Rio São Lourencinho, no

então município de Iguape e pela margem direita do Ribeirão do Engano até a Foz do Rio Juquiá (Mapa 2).

MUNICÍPIO DE JUQUITIBA

ESPECIFICAÇÃO	DADOS NUMÉRICOS
Aspectos Físicos	
Posição geográfica da sede municipal	
latitude.....	28,5'
longitude.....	47,12'
altitude da sede municipal (m)	700
área (km ²)	569
Aspectos Demográficos	
População residente (censo de 1980)	
no município.....	20.000
na sede municipal.....	14.000
densidade demográfica(hab/km ²)	35,14

A escolha do município de Juititaba, para iniciar o nosso trabalho, foi motivada pelas suas características peculiares, como por exemplo, área urbana pequena, população rural razoável, economia e comércio de atividade primária, distância da Capital aproximadamente 71 Km e apesar disso tudo é considerada cidade dormitório.

Na primeira fase foi feito o levantamento dos locais indicados de produção de leite e venda do produto, tanto na área rural quanto urbana.

O contato com os proprietários rurais teve por objetivo explicar-lhes os motivos pelas quais iríamos nortear à nossa pesquisa e conhecermos o local e as vias de comunicação, (estradas) e as condições sanitárias.

Da lista de propriedades rurais do Município de Juquitiba, retiramos as propriedades produtoras de leite que produzem 60 litros ou mais por dia e que comercializam o produto na área urbana ou que vendem à intermediários que fazem a distribuição à domicílio.

A lista constava de 15 propriedades, destas foram escolhidas quatro, que satisfaziam as condições acima indicadas, as demais produziam leite para consumo próprio da família e de amigos.

Na cidade de Juquitiba, há duas modalidades de comercialização de leite, uma é a comum venda de leite pasteurizado do tipo B, da Companhia Flor da Nata, nas padarias e mercearias e a outra é a comercialização do leite cru em alguns estabelecimentos comerciais e a distribuição aos domicílios.

O nosso universo de trabalho:

- 1 - sítios produtores de leite e que o vendem cru.
- 2 - estabelecimentos que comercializam leite cru;
- 3 - distribuidores de leite cru;

Relação dos sítios, dos estabelecimentos e dos distribuidores de leite cru na cidade de Juquitiba - 1991:

1. Sítio Cachoeira, localizado na Estrada das Senhorinhas;
2. Distribuidor de Rua I (leite do Sítio Cachoeira);
3. Sítio Brasil Novo, localizado na Estrada das Laranjeiras;
4. Distribuidor urbano: mercearia e bar, Rua N. Sra. de Aparecida, 330 (distribuidor do leite do sítio Brasil Novo).
5. Sítio Santo Antonio, localizado na Estrada das Laranjeiras;
6. Distribuidor de Rua II (distribui leite do Sítio Santo Antonio);
7. Sítio "Onofre Farto", localizado na Estrada Palestina, este só vende leite no local, fresco e congelado (em sacos plásticos).
8. Latícinio Flor da Nata, leite tipo B, beneficiado na usina da Companhia em Olimpia, São Paulo, este leite é vendido na confeitaria e padaria Rainha de Juquitiba, Rua José Prestes Rosa, 152.
9. Latícinio Flor da Nata, leite tipo B, vendido na Panificadora Estrela de Juquitiba, Rodovia Régis Bitencourt, Km 71.

Modalidade da colheita das amostras de leite

As propriedades rurais, estabelecimentos comerciais e os distribuidores de rua, foram numerados e essa numeração que serviu para o sorteio das amostras a serem colhidas. As amostras eram colhidas aos pares, por sorteios aleatórios.

Colhemos uma amostra de leite em cada local e repetimos a colheita por mais quatro vezes em dias diferentes.

Normalmente fazíamos a colheita das amostras as segundas feiras, mas nem sempre era possível fazê-las aos pares, ocorriam problemas com os proprietários que as vezes se negavam a fornecer graciosamente as amostras e nestes casos nós comprávamos o leite a preço de leite B e as vezes até ao preço de leite tipo A. A amostragem se prolongou por seis meses (abril a setembro de 1991).

Cada amostra foi dividida em duas porções e colocada em frascos esterelizados, refrigeradas e enviadas o mais rápido possível para os laboratórios de pesquisa.

Durante a amostragem realizamos diversas fotografias, relacionadas com a atividade de produção e comercialização de leite no local.

A cada colheita que realizávamos, fazíamos exposição dos motivos pelos quais estávamos realizando a pesquisa, que constava de uma explicação dos cuidados higiênicos com o ambiente, com o animal, com o estábulo, com a sala de manipulação do leite. Perguntávamos de onde

provinha a água utilizada, como eram lavados os frascos que retornavam do consumidor, aproveitávamos e perguntávamos se ocorria doenças no gado e quais eram; dessa maneira ficamos sabendo o que ocorria no rebanho e na manipulação do leite.

Enquanto eram feitas as análises de laboratório, nós programamos duas outras pesquisas paralelas:

- 1 - Utilizar o "California Mastite Test", para saber como andava a saúde das tetas que produzem o leite, que é vendido cru para consumo. A interpretação dos resultados do C.M.T. é feita segundo o quadro a seguir:

DETERMINAÇÃO	DIAGNÓSTICO
Negativo (-)	Não há sinal de infecção
Positivo (+)	Mastite
Positivo (+ +)	Mastite
Positivo (+++)	Mastite

*** recomendação da firma FATEC - ANEXO 4**

As Tabelas seguintes demonstram os resultados obtidos nas diferentes propriedades pesquisadas:

TABELA 1 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 40 QUARTOS DE MAMAS DE 10 VACAS DO SÍTIO CACHOEIRA, JUQUITIBA - 1991.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	36	90,0
+	0	0
++	0	0
+++	4	10,0
T O T A L	40	100,0

TABELA 2 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 24 QUARTOS DE MAMAS DE 6 VACAS DO SÍTIO BRASIL NOVO, JUQUITIBA, 1991.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	12	50,0
+	2	8,3
++	4	16,7
+++	6	25,0
T O T A L	24	100,0

TABELA 3 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 44 QUARTOS DE MAMAS DE 11 VACAS DO SÍTIO SANTO ANTONIO, JUQUITIBA, 1991.

REAÇÃO	FREQUÊNCIA	PERCENTAGEM
-	38	86,3
+	4	9,1
++	0	0
+++	2	4,6
T O T A L	75	100,0

TABELA 4 - RESULTADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 40 QUARTOS DAS MAMAS DE 10 VACAS DO SÍTIO "ONOFRE FARTO", JUQUITIBA, 1991.

REAÇÃO	FREQUÊNCIA	PERCENTAGEM
-	34	85,0
+	3	7,5
++	2	5,0
+++	1	2,5
T O T A L	40	100,0

TABELA 5 - RESULTADOS CONSOLIDADOS DAS PROVAS DA CMT NA SECREÇÃO LÁCTEA DE 148 QUARTOS DAS MAMAS DE 37 VACAS EXAMINADAS EM 4 SÍTIOS DE JUQUITIBA, 1991.

REAÇÃO	FREQÜÊNCIA	PERCENTAGEM
-	120	81,0
+	9	6,1
++	6	4,1
+++	13	8,8
T O T A L	148	100,0

Resultado das provas utilizadas para diagnóstico da brucelose através da soroaglutinação rápida em placa ou "prova de Huddleson" e ou prova de antígeno bengala ou "Card Test", provas essas realizadas pelo Instituto Biológico da Secretaria da Agricultura e Abastecimento de São Paulo.

1. Sítio Cachoeira, 1991.

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 0%
- Resultados negativos - 100%

2. Sítio Brasil Novo, 1991.

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 0%
- Resultados negativos - 100%

3. Sítio Santo Antonio, 1991.

- Resultados positivos - 0%
- Resultados suspeitos - 0%
- Resultados negativos - 100%

4. Sítio "Onofre Farto", 1991.

O proprietário não permitiu a realização dos testes para brucelose.

Realizamos nessas mesmas propriedades testes para diagnóstico da Tuberculose, só encontramos dois animais com reação suspeita no Sítio Santo Antonio, 1991.

Quando colhíamos amostras de leite, na propriedade, nós realizávamos exames clínicos gerais nos animais e específicos da mama.

13. RESULTADOS

De acordo com o exposto, a partir de 21 amostras de leite cru coletadas no Município de Itapecerica da Serra e 39 do mesmo produto, oriundas do Município de Juquitiba e empregando-se as técnicas descritas no Anexo 1, foram realizadas as análises físicas e químicas de determinação da densidade, acidez, gordura, extrato seco total, extrato seco desengordurado, provas de peroxidase, fosfatase, alcalinidade e determinação de sais (cloretos). Foram realizadas as contagens de bactérias facultativas aeróbias psicrotróficas, mesófilas, termófilas, *S. aureus*, a determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais por ml, como a pesquisa de bactérias pertencentes ao gênero *Salmonella*, sendo os resultados mostrados a seguir:

As Tabelas 1 e 6 apresentam a distribuição dos valores relativos as determinações físicas e químicas das amostras colhidas no Município de Itapecerica da Serra e Juquitiba, respectivamente.

Nas Tabelas 1-A e 6-A, encontra-se a frequência e percentagens de amostras de leite em desacordo com as determinações impostas pelos padrões legais da legislação vigente nacional (Dec. nº 30691/52 e 1255/62)^(22,23). Da leitura dessas tabelas vê-se que em 21 amostras de leite colhidas em Itapecerica da Serra, apenas 4 (19,05%) estavam em condições de serem consumidas, com referência aos exames

físicos e químicos. Para as amostras colhidas em Juquitiba que foram em número de 39, apenas 11 (28,20%) tinham condições de consumo, segundo os exames físicos e químicos. Nas Tabelas 1-B e 6-B, vemos de outro ângulo, que pelo resultado dos exames físicos e químicos realizados, para leite dos municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba, a freqüência e a percentagem das amostras de leite que estariam condenadas por apresentarem uma, duas ou mais infrações aos padrões estabelecidos pela legislação nacional vigente^(11,12).

Nos municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba, vimos que com uma só infração ocorreram 8 (38,10%); com duas respectivamente 2 (9,52%) e 7 (17,95%); com três, 4 (19,05%) e 4 (10,25%); com quatro infrações, 1 (4,76%) e 3 (7,69%); com cinco infrações 1 (4,76%) e 6 (15,39%) e com seis infrações nas amostras de Itapecerica da Serra só ocorreu 1 (4,76%)^(11,12).

Nas Tabelas de números 2 e 7 encontram-se as distribuições dos valores relativos as contagens de bactérias psicrotróficas, mesófilas, termófilas, *S.aureus* por ml de leite cru, os valores do Número Mais Provável (NMP) de bactérias coliformes totais e fecais, assim como os resultados da pesquisa de *Salmonella*, encontrados para as amostras originárias dos Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba respectivamente.

Nas Tabelas 3 e 8 encontram-se distribuídos os valores mínimos, máximos, médias aritméticas e medianas das contagens de bactérias psicrotróficas, mesófilas, *S. aureus*, de coliformes totais e fecais para os Municípios anteriormente mencionados.

As Tabelas 4 e 9 apresentam distribuição da freqüência e porcentagem das amostras de leite cru, de acordo com as classes, dos números obtidos na contagem de bactérias psicrotróficas, mesófilas, termófilas, coliformes totais e fecais para os Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba respectivamente.

Nas Tabelas 5 e 10 estão distribuídas, em classes, as amostras examinadas, de acordo com os números obtidos na contagem de *S.aureus* por ml de leite cru, respectivamente para os Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba.

14. DISCUSSÃO

No Brasil existem duas legislações em vigor, com relação ao leite. Uma relacionada ao produto desde a produção até a saída da usina de beneficiamento que obedece aos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura^(11,12), através dos Decretos números 30.691/52 e 1.255/62. Essas normas estabelecem os limites quanto a densidade, acidez, gordura, extrato seco total, extrato seco desengordurado, determina os parâmetros para as provas de peroxidase, fosfatase, alizarol, alcalinidade e quantidade de sais, além de limites microbiológicos. A segunda legislação, adotada pelo Ministério da Saúde⁽¹⁰⁾, desde 1987 é a Portaria nº 1 de 28/01/87, que dita os padrões vigentes para a produtora, na área de comercialização e consumo e estabelece apenas os padrões microbiológicos, para o leite tipos A,B,C e Reconstituído pasteurizados.

Como a presente pesquisa teve por objetivo, verificar a qualidade do leite cru que é francamente comercializado e consumido nos Municípios anteriormente referidos, achamos por bem comparar as análises físicas e químicas do produto, com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, enquanto que os resultados obtidos quanto as análises microbiológicas realizadas, serão comparadas aos padrões ditados pelo Ministério da Saúde que estabelecem, limites para o produto na área do comércio e consumo.

Segundo os limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura para as provas físicas e químicas, o leite normal deve satisfazer as características que a legislação do Ministério da Agricultura impõe através do Decreto nº 30.691/52⁽¹²⁾ nos seguintes artigos:

Art.476 - Considera-se leite normal, o produto que apresente:

- 1 - caracteres normais;
- 2 - teor de gordura mínima de 3% (três por cento);
- 3 - acidez em graus Dornic entre 15 e 20 (quinze e vinte);
- 4 - densidade a 15° (quinze graus centígrados), entre 1.028 (mil e vinte e oito) e 1.033 (mil e trinta e três).
- 5 - lactose - mínimo de 4,3% (quatro e três décimos por cento);
- 6 - extrato seco desengordurado - mínimo 8,5% (oito e cinco por cento);
- 7 - extrato seco total - mínimo 11,5% (onze e cinco décimos por cento);
- 8 - índice crioscópico mínimo -0,55°C (menos cinquenta e cinco graus centígrados);
- 9 - índice refratométrico no soro cúprico a 20°C (vinte graus centígrados) não inferior a 37° (trinta e sete graus) Zeiss.

§ 1º - Os Estados que dispuserem de estudos de padrão regional, poderão, mediante aprovação do D.I.P.O.A. (SIPA), adotar outros padrões de leite para consumo local, não se permitindo comércio interestadual desse produto.

§ 2º - O leite individual com teor de gordura inferior a 3% (três por cento), para efeito de sua aceitação nos estabelecimentos, será considerado normal e se classifica como prevê este Regulamento.

§ 3º - Sempre que haja insistência na produção de leite com teor de gordura inferior a 3% (três por cento), a propriedade será visitada por servidor do D.I.P.O.A. (SIPA) que se encarregará das verificações e provas necessárias.

Art. 538 - O leite tipo "C" ou padronizado, para ser exposto ao consumo, deve satisfazer às exigências do leite integral, menos nos seguintes pontos:

- 1 - teor de gordura, que será de 3% (três por cento) no mínimo;
- 2 - extrato seco total, 11,7% (onze e sete décimos por cento);
- 3 - extrato seco desengordurado, 8,7% (oito e sete décimos por cento);
- 4 - densidade a 15°C (quinze graus centígrados) entre 1031 (mil e trinta e um) e 1035 (mil e trinta e cinco).

Art. 542 - Considerando-se leite impróprio para consumo em natureza, o que não satisfaça às exigências previstas para sua produção e que:

- 1 - revele acidez inferior a 15^oD (quinze graus Dornic) e superior a 20^oD (vinte graus Dornic);
- 2 - contenha colostro ou elementos figurados em excesso;
- 3 - não satisfaça ao padrão bacteriológico previsto;
- 4 - revele presença de nitratos ou nitritos;
- 5 - apresente modificações de suas propriedades organolépticas normais;
- 6 - apresente elementos estranhos à sua composição normal;
- 7 - revele quaisquer alterações que o tornem impróprio ao consumo inclusive corpos estranhos de qualquer natureza.

Art. 543 - Considera-se fraudado, adulterado ou falsificado o leite que:

- 1 - for adicionado de água;
- 2 - tiver sofrido subtração de qualquer dos seus componentes, exclusive a gordura nos tipos "C" e "magro";
- 3 - for adicionado de substâncias conservadoras ou de quaisquer elementos estranhos à sua composição;
- 4 - for de um tipo e se apresentar rotulado como de outro de categoria superior;
- 5 - estiver cru e for vendido como pasteurizado;
- 6 - for exposto ao consumo sem as devidas garantias de inviolabilidade.

§ 1º - Só pode ser inutilizado leite considerado impróprio para consumo ou fraudado, que a juízo da inspeção Federal não possa ter aproveitamento condicional.

§ 2º - Considera-se aproveitamento condicional:

- 1 - a desnaturação do leite e sua aplicação na alimentação animal;
- 2 - a desnatação do leite para obtenção de creme para manteiga e leite desnatado para fabricação de caseína industrial ou alimento para animais.

De acordo com a Tabela 1, das 21 amostras coletadas em Itapecerica da Serra, estariam fora dos padrões estabelecidos pelo Ministério da Agricultura, 6 (28,57%) graças ao grau de acidez; 2 (9,52%) amostras mostravam-se com uma porcentagem de gordura abaixo do mínimo estabelecido. Quando analisamos os resultados concernentes ao Extrato Seco Total (EST) e Extrato Seco Desengordurado (ESD), 5 (23,80%) e 5 (23,80%) amostras estavam abaixo do mínimo permitido. Quanto as provas de presença de peroxidase, fosfatase, alizarol e alcalinidade, 100% das amostras de leite cru analisadas estavam dentro dos limites estabelecidos pelos padrões oficiais (11,12).

Para a pesquisa de sais no leite examinado no município de Itapecerica da Serra - (Tabela 1) o laboratório do Paical (Plano de Assistência a Indústria e Comércio de

Alimentos) adotou a técnica de pesquisa de cloretos, esse processo têm dois objetivos, um de levantar fraudes e outro de identificar inflamação do ubere, isto é mamite subclínica e clínica.

Essa técnica tem o valor máximo fixado em 0,17g por 100 ml de leite.

Analisando ainda os dados referentes aos exames físicos e químicos, nota-se que 15 (71,42%) das amostras colhidas mostraram-se fraudadas ou eram oriundas de animais com mamite, 8(38,1%) estavam fraudadas com adição de água, e que apenas 12 amostras tinham características de normalidade, representando 57,14%, mas se analisarmos as contradições ao regulamento. Dec. 30691/52⁽¹²⁾, nós teremos apenas 5 (23,31%) das amostras que estão dentro das imposições regulamentares.

Pela Tabela 6, que mostra o resultado das análises físicas e químicas do leite cru originário do município de Juquitiba, podemos verificar que 17(43,58%) das amostras estavam fora dos padrões do Ministério da Agricultura^(11,12) com referência ao grau de acidez, com referência ao (EST) extrato seco total 16 (41,02%) e 11 (28,20%) com referência ao extrato seco desengordurado (ESD), e que 12 (30,76%) das amostras estavam abaixo do padrão mínimo de gordura (11,12).

Com referência aos sais podemos dizer que 20 (51,28%) estavam acima do máximo permitido, indicando dessa maneira que havia fraude ou animais com mamite.

Numa avaliação global sobre as amostras colhidas

vimos que apenas 11 (28,88%) não apresentavam contradições com os padrões do Ministério da Agricultura, segundo o Decreto nº 30691/52 e 1.255/62 (11,12).

Nenhuma das amostras examinadas mostrou-se incompatível com os padrões estabelecidos, quanto as provas de peroxidase, fosfatase, alizarol e alcalinidade (11,12).

A legislação adotada pelo Ministério da Saúde⁽¹⁰⁾ e que determina as condições microbiológicas para o leite oferecido ao consumo, estabelece que o leite tipo A pode conter até 2000 microrganismos por ml na contagem padrão em placas (cpp), no máximo 1 coliforme total por ml de leite, porém a pesquisa de coliformes fecais deve ser negativa em 1 ml do produto. Para o leite tipo B, este pode apresentar até 80.000 microrganismos por ml na contagem padrão em placas (cpp), no máximo 4 coliformes totais por ml do alimento, porém a pesquisa de coliformes fecais deve apresentar no máximo, 1 por ml de leite. Quanto aos leites tipos C e Reconstituído, estes podem apresentar 300.000 e 200.000 microrganismos por ml, respectivamente, na contagem padrão em placas e no máximo 20 coliformes totais por ml, porém, a presença de coliformes fecais deve ser de no máximo 2, em 1 ml do produto. Deve existir ausência de *Salmonella* em 25 ml do produto porém não existe limites estabelecidos para *E.coli* e nem para *S.aureus* (10).

Quando o leite é obtido, manipulado ou processado em condições higiênicas não satisfatórias, poderá ocorrer sua contaminação, que iria influir na qualidade do produto final.

É sabido que as bactérias mesófilas se multiplicam a temperatura de aproximadamente 32°C embora possam crescer numa faixa que vai de 10° a 45°C . A esse respeito, sabe-se que o leite, desde a ordenha até o consumo, pode permanecer, em grande parte do tempo, nessa faixa de temperatura na qual há possibilidade da multiplicação da maioria das bactérias contaminantes (52,53).

Na presente investigação, no que concerne as amostras recolhidas no Município de Itapecerica da Serra, na contagem de bactérias mesófilas, constatou-se variação grande, pois os números oscilaram de $3,45 \times 10^2$ a $> 2,57 \times 10^6$ UFC/ml sendo a média aritmética de $> 12.922.649,76$ e a mediana $2,39 \times 10^6$ UFC/ml (Tabelas 2 e 3). Analisando-se ainda a Tabela 2, pode-se constatar que 20 (95,24%) das amostras revelaram-se com contagens acima de 2×10^3 UFC/ml e, assim, fora dos limite para o leite tipo A. Pode verificar-se, também, que 18 (85,72%) das amostras apresentaram contagens de bactérias mesófilas superiores a 8×10^4 UFC/ml e portanto, acima dos limites estabelecidos para o leite B (10).

Das 21 amostras estudadas (Tabela 2) 17 (80,96%) apresentaram contagens superiores a 3×10^5 UFC/ml e 2×10^5 UFC/ml, limites estabelecidos para os leites tipo C e Reconstituído, respectivamente.

Quanto as análises efetuadas nas amostras colhidas no Município de Juquitiba, anotamos que para a contagem de bactérias mesófilas, a média aritmética foi de $14,01 \times 10^7$

UFC/ml ou 140.171.784,5 UFC/ml (Tabela 8). Através dos dados constantes na Tabela 7, 38 (97,44%) amostras estavam acima dos limites para o leite tipo A, 27 (69,23%) para o B e 21 (53,85%) e 23 (58,98%) para o C e Reconstituído, respectivamente.

Nas Tabelas 4 e 9, encontram-se as freqüências das distribuições, em classes, das amostras de leite cru examinadas respectivamente nos Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba. Pelas referidas tabelas podemos verificar que, com relação ao número de bactérias mesófilas, a maior freqüência (33,34%) correspondia à contagem de 10^5 a 10^6 UFC/ml para o Município de Itapecerica da Serra e 25,64% correspondente a mesma contagem, para o de Juquitiba. Do total de amostras examinadas, 14 (66,66%) apresentavam números superiores a 10^5 UFC/ml para as amostras do Município de Itapecerica da Serra e 27 (69,23%) para as do de Juquitiba. Quanto a presença de bactérias mesófilas no leite cru, verificamos que LAURENZA e cols. (42) na cidade de Campana, na Itália, analisando leite cru, obteve contagens máximas de bactérias de 6×10^2 UFC/ml, resultado inferior ao encontrado no presente trabalho com relação ao leite cru, oriundo de Itapecerica da Serra $2,57 \times 10^9$ UFC/ml e de Juquitiba $3,0 \times 10^9$ UFC/ml.

DELFORNO (24) em Cremona, Itália, analisando leite cru, observou uma contagem máxima de bactérias mesófilas de $2,08 \times 10^7$ UFC/ml, valor esse cerca de 50% menor que o correspondente neste estudo.

GHAZVINIAN e cols. (32), estudando amostras de leite cru coletado na recepção de uma central de pasteurização em Teerã, Irã, verificaram que o número máximo de bactérias mesófilas foi 8×10^8 UFC/ml, portanto cerca de 3,75 vezes, menor que o encontrado nesta pesquisa.

Em nosso meio, MOREIRA e cols (47) na cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, a partir de amostras de leite cru, obteve contagem de bactérias mesófilas de $6,9 \times 10^7$ UFC/ml, número inferior aos observados no presente trabalho.

Analisando-se as Tabelas 3 e 8, pode-se verificar com relação ao leite cru, que as médias aritméticas das contagens obtidas revelaram-se altas. A esse respeito, vários pesquisadores relatam as médias aritméticas dos números de bactérias mesófilas por eles obtidos em contagens realizadas a partir do leite cru. Assim, BANERJEA & SEN⁽⁶⁾ em Calcutá, Índia, obtiveram com relação a contagem padrão de bactérias mesófilas média de $2,2 \times 10^7$ UFC/ml, número este correspondente a, praticamente, o verificado nesta investigação ou seja $14,02 \times 10^7$ (Juquitiba) e $1,29 \times 10^7$ (Itapeceira).

PAL & SINHA⁽⁵⁶⁾, estudando amostras de leite cru de vaca e de búfalo em Ludhiana, Índia obtiveram através da contagem de bactérias mesófilas uma média de $4,47 \times 10^6$ UFC/ml, resultado este cerca de 34,54 vezes menor que o verificado nesta pesquisa.

DELFORNO & PAGANI⁽²⁵⁾ em Lodigiano, Milão, Itália e DELFORNO⁽²⁴⁾ em Cremona, Itália, verificaram para a contagem de bactérias mesófilas em leite cru, médias de $2,3 \times 10^6$

UFC/ml e $6,9 \times 10^6$ UFC/ml, respectivamente, valores estes inferiores aos observados neste estudo. GHAZVINIAN e cols.⁽³²⁾ em Teerã, relatam que a contagem média de bactérias mesófilas por eles obtida foi de 7×10^7 UFC/ml, portanto cerca de 2,6 maior que a média encontrada nesta pesquisa.

Nas Tabelas 4 e 9 encontram-se as frequências das amostras de leite analisadas, segundo os números dos diferentes grupos de bactérias contadas, resultados que serão comparados com os obtidos por alguns pesquisadores.

PAL & SINHA⁽⁵⁶⁾ em Ludhiana, Indiana, analisando amostras de leite cru de vaca e búfala, verificaram com relação ao número de bactérias mesófilas, que a maior frequência (59,82%) correspondia à contagem de 10^6 a 10^7 UFC/ml, resultado superior ao obtido no presente trabalho, uma vez que obtivemos maior frequência de contagem (33,34% e 25,64%) entre 10^5 a 10^6 UFC/ml para as amostras de Itapequerica da Serra e Juquitiba.

VIJAI & SARASWAT⁽⁷¹⁾ em Udaipur, Índia, analisando leite cru, verificaram que os resultados mais freqüentes, quanto as bactérias mesófilas relacionavam-se a contagens de 10^6 a 3×10^6 UFC/ml. No presente trabalho, quanto as bactérias mesófilas há proximidade dos resultados em relação aos valores obtidos por esses autores.

JAIN & SARASWAT⁽³⁷⁾ em Udaipur, Índia, analisando leite cru de vaca e de búfalo, verificaram quanto a contagem de bactérias mesófilas, que 61,41% das amostras apresentavam-

se com contagem acima de 10^6 UFC/ml bem maior do que a verificada neste estudo, no qual 33,33% das amostras oriundas de Itapecerica da Serra e 43,58 das originárias de Juquitiba revelaram-se com contagens também acima de 10^6 UFC/ml; estes nossos resultados, diferem dos obtidos por BRUM & VALENTI⁽¹³⁾ em Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul, que ao estudarem leite cru verificaram que 70% das amostras apresentavam contagem de bactérias mesófilas acima de 10^6 UFC/ml.

WATROUS e cols.⁽⁷³⁾ verificaram que em 90,6% das amostras de leite cru por eles analisadas em Shelbyville na Pensilvânia, EUA, as contagens de bactérias mesófilas revelaram-se inferiores a 10^5 UFC/ml, enquanto neste trabalho, ao contrário do que foi observado por esses autores, 33,34% das amostras de leite, originárias de Itapecerica da Serra e 30,76% das coletadas em Juquitiba mostraram-se com contagens de bactérias mesófilas inferiores a 10^5 UFC/ml.

KARIM & KACHANI⁽³⁹⁾, Teerã, Irã, analisando leite cru, verificaram que 95,7% das amostras mostraram-se com contagens de bactérias mesófilas acima de 5×10^5 UFC/ml, resultado superior do obtido neste trabalho.

NASCIMENTO⁽⁴⁸⁾, em João Pessoa, Brasil, verificou que a maior frequência de valores encontradas para as bactérias mesófilas no leite cru coletado na plataforma de recepção de uma usina de beneficiamento estava compreendida entre 10^6 a 10^8 UFC/ml de leite. Os valores por nós encontrados nas Tabelas 4 e 9, para o mesmo intervalo de

classes de 21,57% e 23,07% para o Município de Itapeçerica da Serra e de Juquitiba respectivamente são portanto, valores inferiores aos encontrados pelo autor.

A partir dos dados apresentados nas Tabelas 2 e 3, verifica-se que para as 21 amostras analisadas, a contagem de bactérias psicrótroficas, apresentaram valores mínimos de zero, por ml, máximo de $> 3,00 \times 10^8$ UFC/ml, sendo a média aritmética $> 2,87 \times 10^7$ e a mediana de $8,8 \times 10^3$ UFC/ml. Através das Tabelas 2 e 4 pode-se notar que 10 (47,61%) das amostras revelaram-se com números de bactérias psicrotróficas acima de 10^4 UFC/ml e 4 (19,4%) mostraram-se com números destas bactérias acima de 10^5 UFC/ml.

Quando analisamos as Tabelas 7 e 8 referentes ao leite coletado no Município de Juquitiba quanto a contagem de bactérias psicrotróficas podemos verificar que os valores mínimos foram iguais a zero/ml, máximo de $> 3,00 \times 10^9$ UFC/ml, a média aritmética atingiu o valor de $4,00 \times 10^8$ UFC/ml e a mediana de $8,3 \times 10^3$ UFC/ml. De acordo com a Tabela 9, das 39 amostras analisadas, 13 (33,34%) apresentaram-se com números superiores a 10 UFC/ml do produto, sendo que 6 (15,38%) continham 10^5 ou mais UFC/ml.

Como houve uma grande variação entre os números máximos e mínimos encontrados nas amostras correspondentes aos dois municípios, a mediana em ambos os casos está sujeita a um erro considerável. Os resultados obtidos demonstram que as amostras contêm números significativos de microrganismos psicrotróficos, razão pela qual, poderá deteriorar-se com

muita facilidade, mesmo que o alimento seja mantido sob condições de refrigeração.

NAIDU e cols.⁽⁴⁹⁾ em Madras, Índia, obtiveram contagens baixas de bactérias psicotróficas em leite cru. Observaram que 100% das amostras apresentavam-se com contagens abaixo de 10^2 UFC/ml. Em nosso trabalho com relação as análises efetuadas no produto oriundo do Município de Itapecerica da Serra, 71,43% das amostras revelaram-se com contagens superiores as encontradas pelos autores, pela Tabela 9, verificamos que para as amostras recolhidas em Juquitiba, 56,41% das mesmas apresentaram-se com contagens superiores as dos referidos pesquisadores.

Ao compararmos nossos resultados com os obtidos por NASCIMENTO⁽⁴⁸⁾, que analisou leite cru obtido na plataforma de recepção de uma usina de pasteurização, notamos que o autor obteve uma maior freqüência de valores para a contagem de bactérias psicotróficas de 10^5 a 10^7 UFC/ml, enquanto nossos resultados nessa mesma faixa de valores foram de 19,05% e 5,13% para os Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba respectivamente, portanto abaixo dos obtidos pelo mencionado pesquisador.

De acordo com os padrões estabelecidos pelo Ministério da Saúde, não temos parâmetros para comparar o número de bactérias termófilas no leite oferecido ao consumo, porém, podemos notar que estes números foram baixos pois, para as amostras oriundas de Itapecerica da Serra, todas mostraram-se negativas porém, para as originárias de

Juquitiba apenas 2 (duas) (Tabela 7) amostras, as de números 6 e 9 apresentaram 10 UFC/ml e $2,1 \times 10^2 \text{ UFC/ml}$ respectivamente. É interessante notar, que esta última amostra apresentou para as demais determinações, realizadas, números relativamente baixos.

Relativamente as bactérias coliformes, este grupo de microrganismos não indica por si só risco iminente para a saúde do consumidor, mas é importante índice das condições de higiene do produto cru ou elaborado pois se multiplicam facilmente na maioria dos alimentos e são resistentes ao aquecimento (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD)⁽⁵⁴⁾; sua presença e número no leite cru são importantes índices de contaminação que pode ter sido veiculada pelo ordenhador, utensílios, solo, ar, etc. . De outra parte, as bactérias coliformes fecais indicam comumente, no leite cru, a presença de poluição de origem fecal.

Analisando-se as Tabelas 2 e 3, pode-se constatar que 20 (95,24%) das amostras colhidas em, Itapeccerica da Serra possuíam número de coliformes fecais totais acima do máximo permitido para os leites tipos A, B, C e Reconstituído. Os números variaram de $< 0,03$ a $< 2,40 \times 10^6$ coliformes totais por ml, a média aritmética foi $5,78 \times 10^5$ e a mediana $4,3 \times 10^3$ coliformes totais por ml. Quanto aos coliformes fecais, apenas duas amostras, as de números 6 e 11 estariam dentro dos padrões estabelecidos para o leite tipo B (máximo de 1 /ml), as demais estariam condenadas⁽¹⁰⁾.

De acordo com as Tabelas 7 e 8, referentes as amostras oriundas do Município de Juquitiba, notamos que os números variaram de $<0,03$ a $>2,40 \times 10^6$ tanto para coliformes totais como para os fecais por ml de leite cru. A média aritmética foi de $5,15 \times 10^5$ e $2,87 \times 10^5$, enquanto a mediana foi $4,3 \times 10^3$ e $2,4 \times 10$ para coliformes totais e fecais respectivamente. Acrescentamos que de acordo com a Tabela 9, 10 (25,69%) das amostras estavam dentro dos padrões vigentes quanto aos coliformes totais para os leites tipos A, B, C e Reconstituído destinados ao consumo porém, de acordo com a referida Tabela, todas as amostras estariam condenadas para o consumo, de acordo com os padrões estabelecidos para o leite tipo A e 20 (51,28%) para os leites tipos B, C e Reconstituído⁽¹⁰⁾.

Seria oportuno ressaltar, que de acordo com as Tabelas 4 e 9 podemos visualizar que 11 (52,38%) amostras originárias de Itapecerica da Serra e 11 (28,20%) procedentes de Juquitiba apresentaram número de coliformes fecais superiores a 10 ml do alimento.

Ao compararmos nossos resultados, com os obtidos por GHAZVINIAN e cols.⁽³²⁾ que estudaram amostras de leite cru coletadas na recepção de uma central de pasteurização em Teerã, Irã, obtiveram valores máximos de coliformes totais iguais a 8×10^6 por ml, verificamos que os resultados por nós obtidos foram menores uma vez que o máximo foi de $2,40 \times 10^6$ coliformes por ml.

LAURENZA e cols.⁽⁴²⁾ em Campania, Itália, analisando amostras de leite cru verificaram quanto a bactérias coliformes que a maior freqüência relacionava-se a contagens entre 10^3 e 10^6 /ml, enquanto no presente estudo a maior freqüência (57,14%) e (51,28%) correspondia a essa faixa de contagem, o que pode-se considerar como praticamente pouco mais que a metade das amostras de leite examinadas que dos Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba, respectivamente.

NASCIMENTO⁽⁴⁸⁾, em João Pessoa, Paraíba, verificou que a maior freqüência de valores estava compreendida entre 10^4 e 10^6 /ml para os coliformes totais e de 10^3 a 10^6 /ml para os coliformes fecais, Comparando os resultados do autor com os que obtivemos verificamos que para o Município de Juquitiba, as porcentagens encontradas para o mesmo intervalo foram de apenas 7,69% para os coliformes totais e 12,82% para os fecais e de 14,28% e 61,91% para as mesmas bactérias a partir das amostras originárias de Itapecerica da Serra. Portanto, apenas os resultados com relação aos coliformes fecais das amostras de leite cru coletadas em Itapecerica da Serra, coincidem com os obtidos pelo autor.

A presença de *S. aureus* em leite cru é indicativo de contaminação principalmente a partir de animais portadores de mastite e contaminação pela bactéria presente nos pelos, mãos e fossas nasais de ordenhadores, tratadores e de manipuladores do produto que muitas vezes são portadores nas fossas nasais, boca, pele e conteúdo intestinal (THATCHER &

CLARCK) (10) (BAER e cols.) (5) (FRAZIER & WESTHOFF) (30).

No presente trabalho analisando-se as Tabelas 5 e 10 verifica-se que em 11, (52,40%) e 26 (66,66%) amostras coletadas em Itapecerica da Serra e Juquitiba respectivamente não se obteve o isolamento de *S. aureus* sendo estes resultados por nós referidos como negativos. Embora tenham sido considerados como negativos é importante levar-se em conta que algumas ou todas estas amostras poderiam revelar-se positivas, se fosse utilizado, na análise, um método de enriquecimento. Entretanto, como o exame realizado foi quantitativo, pela metodologia utilizada, só foi possível obter-se resultados positivos quando a amostra continha pelo menos 50 *S. aureus* por ml do alimento.

Com relação as 10 (47,61%) amostras originárias de Itapecerica da Serra positivas para *S. aureus*, os números mínimo e máximo encontrados foram 52 e $5,75 \times 10^4$ UFC/ml respectivamente sendo a mediana zero e a média aritmética $4,03 \times 10^3$ UFC/ml. Quanto as 13 (33,34%) amostras obtidas em Juquitiba e positivas para a bactéria os números mínimos e máximos foram respectivamente de 50 e $2,15 \times 10^3$ UFC/ml de leite. A média aritmética foi $1,60 \times 10^2$ UFC/ml e a mediana zero. Deve-se salientar que 4 (10,26%) amostras originárias de Juquitiba revelaram-se com valores compreendidos entre 10^3 e 10^4 UFC/ml e das análises efetuadas nas amostras de leite cru coletadas em Itapecerica da Serra, 3 (14,28%) apresentarm-se com os valores no intervalo de 10^4 a 10^5 UFC/ml. Os valores encontrados não podem ser considerados altos porém,

deve ser levado em conta que o *S. aureus*, tendo condições de multiplicar-se no alimento de forma a atingir números superiores a 10^5 por ml sendo, a cepa contaminante enterotoxigênica, a bactéria poderá elaborar durante seu crescimento, quantidade de enterotoxina estafilocócica suficiente para produzir sintomas de intoxicação alimentar (FRAZIER & WESTHOFF) (30).

Com relação as salmonelas, todas as amostras analisadas revelaram-se negativas em 25 ml do produto e portanto de acordo com o padrão estabelecido pelo Ministério da Saúde.

15. CONCLUSÕES

Pelos resultados obtidos na presente pesquisa e, de acordo com a discussão desenvolvida, esperamos ter conseguido algumas observações sobre as condições sanitárias apresentadas pelas amostras de leite cru colhidas nos municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba na região da Grande São Paulo, no período de 1991-1992.

Podemos resumir as observações nas seguintes conclusões:

1. O total de amostras colhidas nos municípios citados somam 60 (sessenta), elas foram colhidas durante 24 meses, revelaram presença elevada de microorganismos e numerosas infrações ao regulamento de inspeção e fiscalização de produtos de origem animal do Ministério da Agricultura (Dec. nº 30.691/52 e 1255/62) (12-11).
2. De acordo com o regulamento (Dec. 30.691/52 e 1255/62) (12,11) em vigor das 60 amostras colhidas nos Municípios de Itapecerica da Serra e Juquitiba, 46% delas estavam fora das recomendações legais referentes aos leites de consumo, pois o exame físico-químico revelou que houve adição de água.
3. Os altos valores das contagens dos diferentes grupos de microrganismos pesquisados, indicam que os leites, dos quais foram obtidas as amostras analisadas, foram submetidos a condições higiênico-sanitárias inadequadas na produção, manipulação e transporte.

4. Tanto para os microorganismos psicrotróficos, mesófilos, coliformes totais e fecais os números mostraram-se com grandes variações, de 10^2 a 10^6 UFC/ml.
5. As médias aritméticas dos valores obtidos para o microorganismo *S. aureus* foram de $1,85 \times 10^2$ a $4,00 \times 10^3$ UFC/ml, apesar das medianas terem sido zero.
6. O produto final, o leite cru, como é produzido atualmente deixa muito a desejar, pois há inúmeras infrações ao regulamento, Dec. nº 30691/52⁽¹²⁾, em pleno vigor legal no país. Portanto o seu valor alimentício é baixo, chega a ser desprezível.
7. Há ausência total de orientação sanitária visando os rebanhos leiteiros, suas instalações e seu manejo.
8. Não existem ações de saúde pública objetivando a Vigilância Sanitária de alimentos, naquela região.
9. A região dispõe de um potencial econômico razoável para a atividade de produção de leite para consumo humano, apesar de serem propriedades com características de micro ou pequena empresa.
10. O setor econômico (área de insumos) mantém a mesma estrutura definida há mais de 25 anos e é incapaz de atender as demandas atuais do setor com agilidade, flexibilidade e participação.

16. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of water and wastewater. 14th.ed. Washington, 1975.
2. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, 1976.
3. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Standard methods for the examination of dairy products. 15th.ed. Washington, 1984.
4. ANTUNES, L.A.F. & OLIVEIRA, J.S. de. Bactérias lácticas de leite cru: frequência e caracterização. Arq. Biol. Tecnol., 29:505-14, 1986.
5. BAER, E.F. et al. Methods for the isolation and enumeration of *Staphylococcus aureus*. In: Compendium of methods for the microbiological examination of foods. American Public Health Association. Washington, 1976, p.374-86.
6. BANERJEA, R. & SEN. A.K. The bacterial content of the Calcutta milk supply; suggested milk bacteriological standards. Indian Med. Gaz., 81:10-5, 1940.
7. BEHMER, M.L.A. Tecnologia do leite. 10^a.ed. São Paulo, Nobel, 1980.
8. BERQUÓ, E.S.; SOUZA, J.M.P. DE; GOTLIEB, S.L.D. Bio-estatística. São Paulo, E.P.U., 1981.

9. BLODGETT, R.O. Los edificios de la granja lechera en las regiones tropicales. In: Organizacion Mundial de la Salud. Higiene de la leche. Ginebra, 1966. p. 131.
10. BRASIL. Leis, etc. Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Divisão Nacional Vigilância Sanitária de Alimentos. Portaria nº 01. Diário Oficial da União, Brasília, 28 Jan. 1987, p. 2197-200.
11. BRASIL. Leis, etc. Decreto nº 1255 de 25 de junho de 1962. Ministério da Agricultura. Diário Oficial da União, Brasília, 4 jul, 1963. p. 1514
12. BRASIL. Leis, etc. Decreto nº 30.691 de 29 de março de 1952. Ministério da Agricultura. Diário Oficial da União, Rio de Janeiro, 7 jul, 1952. p. 214.
13. BRUM, M.A.R. & MOSSOI, E. Aspectos microbiológicos do leite pasteurizado consumido na cidade de Santa Maria. I. Colimetria e bacmetria. Rev. Centro Ciênc. Rurais Univ. Fed. Santa Maria, 3 (1-4): 45-50, 1973.
14. BRUM, M.A.R. & VALENTI, P.A. Flora mesófila, termodúricos e germes termófilos no leite cru consumido em Santa Maria, RS. Rev. Centro Ciênc. Rurais Univ. Fed. Santa Maria, 4(4):379-82, 1974.
15. BUSSAB, W.O. Estudos bacteriológicos de amostras de leite tipo "C" consumido em João Pessoa, antes e após a pasteurização. São Paulo, Instituto de Matemática e Estatística da USP, 1981. (SEA Relatório de Análise Estatística, 8101).

16. CECÍLIA, C.A. Enciclopédia de la leche. Madrid, Espasa-Calpe S.A., 1956.
17. CHAZVINIAN, R. et al. Dénombrement des germes totaux et des bactéries coliformes des laits crus délivrés à la centrale laitière de Téhéran, et détermination du taux de contamination de ces laits en staphylocoques coagulase-positives. *Lait*, Paris, 52(511/2):77-84, 1972.
18. CLEGG, L.F.L. La manipulación de la leche. In: Organización Mundial de la Salud. Higiene de la leche. Ginebra, 1966, p. 197.
19. COLLINS, E.B. Heat resistant psychrotrophic microorganisms. *J. Dairy Sci.*, 64: 157-60, 1981.
20. COSTA, E.O.da,; COUTINHO, S.D.A.; CASTILHO, W.; TEIXEIRA, C.M.; GAMBALE, W.; GANDRA, C.R.P; PIRES, M.F.C. Etiologia bacteriana da mastite bovina no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Microbiol.*, 17:107-12, 1986.
21. COUSIN, M.A. Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. *J. Food Prot.*, 45: 172-207, 1982.
22. DAMASIO, M.H. et al Caracterização sensorial do leite de cabra. *Aliment Tecnol.*, São Paulo, 3(20):74-76, 1988.

23. DAMUDE, D.F. La notificación de las enfermedades del hombre y de los animales y la necesidad de su integración. In: Seminario sobre la Enseñanza de Medicina Preventiva y salud Pública en las Escuelas de Medicina Veterinaria de las Americas, Mexico, D.F., 1963. Washington, Organización Panamericana de la Salud, 1964. p. 53-7 (OPAS-Publicaciones Científicas, 96)
24. DELFORNO, G. Recherche sulla composizione chimica e microbiologia dei latti prodotti nella provincia di Cremona. *Latte*, 44: 19-24, 1970.
25. DELFORNO, G. & PAGANI, F. Indagine sulla composizione microbiologia dei latti prodotto nel Lodogiano. *Mondo Latte*, 24: 190-2, 1970.
26. DEMETER, K.J. *Lacto-bacteriologia*. Zaragoza, Acribia, 1969.
27. DEMETER, K.J. & ELBERTZHAGEN, H. *Elementos de microbiologia lactológica*. Zaragoza, Acribia, 1971.
28. DIAS, Jr., V.L. Qualidade do leite, um longo caminho a percorrer. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes*, 26 (158/159):15-9, 1971.
29. DWIVEDI, R.G. A note on bacteriological quality of marketf milk in Rewacuty. *Indian J. Dairy Sci.* 29:64-5, 1976.
30. FRAZIER, W.C. & WESTHOFF, D.C. *Microbiologia de los alimentos*. 3^a ed. Zaragoza, Acríbia, 1985.

31. FURLANETTO, S.M.P.; FILHO, A.N.; WILSON, D.; SCHOCKEN, I.; RUBENS, P. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênicos isolados a partir de leite de vacas mastíticas. *Rev. Microbiol.*, 18: 138-43, 1987.
32. GHAZVINIAN, R.; FARKHONDEH, A.; MALEKI, M.; KOHNECHAHRI, M. Dánombrement des germes totaux et des bacteries coliformes des laits cru délivrés à la centrale laitière de Téhéran et détermination du taur de contamination de ces laits en staphylocoques coagulase-positive. *Lait*, 52 (511/12): 77-84, 1972.
33. GLATZ, B.A. & BRUDBIG, S.A. Survey of commercially available cheese for Enterotoxigenic Escherichia coli. *J. Food Prot.*, 43: 395-8, 1980.
34. HODGSON, H.E. & REED, O.E. Manual de laticínios para a América Tropical. Washington, D.C., Divisão da Indústria de Laticínios da Secretaria de Agricultura, s.d. (Publicação T.C., 290).
35. HUESTON, W.D.; HEIDER, L.E.; HARVEY, W.R.; SMITH, K.L. Determinants of high somatic cell count revalence in dairy herds practicing teat dipping and dry cow therapy and with no evidence of Streptococcus agalactiae on repeated bulk tank mil examination. *Preventive Veterinary Medicine*, 9(2): 131-142, 1990.
36. INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Ecologia microbiana de los alimentos*. Zaragoza, Acríbia, 1983.

37. JAIN, P.C. & SARASWAT, D.S. Studies on bacteriological quality of market milk in Odaipur city. II. enumeration of thermoduric and psychophilic bacteria in raw milk. *Indian J. Dairy Sci*, 21: 238-43, 1968.
38. KAPLAN, N.M.; ABDUSSALAM, M.: DIJLENGA, G. Enfermedades transmitidas por la leche. In: Organizacion Mundial de la Salud. *Higiene de la leche*. Ginebra, 1966. p. 11.
39. KARIM, G. & KACHANI, Gh. Flore bactérienne du lait cru de la région de Téhéran. *Lait*, 58 (573/4):179-84, 1978.
40. KOW, S.K. La leche y los produtos lacteos en la nutricion humana. 2^a. ed. Roma, Food and Agriculture Organization, 1972.
41. LANDGRAF, M. & FALCÃO, D.P. Isolamento de *Yersinia* sp. em alimentos diversos. *Rev. Microbiol.*, 18: 93-7, 1987.
42. LAURENZA, A. et al. Determinazione della carica batterica totale e del colititolo sul latte in arrivo ad un centro di pasteurizzazione della Campania. *Latte*, Millan, 39: 587-91, 1965.
43. LEÃO, R.L. *Higiene do leite: o leite como veiculador de infecções no homem: medidas para assegurar sua inocuidade*. São Paulo, Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio, 1937.
44. LERCHE, M. *Inspeccion veterinária de la leche*. Zaragoza, Acríbia, 1974.

45. MACHADO, E.S.V. Flora dominante do leite cru e pasteurizado. Campinas, 1975. [Dissertação de Mestrado UNICAMP].
46. MACKENZIE, E.F. Diphtheria, outbreak, Brington, Vic., 1974, a milkborne infection. Health. Bull., Melbourne, (89): 2395-411, 1947.
47. MOREIRA, W.S. et al. Da necessidade de pasteurização do leite fornecido a população, Santa Maria, RS. Rev. Centro Ciênc. Rurais Univ. Fed. Santa Maria, 1:105-12, 1971.
48. NASCIMENTO, D. Contribuição ao conhecimento das condições bacteriológicas de amostras de leite tipo "C", antes e após a pasteurização, vendido na cidade de João Pessoa, PB, 1977-78. São Paulo, 1982. [Tese de Doutorado - Instituto de Ciências Biomédicas da USP].
49. NAIDU, Y.K. et alii. Bacteriological studies on milk in Madras. Indian Vet. J., 42: 420-9, 1965.
50. NOGUEIRA, C.T. Produção e controle de qualidade na indústria de laticínios. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, 29 (174/175): 35-7, 1974.
51. OLIVEIRA, J.S. de Necessidade de atualização da legislação sobre laticínios. Bol. Inst. Tecnol. Alim., 27: 41-6, 1971.
52. OLIVEIRA, J.S. de Qualidade microbiológica do leite. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, 31 (186): 15-20, 1976.

53. OLIVEIRA, J.S.de & GARCIA, S. Isolamento e caracterização de culturas lácticas. Hig. Aliment., 4(2/3):95-101, 1985.
54. OLSON, Jr., J.C. & MOCQUOT, G. Milk and milk products. In: International Commission on Microbiological Specification for foods. Microbial ecology of foods: food commodities. New York, Academic Press, 1980. v. 2, p. 470-8.
55. ORGANIZACION DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACION. Pago de la leche según la calidad. Roma, 1973. p. 31-2.
56. PAL, R.N. & SINHA, M.N. Studies on bacteriological quality of market milk in Ludhiana city. Indian J. Dairy Sci., 18:79-82, 1965.
57. RODRIGUES, R.; SILVA, T.J.P.da; SANTOS, E.C.dos; CAETANO, J.L.V. Inspeção análítica dos constituintes do leite tipo B em Belo Horizonte, 1980. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 35: 731-6, 1983.
58. ROGICK, F.A. Produção higiênica do leite: III. Higiene. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, 35 (208): 45-7, 1980.
59. SANTIAGO, O. Controle microbiológico de qualidade. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes, 27 (165): 26-9, 1972.

60. SÃO PAULO, Leis, etc. Ato nº 2602 de 12 de dezembro de 1925 e Ato nº 2630 de 23 de abril de 1925. In: Leis e Actos do Município de São Paulo do ano de 1925. São Paulo, Casa Varordia, s.d. p. 389-442.
61. SERRANO, J. Variaciones estacionales de algunas microfloras de interes tecnologico de la leche cruda. Anal. Bromatol., 29: 149-66, 1977.
62. SCHOCKEN-ITURRINO, R.P.; ROSSI Jr, O.D.; NADER, A.F.; FONSECA, M.A.da Influência de medidas higiênico-sanitárias adotadas na ordenha, sobre a qualidade microbiológica do leite. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., 38: 779-89, 1986.
63. SHARPE, M.E. & BRAMLEY, A.J. Incidence of human pathogenic bacteria and viruses in raw milk. Dairy Ind. Int., 42 (9): 24-6, 1977.
64. SILVEIRA, N.V.V.; SAKUMA, H.; ANTUNES, M.D.; RODAS, M.A.B.; SARUWTARI, J.H.; CHICOUREL, E.L. Avaliação das condições físico-químicas e microbiológicas do leite pasteurizado consumido na cidade de São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 49: 19-25, 1989.
65. SPREER, E. Lactologia industrial. 2ª ed. Zaragoza, Acríbia, 1975.
66. SWIFT, S. Los edificios e instalaciones de la granja lechera en las regiones templadas. In: Organization Mundial de la Salud. Higiene de la leche. Ginebra, 1966. p. 83-130.

67. THATCHER, F.S. & CLARK, D.S. **Análisis microbiológico de los alimentos.** Zaragoza, Acríbia, 1973.
68. THOMAS, S.B. The microflora of bulk collected milk. Part 1. **Dairy Ind.**, 39: 237-40, 1974.
69. THOMAS, S.B. The microflora of bulk collected milk, Part 2. **Dairy Ind.**, 40: 279-82, 1974.
70. TIBANA, A. & LEITÃO, M.F.F. Avaliação da qualidade microbiológica de leite tipo "C" consumido na cidade do Rio de Janeiro. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 4^o, Rio de Janeiro, 1980. **Anais.** p.132-40.
71. VIJAI, R.G. & SARASWAT, D.S. Studies on bacteriological quality of market milk in Udaipur city I. I-Enumeration of standard plate and coliforme cant in raw and pasteurized milk. **Indian J. Dairy Sci**, 21: 233, 1968.
72. VELLINI, L.L. & ZOPPEI, A. Da bacterimetria e colimetria do leite tipo "C" no Estado de São Paulo - 1959-1963. **Bol. Ind. Anim.**, 23: 281-89, 1965/66.
73. WATROUS Jr., G.H. et al. Bacterial concentrations in raw milk, immediately after laboratory pasteurization and following 10 days storage at 7, 2C. **J. Milk Food Technol.**, 34: 282-4, 1971.
74. WHITE, C.H.; GILLIS, W.T.; SIMMLER, D.L.; GALAL, M.K.; NALSH, J.R.; ADAMS, J.T. Evaluation of raw milk quality tests. **J. Food Prot.**, 41: 356-60, 1978.

T A B E L A S

TABELA 1 - RESULTADO DAS ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO LEITE CRU COLETADO NO MUNICÍPIO DE ITAPEKERICA DA SERRA, SP, 1992.

Nº	Densidade	Acidez	Gordura	E.S.T.	E.S.D.	Peroxidase	Fosfatase	Alizarol	Alcalinidade	Sais	Conceito
1	1,0281	15	3,4	11,36	7,96	+	+	N	-	0,18	A
2	1,0276	14	3,1	10,88	7,78	+	+	N	-	0,20	A
3	1,0315	16	3,6	12,45	8,85	+	+	N	-	0,16	N
4	1,0316	16	3,5	12,36	8,86	+	+	N	-	0,16	N
5	1,0328	16	3,5	12,66	9,16	+	+	N	-	0,16	N
6	1,0224	10	2,4	8,73	6,33	+	+	N	-	0,24	A
7	1,0303	17,5	3,2	11,67	8,47	+	+	N	-	0,18	N
8	1,0303	16,5	3,7	12,27	8,57	+	+	N	-	0,17	N
9	1,0308	15	3,0	11,56	8,56	+	+	N	-	0,20	A
10	1,0296	17	4,0	12,43	8,43	+	+	N	-	0,19	N
11	1,0284	17,5	4,4	12,63	8,23	+	+	N	-	0,17	N
12	1,0258	12	3,0	10,31	7,31	+	+	N	-	0,16	A
13	1,0315	18	4,2	13,18	8,98	+	+	N	-	0,21	N
14	1,0230	15	0	8,26	8,26	+	+	N	-	0,25	Desnatado
15	1,0281	15	6,6	15,20	8,6	+	+	N	-	0,22	N
16	1,0291	15	3,5	11,73	8,23	+	+	N	-	0,22	N
17	1,0301	15,5	4,9	13,63	8,73	+	+	N	-	0,25	N
18	1,0278	12	4,8	11,96	8,16	+	+	N	-	0,25	C/Pus A
19	1,0315	15	4,3	13,30	9,80	+	+	N	-	0,21	N
20	1,0307	14	4,1	12,85	8,75	+	+	N	-	0,21	A
21	1,0286	13	4,6	13,93	8,33	+	+	N	-	0,21	A

E.S.T. Extrato Seco Total E.S.D. Extrato Seco Desengordurado
 Conceito: N = Normal A = Aguado Al = Alterado

Obs. Não foram realizadas as provas de precisão recomendadas pelo artigo 536 do RILSPOA, motivo: os aparelhos não estavam funcionando.

TABELA 1-A - Frequência e porcentagem de amostras de leite em desacordo com os padrões físicos e químicos legais da Legislação vigente (Decreto nº 30691/52), Município de Itapequerica da Serra, SP, 1992.

PADRÕES FÍSICOS E QUÍMICOS		f	%
DENSIDADE - 1032	Menor - 1027	3	14,28
	Maior - 1035	0	0
ACIDEZ (16 a 20 ^o D)	Menor	6	28,57
	Maior	0	0
GORDURA (3 A 4,5%)	Menor	2	9,52
	Maior	4	19,04
E.S.T. (11,41 A 12,2%)	Menor	5	23,80
	Maior	11	52,38
E.S.D. (8,25%)	Menor	5	23,80
	Maior	14	66,66
SAIS (cloretos 0,17%) 100ml	Menor	4	19,04
		15	71,42
CONCEITO	Normal	12	57,15
	Aguado	9	42,85
Nº Total de Amostras		21	

TABELA 1-B - Frequência e porcentagem de amostras de leite que estariam condenadas por apresentarem uma ou mais infrações aos padrões físicos e químicos estabelecidos pela legislação específica vigente (Decreto (F) nº 30691/52), Município de Itapeçerica da Serra, SP, 1992.

Nº de Alterações	f	%
com 1	8	38,10
com 2	2	9,52
com 3	2	9,52
com 4	3	14,28
com 5	0	0
com 6	1	4,76
sem alterações	5	23,82
Nº Total de Amostras	21	100%

TABELA 2 - Contagem de bactérias Psicrotróficas, Mesófilas, Termófilas, Staphylococcus aureus, Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Totais e Fecais e pesquisa de Salmonella em amostras de leite cru, colhidas em Itapeperica da Serra, SP, 1992.

AMOSTRA	BACTÉRIAS						Salmonel.
	UFC*\ml			NMP**\ml			
	Nº	Psicrotrofilas	Mesofilas	Termofilas	Staphylococcus aureus	Coliformes Totais	
1	17.500	185.000	-	52	>2.400.000	>2.400.000	-
2	53.000	310.000	-	-	43.000	43.000	-
3	-	1.380.000	-	10.000	>2.400.000	>2.400.000	-
4	-	2.570.000.000	-	-	>2.400.000	>2.400.000	-
5	-	345	-	-	>2.400.000	>2.400.000	-
6	840	10.600.000	-	-	23	<0,03	-
7	272.000	>30.000.000	-	500	>2.400.000	>1.100.000	-
8	-	>30.000.000	-	185	2.400	2.400	-
9	-	30.000.000	-	75	46.000	46.000	-
10	850.000	2.500.000	-	-	93	93	-
11	240	9.300	-	-	<0,03	<0.03	-
12	74.000	1.340.000	-	-	93	23	-
13	1.870.000	15.900.000	-	-	430	43	-
14	>300.000.000	12.200.000	-	57.500	7.500	23	-
15	>300.000.000	2.390.000	-	-	24.000	24.000	-
16	-	2.470.000	-	-	4.300	4.300	-
17	62.000	1.160.000	-	-	930	23	-
18	8.800	510.000	-	500	240	9	-
19	20.200	204.000	-	3.500	9.300	9.300	-
20	4.500	3.010.000	-	900	240	240	-
21	8.300	71.000	-	11.500	430	430	-
Totais	603.241.300	2.713.759.645	0	84.712	12.138.979,03	10.991.184,06	0
Ma	>2,87x10 ⁷	>1,29x10 ⁷	0	>4,03x10 ³	>5,78x10 ⁵	>5,25 x 10 ⁵	0
Md	8.800	2.390.000	0	40	4.300	2.400	

* UFC = Unidade Formadora de Colônias Ma = média aritmética

**NMP = Número Mais Provável Md = mediana

TABELA 3 - Valores mínimos, máximos, médias aritméticas(Ma) e medianas(Md) das contagens de bactérias psicrotróficas, mesófilas, Staphylococcus aureus, coliformes totais e fecais, em amostras de leite cru, obtidas no Município de Itapeçerica da Serra, SP, 1992.

VALORES	BACTÉRIAS				
	UFC*/ml			NMP**/ml	
				Coliformes	
	Psicrotróficas	Mesófilas	S.aureus	Totais	Fecais
Mínimo	-	345	-	<0,03	<0,03
Máximo	>300.000.000	2.570.000.000	57.500	>2.400.000	>2.400.000
Ma	28.725.776,19	12.922.649,76	4033,90	578.046,62	523.389,72
Me	8.800	2.390.000		4.300	2.400

* UFC = Unidade Formadora de Colônia

**NMP = Número Mais Provável

TABELA 4 - Distribuição, em classes, das 21 amostras de leite cru examinadas segundo o número de bactérias psicrotróficas, mesófilas, termófilas e Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais por ml, Itapeçerica da Serra, SP, 1992

Nº/ml ou NMP/ml	BACTÉRIAS									
							Coliformes			
	Psicrotróficas		Mesófilas		Termófilas		Totais		Fecais	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<0,03	6	28,58	-	-	21	100	1	4,76	2	9,52
0,03 + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 + 10	-	-	-	-	-	-	-	-	1	4,76
10 + 10 ²	-	-	1	4,76	-	-	3	14,28	5	23,82
10 ² + 10 ³	2	9,52	1	4,76	-	-	5	23,82	2	9,52
10 ³ + 10 ⁴	3	14,28	1	4,76	-	-	4	19,04	3	14,28
10 ⁴ + 10 ⁵	6	28,58	4	19,04	-	-	3	14,28	2	9,52
10 ⁵ + 10 ⁶	2	9,52	7	33,34	-	-	-	-	1	4,76
10 ⁶ + 10 ⁷	2	9,52	6	28,58	-	-	5	23,82	5	23,82
10 ⁷ + 10 ⁸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
> 10 ⁸	-	-	1	4,76	-	-	-	-	-	-
TOTAL	21	100	21	100	21	100	21	100	21	100

TABELA 5 - Distribuição, em classes, das 21 amostras de leite cru examinadas segundo a contagem de Staphylococcus aureus por ml, Itapecerica da Serra, SP, 1992.

UFC\ Ml	BACTÉRIA	
	Staphylococcus aureus Nº	%
< 50	11	52,40
50 - 10^2	2	9,52
10^2 - 10^3	4	19,04
10^3 - 10^4	1	4,76
10^4 - 10^5	3	14,28
T O T A L	21	100

TABELA 6 - RESULTADO DAS ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DO LEITE CRU COLETADO NO MUNICÍPIO DE JUQUITIBA, SP, 1992.

Nº	Densidade	Acidez	Gordura	E.S.T.	E.S.D.	Peroxidase	Fosfatase	Alizarol	Alcalinidade	Sais	Conceito
1	1,0292	16,5	6,70	16,50	8,61	+	+	N	-	0,19	A
2	1,0314	12,3	2,50	10,92	8,41	+	+	N	-	0,20	A
3	1,0288	11,0	2,60	10,85	8,10	+	+	N	-	0,20	A
4	1,0378	18,5	5,00	13,80	8,32	+	+	N	-	0,18	N
5	1,0305	17,6	2,60	11,00	8,40	+	+	N	-	0,20	A+Sal
6	1,0217	11,0	3,00	9,28	6,28	+	+	N	-	0,11	A
7	1,0290	14,0	3,00	11,10	8,10	+	+	N	-	0,17	A
8	1,0301	14,0	1,60	10,91	8,31	+	+	N	-	0,26	A+Sal
9	1,0314	13,5	1,50	9,91	8,41	+	+	N	-	0,20	A
10	1,0284	12,5	2,70	10,00	8,15	+	+	N	-	0,26	A
11	1,0294	12,5	2,70	10,85	8,15	+	+	N	-	0,26	A+Sal
12	1,0282	17,5	3,30	11,27	7,79	+	+	N	-	0,15	N
13	1,0303	16,0	5,00	13,82	8,82	+	+	N	-	0,18	N
14	1,0275	14,0	4,31	12,28	7,98	+	+	N	-	0,16	A
15	1,0292	16,5	7,70	16,30	8,69	+	+	N	-	0,19	N
16	1,0292	15,0	7,60	16,18	8,50	+	+	N	-	0,20	A
17	1,0318	17,5	3,70	12,60	8,90	+	+	N	-	0,16	A
18	1,0378	18,5	0,90	10,73	3,83	+	+	N	-	0,18	A
19	1,0378	18,5	0,90	10,79	9,89	+	+	N	-	0,17	A
20	1,0288	16,0	3,50	11,66	8,16	+	+	N	-	0,24	A
21	1,0289	15,5	3,00	11,00	8,00	+	+	N	-	0,25	A+Sal
22	1,0303	15,0	2,70	11,20	8,50	+	+	N	-	0,20	N
23	1,0301	15,0	2,70	11,20	8,50	+	+	N	-	0,16	N
24	1,0300	16,0	3,10	11,48	8,38	+	+	N	-	0,16	A
25	1,0310	15,6	3,60	12,33	8,73	+	+	N	-	0,16	N
26	1,0382	16,0	4,10	12,68	8,58	+	+	N	-	0,17	N
27	1,0309	16,5	3,40	12,90	8,80	+	+	N	-	0,15	N
28	1,0306	15,5	2,60	12,47	8,67	+	+	N	-	0,16	N
29	1,0313	16,0	3,00	13,10	9,00	+	+	N	-	0,17	N
30	1,0309	16,0	3,40	12,90	8,70	+	+	N	-	0,17	N
31	1,0310	16,0	3,20	13,29	8,89	+	+	N	-	0,15	N
32	1,0310	16,0	3,00	13,29	8,89	+	+	N	-	0,16	N
33	1,0312	15,0	3,50	12,38	8,88	+	+	N	-	0,22	N
34	1,0312	16,0	3,50	12,38	8,88	+	+	N	-	0,22	A+Sal
35	1,0383	16,0	3,20	11,18	7,98	+	+	N	-	0,15	A
36	1,0314	16,5	3,70	12,54	8,84	+	+	N	-	0,16	N
37	1,0319	16,5	3,80	12,79	8,99	+	+	N	-	0,16	N
38	1,0318	17,0	4,10	13,13	9,03	+	+	N	-	0,17	N
39	1,0318	15,5	4,00	4,00	9,01	+	+	N	-	0,18	N

E.S.T. Extrato Seco Total E.S.D. Extrato Seco Desengordurado

Conceito: N = Normal

A = Aguado

Al = Alterado

Obs. Não foram realizadas as provas de precisão recomendadas pelo artigo 536 do RIISPOA, motivo: os aparelhos não estavam funcionando.

TABELA 6-A - Frequência e porcentagem de amostras de leite em desacordo com os padrões físicos e químicos legais da Legislação vigente (Decreto (F) nº 30691/52), Município de Juquitiba, SP, 1992.

PADRÕES FÍSICOS E QUÍMICOS		f	%
DENSIDADE - 1032	Menor - 1027	1	2,56
	Maior - 1035	5	12,82
ACIDEZ (16 a 20 ^o D)	Menor	17	43,58
	Maior	0	0
GORDURA (3 A 4,5%)	Menor	12	30,76
	Maior	5	12,82
E.S.T. (11,41 A 12,2%)	Menor	16	41,02
	Maior	20	51,28
E.S.D. (8,25%)	Menor	11	28,20
	Maior	28	71,79
SAIS (cloretos 0,17%) 100ml	Menor	14	35,89
		20	51,28
CONCEITO	Normal	20	51,28
	Aguado	19	48,72
Nº Total de Amostras		39	100,00

TABELA 6-B - Frequência e porcentagem de amostras de leite que estariam condenadas por apresentarem uma ou mais infrações aos padrões físicos e químicos estabelecidos pela legislação específica vigente (Decreto (F) nº 30691/52), Município de Juquitiba, SP, 1992.

Nº de Alterações	f	%
com 1	6	15,38
com 2	9	23,80
com 3	3	7,70
com 4	8	20,52
com 5	2	5,12
com 6	0	0
sem alterações	11	28,28
Nº Total de Amostras	39	100%

TABELA 7 - Contagem de bactérias Psicotróficas, Mesófilas, Termófilas, *Staphylococcus aureus*, Número Mais Provável (NPM) de Coliformes Totais e Fecais e pesquisa de Salmonella em amostras de leite cru, colhidas em Juquitiba, SP 1992.

BACTÉRIAS							
AMOSTRA	UFC*/\ml				NMP**\ml		Salmon
Nº	Psicrotróficas	Mesofilas	Termofilas	Staphylococcus aureus	Coliformes Totais	Coliformes Fecais	
1	525.000	2.500.000	-	-	> 240.000	> 240.000	-
2	880	254.000	-	-	> 240.000	> 240.000	-
3	1.000	>300.000.000	-	100	> 240.000	> 240.000	-
4	29.700	7.360.000	-	1.500	>2.400.000	>2.400.000	-
5	3.600.000	20.900.000	-	-	>2.400.000	>2.400.000	-
6	>3.000.000.000	16.400.000	10	-	>2.400.000	>2.400.000	-
7	3.000	121.000	-	100	240	240	-
8	1.470	>300.000.000	-	50	>2.400.000	>2.400.000	-
9	15.600	114.000	2.100	-	43	43	-
10	4.200	315.000	-	2.150	4.300	750	-
11	1.040	330.000	-	-	903	43	-
12	>300.000.000	>300.000.000	-	-	>2.400.000	>2.400.000	-
13	-	14.800	-	53	<0,03	<0,03	-
14	80	13.600	-	-	93	<0,03	-
15	360	>300.000.000	-	-	>2.400.000	>2.400.000	-
16	980	117.000	-	66	<0,03	<0,03	-
17	>300.000.000	>300.000.000	-	-	>2.400.000	<0,03	-
18	>300.000.000	>300.000.000	-	-	210.000	<0,03	-
19	80	-	-	58	<0,03	<0,03	-
20	10.400	670.000	-	-	430	<0,03	-
21	780	234.000	-	-	210	<0,03	-
22	9.500	3.700.000	-	-	4.600	24	-
23	67.000	7.600.000	-	-	93.000	<0,03	-
24	6.000	2.140.000	-	226	21.000	7.500	-
25	1.390	181.000	-	1.500	93.000	<0,03	-
26	8.300	850.000	-	1.200	75.000	43	-
27	-	12.600	-	-	<0,03	<0,03	-
28	-	20.200	-	-	<0,03	<0,03	-
29	2.630	3.700	-	-	<0,03	<0,03	-
30	2.440	4.200	-	-	<0,03	<0,03	-
31	-	14.100	-	-	<0,03	<0,03	-
32	2.070	>300.000.000	-	50	75	<0,03	-
33	18.300	>300.000.000	-	-	240.000	24	-
34	13.200	>300.000.000	-	-	930.000	2.400	-
35	27.800	2.710.000	-	-	930.000	24	-
36	310	51.000	-	200	43	24	-
37	390	44.000	-	-	75	<0,03	-
38	2.500	12.300	-	-	<0,03	<0,03	-
39	-	13.100	-	-	<0,03	<0,03	-
Totais	3.904.356.400	3.466.699.600	2.110	7.253	20.123.012,30	15.131.115,57	0
Ma	1,00x10 ⁸	1,40x10 ⁸	0,54x10 ²	1,85x10 ²	5,15x10 ⁵	3,87x10 ⁵	0
Md	8.300	850.000	0	0	4.300	24	

* UFC = Unidade Formadora de Colônias

**NMP = Número Mais Provável

Ma = Média Aritmética

Md = Mediana

TABELA 8 - Valores mínimos, máximos, médias aritméticas(Ma) e medianas(Md) das contagens de bactérias psicrotróficas, mesófilas, Staphylococcus aureus, coliformes totais e fecais, em amostras de leite cru, obtidas no Município de Juitiba, SP, 1992.

VALORES	BACTÉRIAS					
	UFC*\ml				NMP**\ml	
					Coliformes	
	Psicrotróficas	Mesófilas	Termófilas	S.aureus	Totais	Fecais
Mínimo	-	-	-	-	<0,03	<0,03
Máximo	>3.000.000.000	>3.000.000.000	2.100	2.150	>2.400.000	>2.400.000
Ma	100.111.702,56	140.171.784,51	54,102	185,97	515.974,57	387.977,32
Md	8.300	850.000	0	0	4.300	24

* UFC = Unidade Formadora de Colônia

**NMP = Número Mais Provável

TABELA 9 - Distribuição, em classes, das 39 amostras de leite cru examinadas segundo o número de bactérias psicrotróficas, mesófilas, termófilas e Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais por ml, Juquitiba, SP, 1992.

Nº/ml ou NMP/ml	BACTÉRIAS									
							Coliformes			
	Psicrotróficas		Mesófilas		Termófilas		Totais		Fecais	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<0,03	5	12,82	1	2,56	37	94,88	10	25,69	19	48,72
0,03 + 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1 + 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 + 10 ²	2	5,15	-	-	1	2,56	6	15,39	7	17,95
10 ² + 10 ³	6	15,35	-	-	-	-	3	7,69	2	5,13
10 ³ + 10 ⁴	3	7,69	2	5,13	1	2,56	2	5,13	2	5,13
10 ⁴ + 10 ⁵	7	17,95	9	23,08	-	-	4	10,25	-	-
10 ⁵ + 10 ⁶	1	2,56	10	25,64	-	-	7	17,95	3	7,69
10 ⁶ + 10 ⁷	1	2,56	6	15,39	-	-	7	17,95	6	15,39
10 ⁷ + 10 ⁸	-	-	3	7,69	-	-	-	-	-	-
> 10 ⁸	4	10,25	8	20,51	-	-	-	-	-	-
T O T A L	39	100,00	39	100,00	39	100,00	39	100,00	39	100,00

TABELA 10 - Distribuição, em classes, das 39 amostras de leite cru examinadas segundo a contagem de Staphylococcus aureus por ml, Juquitiba, SP, 1992.

UFC\ Ml	BACTÉRIA	
	<u>Staphylococcus aureus</u>	
	Nº	%
< 50	26	66,66
50 + 10 ²	5	12,82
10 ² + 10 ³	4	10,26
10 ³ + 10 ⁴	4	10,26
T O T A L	39	100

A N E X O S

A N E X O 1

TÉCNICAS UTILIZADAS PARA A REALIZAÇÃO DOS EXAMES FÍSICOS-QUÍMICOS
E BACTERIOLÓGICOS DAS AMOSTRAS DE LEITE DESTE TRABALHO

A pesquisa na área físico-química compreendeu a determinação dos seguintes itens: densidade, gordura(%), extrato seco total, extrato seco desengordurado, acidez, prova de peroxidase e prova da fosfatase e pesquisa de sais (ênfase em cloretos)

1. Determinação da densidade

Determina-se a densidade de um corpo líquido ou sólido pela relação que existe entre a massa (expressa pelo peso) e o volume desse corpo: $\text{massa/volume} = \text{densidade}^{(7,11,12)}$.

A densidade absoluta (peso específico absoluto) de um corpo é determinada diretamente partindo da massa e do volume^(11,12).

Praticamente usa-se a densidade relativa, isto é, a relação entre a densidade absoluta do corpo considerado e a de outro corpo tomada como termo de comparação. É determinada, para sólidos e líquidos, em relação à água e, para os gases, em relação ao ar^(11,12).

Para os sólidos e líquidos, a densidade relativa confunde-se com o peso específico, pois a densidade absoluta da água é igual a 1 (um). Assim sendo, a densidade desse corpo pode ser expressa pela razão M/V ou P/V (P ou M , são proporcionais) (7,12).

Dessas ponderações deve-se concluir que, na determinação da densidade, se leva em consideração a temperatura, pois ela tem influência bem notável no volume do corpo (aumentando ou diminuindo o denominador, vai diminuir ou aumentar o valor da fração $P/V = D$), dando uma densidade maior ou menor do que a real (11,12).

No caso da densidade do leite, é tomada em relação à água destilada a 15°C , cujo peso específico a esta temperatura é 1 g, isto é, 1 ml de água destilada a 15°C pesa na balança exatamente 1 g; por conseguinte, 1.000 ml ou um litro de água pesarão 1 quilograma (11,12).

Não sendo prático determinar a densidade pelo processo de pesada, lança-se mão de aparelhos calibrados chamados densímetros, que têm por fim medir a densidade (11,12).

Como o volume de um líquido aumenta (dilata-se) com o efeito do calor, deve ser a densidade tomada sempre na mesma temperatura e para os líquidos é 15°C o padrão, ou proceder a uma correção por intermédio de cálculos ou tabelas para tal (11,12).

2. Determinação da densidade do leite

Emprega-se para determinar a densidade do leite o termolactodensímetro. Este aparelho é formado de uma esfera com o flutuador e de uma coluna delgada, onde se encontra uma escala com graduações de 15° a 45°C que representam densidades de 1,015 a 1,045(7,11,12).

A determinação é feita tomando-se uma amostra bem homogênea do leite, compreendida a temperatura entre 10° a 30°C (7,11,12).

Coloca-se o leite lentamente em uma proveta de 250 ml, tendo-se o cuidado de o fazer escorrer ao longo da parede para evitar formação de espuma; mergulha-se depois o termolactodensímetro, de modo que flutue livremente à altura do bordo superior, sem ficar colado à parede da proveta. Por fim, faz-se a leitura na altura do nível do leite. Anota-se o algarismo que marca a superfície do líquido, anotando-se também a temperatura para se fazer pela tabela a devida correção(7,11,12).

Sem a tabela, pode-se também fazer a correção. Alguns autores, como Morelli, L. - 1919 e Minut, J. - 1934, aconselham que se acrescentem à densidade encontrada, 0,2 (dois décimos) para cada grau de temperatura acima de 15°C , até 20°C ; de 20°C em diante, 0,3 (três décimos), do mesmo modo diminuindo-se 0,2 (dois décimos) para cada grau abaixo de 15°C . Junta-se 1 (um) grau a cada grupo de 5 (cinco) graus acima de 15°C , e o resultado multiplica-se por 0,2 (dois décimos)(7,11,12).

Para leite com temperatura abaixo de 15°C , procede-se

como no processo anterior, porém, diminuindo. Exemplificando: Seja um leite com densidade de 1.028 ou na forma usual 28 à temperatura de 21°C.

$$21^{\circ} - 15^{\circ} = 6 + 1 \text{ (1 grupo)} = 7$$

$$7 \times 0,2 = 1,4$$

$$28 + 1,4 = 29,4 \text{ de densidade}$$

Resposta: Densidade a 15°C do leite em exame 1,029,4.

Balança de Westfall:

Para a determinação da densidade com precisão e em pequenas quantidades de leite, recorre-se à balança de Westfall⁽⁷⁾.

Consiste essa balança em um travessão de braços desiguais. Na extremidade do braço curto há um dispositivo destinado a sustentar um prato que serve de contrapeso; na outra extremidade está o termômetro, formando equilíbrio na balança (flutuador-lastro). Mergulhando o termômetro no leite, rompe-se o equilíbrio da balança pela força de impulsão do leite. Para restabelecê-lo, coloca-se uma série de cavaletes (pesos) na escala graduada, fixa, paralelamente aos braços da balança^(7,11,12).

Pela leitura dos números indicados pelos cavaletes, tem-se diretamente a densidade. Em seguida, faz-se a correção da temperatura da mesma maneira como se faz com o emprego do termolactodensímetro^(7,11,12).

3. Determinação da matéria gorda do leite

Conhece-se a qualidade de um leite, com relação à riqueza em matéria gorda, componente de maior valor comercial, pela dosagem desse elemento^(7,16,11,12).

Tem o leite, em média 3,5% de matéria gorda; é a determinação da percentagem de matéria gorda, um dos meios para verificar a fraude do leite, pois ela, em conjunto com outros elementos, dá úteis indicações sobre a integridade do mesmo.

A matéria gorda do leite é determinada por diversos processos, porém a determinação pelo "butirômetro de Gerber" é a mais generalizada^(7,11,12).

Processo de Gerber - Este método é baseado na propriedade que tem o ácido sulfúrico de dissolver a caseína do leite, sem atacar a matéria gorda, quando em concentração determinada.

Submetido o leite à centrifugação, separa-se a matéria gorda dos outros elementos, a qual por ser o componente mais leve se acumula na parte superior do butirômetro, isto é, na haste graduada do mesmo^(11,12).

A análise é efetuada colocando-se no butirômetro de Gerber, os reagentes na seguinte ordem: (1^o.) 10 ml de ácido sulfúrico de D 1,820 a 1,825. (2^o.) 11 ml de leite em análise (bem homogeneizado). (3^o.) 1 ml de álcool amílico puro para análise D 0,815^(7,12).

O leite deve ser colocado lentamente, escorrendo pela parede do butirômetro; após juntar os reagentes na ordem discriminada, fecha-se o butirômetro com uma rolha de borracha especial e agita-se bem, envolto em um pano, até dissolver a caseína e aparecer um líquido uniforme^(7,12).

Durante a operação deve-se ter o cuidado de colocar o dedo polegar sobre a rolha para prevenir a eventualidade dela saltar. Verifica-se então que a caseína fica decomposta pelo ácido sulfúrico, com desprendimento de calor^(7,12).

Leva-se o butirômetro ao banho-maria por 3 a 5 minutos à temperatura de 65° a 70°C. Assim quente, centrifuga-se o butirômetro por 3 a 5 minutos, levando-o novamente ao banho-maria (sempre, porém, com a rolha para baixo, para que a matéria gorda separada não se misture de novo^(7,12)).

A centrífuga deverá dar 800 a 1.200 rotações por minuto. Ela deve estar bem fixa para evitar a quebra dos butirômetros. Faz-se em seguida corresponder a parte inferior da camada gordurosa com o zero da escala. Para tanto, introduz-se ou se retira a rolha. Lê-se na escala a percentagem indicada pelo número correspondente ao número da coluna de gordura. A leitura é feita na parte inferior do menisco. Cada divisão da escala do butirômetro será correspondente a 0,1% de matéria gorda, no leite analisado^(7,16,23).

4. Determinação da matéria seca

Denomina-se matéria seca, ou extrato seco, o conjunto de todos os componentes do leite, com exceção da água. A percentagem de matéria seca é indispensável para se julgar da integridade de um leite. Admite-se em um leite normal um mínimo de 11,41% de matéria seca e 8,25% de matéria seca desengordurada. A composição da matéria seca pode ser considerada conjuntamente com a matéria gorda ou sem ela. Determina-se a matéria seca por diversos processos(7,11,12,16).

Processo direto - Pelo método direto, procede-se do seguinte modo. Em uma cápsula de porcelana contendo pedra-pomes e, previamente tarada, junta-se pequena quantidade de leite (10 g), pesada rigorosamente. Leva-se a cápsula ao banho-maria. Quando todo o seu conteúdo estiver com aspecto de pedra-pomes pulverizada, seca, sem grumo algum, leva-se a cápsula à estufa por 3 a 4 horas à temperatura de 100°C; deixa-se esfriar e pesa-se. Torna-se a pôr na estufa, torna-se a pesar até que se obtenha um peso constante. Pela diferença e pela subtração do peso da pedra-pomes, obtém-se o peso da matéria seca que se calcula em percentagem. Para essa determinação é imprescindível uma balança de precisão. Este processo não se usa no exame de rotina(7,11,12,16).

Processo indireto - O processo indireto é baseado na relação entre o peso específico (densidade) e a percentagem de matéria gorda, sendo, portanto, necessário determinar a densidade e a percentagem de matéria gorda.

Fórmula de Feischmann - A fórmula clássica de Feischmann é a que se segue:

$$1,2 G + \left(2,665 \frac{100 D - 100}{D} \right) = \text{Matéria seca}$$

D = Densidade.

G = Matéria gorda.

Fórmula prática - A fórmula mais rápida e prática, porém, é a seguinte:

$$\frac{G}{5} + \frac{D}{4} + G + 0,26 = \text{matéria seca.}$$

D = densidade (ex.: 30,0).

G = matéria gorda (ex.: 3,5).

Para esta fórmula, na densidade são desprezados os dois primeiros algarismos; na densidade 1,030, considera-se, por exemplo, somente 30(7,11,12,16).

Calculador automático - O calculador de Ackermann é formado por dois discos sobrepostos. O disco menor, que está por cima, tem graduações correspondentes à densidade (1,020 a 1,037). No disco inferior, que é o maior, há duas ordens de graduações: - a primeira, interna, marca a percentagem de matéria gorda (0,7 a 6,05); a segunda ordem marca a matéria seca (0,22 a 15,5%). Para achar-se a matéria seca, faz-se coincidir o número correspondente à densidade achada no leite (marcado no primeiro disco) e a percentagem de matéria gorda do leite, marcada na primeira ordem, do segundo disco; um ponteiro (indicador), existente no primeiro disco, apontará a matéria seca correspondente a esse leite, na segunda ordem, do segundo disco⁽⁷⁾

Tabela calculadora - Por último, existe uma tabela de Fleischmann, muito prática para essa determinação. Essa tabela é baseada identicamente na dependência do extrato seco da relação entre a densidade e a percentagem da matéria gorda⁽⁷⁾.

5. Matéria seca desengordurada

Para obter-se a matéria seca desengordurada, subtrai-se da matéria seca total a matéria gorda determinada pelo método de Gerber⁽⁷⁾.

6. Determinação da acidez do leite

O leite, ao sair do úbere, é ligeiramente ácido. Sua acidez normal está compreendida entre 16° a 20° Dornic, ou seja, 1,60 a 2,00 g de ácido láctico por litro^(7,11,12).

A acidez superior à normal é proveniente da acidificação do leite pelo desdobramento da lactose, provocada pelos fermentos (lácticos, germes), que estão em multiplicação no leite. A acidez tende, portanto, a aumentar à medida que o leite vai envelhecendo, influenciando consideravelmente a temperatura e a higiene empregada nas diversas manipulações^(7,11,12).

Determina-se a acidez do leite para avaliar o seu estado de conservação (fermentação). Um leite com acidez fora do padrão é considerado anormal, em início de fermentação e impróprio para o consumo e industrialização^(7,12).

A conservação em baixa temperatura (4° a 6°C) paralisa o aumento da acidez, sem, porém, diminuí-la; a pasteurização destrói os germes causadores da formação da acidez do leite^(7,12).

Método volumétrico - Pode-se determinar volumetricamente a acidez do leite. Dentre os principais, contam-se os processos de Soxleth-Henckel, Soxleth, Dornic, etc^(7,11,12).

O método de Dornic é o mais generalizado para a pesquisa rápida do grau de acidez em um leite. Dornic propôs o uso de uma solução de soda N/9 (nono normal) e deu o nome de grau

aos "décimos de centímetros cúbicos: ($0,1 \text{ cm}^3$) dessa solução, que vai corresponder a 0,001 g (um miligrama de ácido láctico). Uma soda normal corresponde a 4 g de soda cáustica; completando 1.000 g com água, portanto, a soda nono normal equivale a 4,445 g de soda, num total de 1.000 g de água^(7,11,12).

Depois do processo de Dornic é o de Soxleth-Henckel o mais generalizado. Tendo a acidez em graus Soxleth-Henckel e desejando convertê-la em graus Dornic, é só multiplicar o número de graus por 2,25 e vice-versa^(7,11,12).

Determinação da acidez pelo método de Dornic - Na determinação da acidez por esse processo, usa-se o aparelho Dornic.

Procede-se à análise, agitando-se bem o leite com uma pipeta, tomam-se 10 ml que se introduz em um tubo de ensaio ou pequeno Erlemeyer de 50 ml e como indicador juntam-se de 3 a 5 gotas de fenoftaleína a 2%. Enche-se a bureta graduada do aparelho Dornic e, abrindo-se a torneira, vai se gotejando a soda Dornic do aparelho dentro do tubo de ensaio sobre o leite, até virar, isto é, até à coloração constante, ligeiramente rósea (agitando-se fortemente à proporção que for despejando a soda)^(7,11,12,16).

Para acertar-se com exatidão o tom da cor rósea, correspondente à solução completamente neutra (virada), há um testemunho padrão dessa cor, que serve de comparador. Esse padrão é a cor igual à que produz uma gota de uma solução alcoólica de rosa-anilina a 0,01%, quando se juntar a 11 ml de leite. Lê-se na bureta graduada do aparelho o número de divisões gastas de

solução de soda para obter-se a cor igual à do padrão; esse número corresponderá ao grau de acidez do leite. Podem-se denominar esses graus de "acidez Dornic" ou de "décimos de ácido por litro" (7,12,16).

A soda Dornic é uma solução (nono normal), que se pode adquirir já preparada. Sendo exposta ao ar enfraquece logo; assim, recomenda-se passar para o aparelho parte da solução e deixar o restante em frasco bem fechado.

Determinação da acidez pelo método colorimétrico - É um processo rápido e muito empregado na inspeção do leite para indústria. Consiste em juntar a 10 ml de leite 5 gotas de solução alcoólica (álcool neutro a 70,5° GL) a 2% de alizarina, ou preferivelmente para a inspeção do leite é mais comum usar partes iguais de leite e da solução de alizarina a 2%. A coloração aparente do leite, após alguns instantes vai indicar o seu estado de conservação. Assim, interpretamos os resultados pelo seguinte quadro: (7,12,16)

Reação	Acidez	Qualidade	Resultado
Rosa Claro cor tijolo	entre 16° a 21° Dornic	leite normal	Bom
Amarelo pardo vermelho	acima de 21° Dornic	leite ácido fermentado	Impróprio
Violeta, lilás	abaixo de 16° Dornic	leite alcalino anormal	Impróprio

7. Determinação da peroxidase

Para determinação aproximada da temperatura em que foi aquecido o leite, lança-se mão da pesquisa da "peroxidase".

Peroxidase vem a ser uma enzima que tem a propriedade de desdobrar a água oxigenada, dando oxigênio nascente e água: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{peroxidase} = \text{H}_2\text{O} + \text{O}$. Não deve ser confundida com a catalase, que também desdobra a água oxigenada, dando oxigênio molecular e água: $2\text{H}_2\text{O}_2 + \text{catalase} \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$. A origem dessa enzima no leite está nos leucócitos, que podem estar presentes mesmo em leite normal. Essa enzima é destruída quando o leite é aquecido a 70 ou 80°C, variando com o tempo de aquecimento^(7,39).

Spitzer e Tailor, citados por BEHMER⁽⁴⁾, estudaram a importância da temperatura em função com o tempo para destruir essa enzima:

62,4°C	2 minutos	não altera
70°C	5 minutos	45% destruída
85°C	2 minutos.....	92% destruída

O teor dessa enzima é variável com a estação do ano: é máximo na primavera e mínimo no verão. Variando mesmo em um só dia com a ordenha; o tempo do leite não a altera^(7,39).

Os processos de pasteurização, quando bem executados, apresentam sempre a reação de peroxidase positiva. Um leite com uma prova de peroxidase negativa é condenado para o consumo e não poderá ser empregado na fabricação de queijos⁽⁷⁾.

Devido à propriedade de oxidar com facilidade, certas matérias coradas, como guaiacol, parafenilenodiamina, hidroquinose, benzidina, etc., a peroxidase pode ser verificada, quando em presença de água oxigenada e um desses reativos⁽⁷⁾.

Processo prático - Juntam-se ao leite gotas de solução aquosa de guaiacol; o guaiacol é dissolvido primeiramente em uma pequena quantidade de álcool a 1% e duas a três gotas de água oxigenada. Quando o leite estiver frio, deve-se aquecê-lo a 40°C, mais ou menos. A reação é a seguinte:

Leite cru ou pasteurizado - cor de tijolo.

Leite alterado pelo aquecimento - cor branca.

O reativo de guaiacol deve ser recente e a água oxigenada ativa (nova). Para se ter uma idéia quantitativa, podem-se usar sempre partes iguais de leite e guaiacol e gotas de água oxigenada. Por meio de padrões ou colorímetro, avalia-se a quantidade aproximada de peroxidase^(7,39).

8. Prova de fosfatase

A fosfatase é uma enzima termo sensível, que está sempre presente no leite cru. A destruição da fosfatase pelo calor está em relação com a temperatura e o tempo de aquecimento. Pela variação da temperatura ou do tempo ou mesmo desses dois fatores, vamos observar um decréscimo até a destruição total dessa enzima^(7,12).

Quando o leite é aquecido em temperatura e em tempo ótimos para obtenção de uma efetiva pasteurização, observa-se que a fosfatase é totalmente destruída. Aproveitando-se dessa concordância, pode-se controlar a pasteurização pela presença ou ausência de fosfatase no leite. Assim, quando um leite acusar uma fosfatase negativa é porque ele foi efetivamente pasteurizado; no caso contrário, devemos suspeitar de uma relação tempo-temperatura insuficiente ou que houve mistura de leite pasteurizado com cru^(7,12,16).

Quando o leite com fosfatase é incubado com "fenil fosfato dissódico:", liberta fenol, cuja quantidade livre é determinada pelo método de colorímetro, com resultado bem próximo da real^(7,16).

Método de Kay e Gram - A prova de fosfatase, original de H.D. Kay e W.R. Gram, é a seguinte:

Reativos:

- (1) Solução tampão - Dissolve-se um tablete contendo "fenil fosfato sódico" (Buffer substrate tablets) em 50 ml de água fervendo. A solução é fervida durante um minuto e resfriada rapidamente (em água corrente).
- (2) Reativo - (Folin e Ciocalteus Regent). O reagente deve ser usado na diluição 1:2, 1 parte do reagente (1,5 ml) para duas de água (3 ml). Esse reativo deve ser protegido contra o pó e agentes redutores.
- (3) Solução aquosa a 14% de carbonato anidro (peso em volume).

9. Prova "lenta"

Esta prova é usada em laboratório de controle e é muito sensível, indicando a menor falha na execução da pasteurização^(7,16).

Técnica para a prova "lenta":

- (1) Tomam-se 5 tubos de ensaio com capacidade para 25 ml, com tampa de borracha;
- (2) Colocam-se em cada tubo 10 ml da solução tampão, 0,5 ml de leite e mistura-se completamente;
- (3) Adicionam-se 3 gotas de clorofórmio, agita-se e incuba-se a 37^o-38^oC por 24 horas no máximo;
- (4) Resfria-se (temperatura ambiente) e adiciona-se 4,5 ml do reativo, agita-se, esperam-se 3 minutos e filtra-se em tubos, marcando 10 ml;
- (5) Em 10 ml do filtrado adicionam-se 2 ml da solução de carbonato de sódio, agita-se, coloca-se em banho-maria (fervente) por 5 minutos e filtra-se novamente;
- (6) Verifica-se a cor do filtrado no comparador de Lovibond, colocando-se em uma cuba do aparelho a amostra a examinar e em outra, água destilada.

Tudo deve ser feito em duplicata.

10. Prova "rápida"

Esta prova pode ser executada em meia hora e serve para ver se o leite foi aquecido ou não e acusar os erros grosseiros na execução da pasteurização do leite. Em leite bem pasteurizado a coloração produzida não deve exceder 2,3 unidades azuis de Lovibond(7,39).

Técnica:

- (1) Em 10 ml da solução tampão adiciona-se 0,5 ml de leite, mistura-se completamente e leva-se ao banho-maria a 47°C por 10 minutos;
- (2) Retira-se o tubo do banho-maria e resfria-se a 15°C-20°C por imersão em água fria;
- (3) Adicionam-se 4,5 ml do reativo de Folin, mistura-se, esperam-se 3 minutos e filtra-se;
- (4) Em 10 ml do filtrado, adicionam-se 2-3 ml da solução de carbonato de sódio, mistura-se completamente e coloca-se o tubo em água fervente por 5 minutos e filtra-se outra vez;
- (5) Determina-se a cor do filtrado no comparador de Lovibond.

Esta prova deve ser realizada em duplicata e simultaneamente seguida de um teste de controle em duplicata(7,39).

11. Teste de Controle

- (1) Misturam-se 10 ml da solução tampão com 4,5 ml do reativo, espera-se durante 3 minutos e filtra-se;
- (2) Em 10 ml adicionam-se 2 ml da solução de carbonato de sódio, agita-se, coloca-se em banho-maria (fervente) por 5 minutos e filtra-se novamente. A cor produzida neste teste não deve exceder 1,5 unidades azuis de Lovibond. Pesquisa de fenol no material usado:

-Soluto de perclorato de ferro - coloração violácea.

-Hipoclorito de sódio e gotas de amônia-coloração azul^(7,39)

12. Determinação de cloretos

- Prova de Campo

Adicione 5 ml de nitrato de prata 0,1341 g em um tubo de ensaio.

A seguir adicione 2 gotas de cromato de potássio e 1 ml de leite e observe a cor formada.

Leite com teor de cloretos anormal, acima de 0,17g/100 ml dará coloração amarela.

Leite normal dará coloração entre laranja e marrom.

- Prova quantitativa

Pipete 10 ml de leite em um erlenmeyer de 300 ml.

Adicione a seguir com uma bureta 10 ml de nitrato de prata 0,1N

A seguir adicione 5 ml de ácido nítrico concentrado e leve ao fogo.

Em três vezes adicione um total de 15 ml de permanganato de potássio.

Tire do fogo, esfrie e adicione água destilada.

Coloque 10 gotas de indicador sulfato de ferro III e amônio e titule com tiocianato de potássio 0,1 N até que se forme uma coloração alaranjada.

Marque o volume de tiocianato gasto = L

Faça a seguir uma prova em branco com 10 ml de nitrato de prata 0,1 N, 5 ml de ácido Nítrico concentrado, indicador e titule com o tiocianato de potássio 0,1 N.

Faça a leitura na bureta = B

Faça o cálculo usando a seguinte fórmula:

$(B-L) \times \text{fator tiocianato} = \text{g de cloreto de sódio em 100 ml de leite.}$

No leite normal o valor máximo é: 0,17/100 ml, acima desse valor indica fraude ou caso de mastite.

12. Análise das Amostras de leite

12.1. Preparo das amostras e de suas diluições

Serão colocados, assepticamente, 11 ml do produto em um frasco de diluição, com rolha de borracha, contendo 99ml de água fosfatada esterilizada pH 7,2. Posteriormente proceder-se-á à

homogeneização da mistura que corresponderá à diluição inicial 10^{-1} . A partir desta diluição serão feitas diluições decimais de 10^{-2} a 10^{-6} , em frascos com rolhas de borracha, usando-se como diluente água fosfatada esterilizada pH 7,2. A solução diluente empregada será preparada de acordo com o ICMSF (1978)⁽³⁵⁾.

13. Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios ou facultativos viáveis (APHA, 1984)⁽³⁾

De cada diluição (10^{-1} a 10^{-6}) do leite a ser examinado serão transferidas 6 porções de 1 ml para o fundo de placas de Petri esterilizadas. Em seguida, serão vertidos sobre cada inóculo 15 ml de ágar glicose-extrato-de-levedo-triptona fundido e resfriado a 45°C . Com movimentos circulares, será feita a homogeneização da mistura e, após a solidificação do ágar, as placas serão incubadas.

Uma bateria de placas composta por duplicata de cada uma das diluições (10^{-1} a 10^{-6}) inoculadas será incubada à temperatura de 32°C por 48 horas, para a contagem de microrganismos mesófilos aeróbios ou facultativos viáveis (APHA, 1984)⁽³⁾.

Uma segunda bateria será incubada à temperatura de 7°C durante 10 dias para a contagem de microrganismos psicotróficos aeróbios ou facultativos viáveis (APHA, 1984)³, enquanto o terceiro conjunto de placas será incubado à temperatura de 55°C durante 48 horas para a contagem de microrganismos termófilos aeróbios ou facultativos viáveis (APHA, 1984)⁽³⁾.

Após os respectivos períodos de incubação, nas placas apresentando entre 30 e 300 colônias, serão realizadas as contagens de colônias, sendo estabelecida a média aritmética e este valor será multiplicado pela recíproca da diluição correspondente.

14. Determinação do Número Mais Provável (NMP) de bactérias coliformes totais (APHA, 1984³ e ICMSF, 1978)³⁵

Para esta determinação, de cada diluição do alimento em estudo, serão transferidos volumes de 1 ml, respectivamente, em 3 tubos de caldo lactose-verde brilhante-bile 2%, contendo um tubo invertido de Durham. A seguir, os tubos serão mantidos em estufa a 32°C por 24 e 48 horas e, se houver a presença de gás nos tubos de Durham, a prova será considerada positiva e serão anotados os números de porções positivas.

A determinação do NMP de bactérias coliformes totais será realizada a partir do número de porções positivas e com o auxílio da Tabela de Hoskins.

15. Determinação do NMP de coliformes fecais (APHA, 1984)⁽³⁾

Para estas determinações, serão utilizados os tubos positivos provenientes da prova para coliformes totais. A partir das porções positivas em caldo lactose-verde brilhante-bile 2% serão semeados, com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, tubos

correspondentes contendo caldo EC, com tubo invertido de Durham. A incubação destes tubos será feita em banho-maria a $44,5^{\circ}\text{C}$ +ou- $0,2^{\circ}\text{C}$ durante 24h +ou- 2 horas, sendo considerados positivos para coliformes fecais os tubos que se revelarem com a presença de gás no interior dos tubos de Durham.

A partir dos resultados obtidos, será registrado o número de porções positivas correspondentes a cada uma das séries examinadas. A seguir, será feita a determinação do NMP de bactérias coliformes fecais por 100 ml de leite, de acordo com o procedimento seguido para as bactérias coliformes totais, já descrito.

16. Contagem, isolamento e identificação de Staphylococcus aureus

Para esta contagem serão transferidos 0,2ml, de cada diluição do material a ser examinado, para a superfície de placas de Petri contendo ágar seletivo para S. aureus, segundo BAIRD-PARKER, sendo o inóculo espalhado em toda a superfície do meio com auxílio de um bastão de vidro em "L" esterilizado. Em seguida as placas serão incubadas à temperatura de 35°C durante 24 horas e 48 horas.

Após as primeiras 24 horas de incubação, serão selecionadas as placas que contiverem entre 20 e 200 colônias suspeitas de serem de S. aureus, ou seja, apresentando-se de cor negra, brilhantes, com zona de precipitação branca ao redor e circundadas por halo de transparência, que contrasta com o

restante do meio opaco. Estas placas serão reincubadas por mais 24 horas e contadas as colônias com as características descritas anteriormente. O número presuntivo de *S. aureus* por ml de leite será calculado multiplicando-se por 5 o número de colônias contadas e esse resultado multiplicado pela recíproca da diluição correspondente à placa de contagem. A confirmação deste resultado ou sua correção será efetuada após a identificação das colônias isoladas. Da placa de contagem serão isoladas de 1 a 5 colônias, as quais serão semeadas em tubos de ágar simples inclinado, seguido de incubação a 35°C por 24 horas^(2,5).

Identificação das cêpas isoladas - A partir das culturas em ágar simples inclinado, serão preparados esfregaços em lâminas que serão coradas pelo método de Gram, para a verificação das características microscópicas, morfológicas e tintoriais das cêpas isoladas. Quando se verificar culturas puras e se constatar a presença de cocos Gram-positivos agrupados em forma de cacho de uva, proceder-se-á à identificação bioquímica, através das provas de catalase, oxidação e fermentação da glicose, coagulase livre, desoxirribonuclease (DNase) e da termonuclease^(2,5).

Prova da Catalase (BAIR PD-PARKER, 1966) - As cepas serão semeadas em tubos de ágar simples inclinado, seguido de incubação a 35°C por 24 horas e a seguir, a cada tubo serão adicionados 1 ml da solução aquosa de água oxigenada a 3%. A prova será considerada positiva quando ocorrer o desprendimento de bolhas de gás.

Prova de oxidação e fermentação da glicose e do manitol

(F/O) (SUBCOMMITTEE ON TAXONOMY OF STAPHYLOCOCCI AND MICROCOCCI, 1965) - A partir de 24 horas a 35°C em ágar simples inclinado e com auxílio de uma agulha longa de níquel-cromo serão semeados em picada profunda, dois tubos contendo ágar glicose-púrpura de cromocresol para a prova de F/O da glicose e dois tubos de ágar manitol-púrpura de bromocresol para prova de F/O do manitol. Um dos tubos destinados à prova de fermentação será previamente mantido em banho-maria fervente por 15 minutos, seguido de resfriamento em banho de gelo. Neste tubo, após a identificação, o meio será adicionado de uma camada de óleo de vaselina esterilizado. O outro tubo será introduzido para a realização da prova em aerobiose segundo recomendação do BAIRD-PARKER (1966). Em seguida os tubos serão incubados a 37°C por até 5 dias e a leitura feita após 24 horas e incubação.

A utilização da glicose e do manitol em aerobiose (oxidação), em anaerobiose (fermentação) ou em ambas será constatada através da acidificação do meio.

Prova de coagulase livre (ZELANTE, 1974)

- Nesta prova, as bactérias em identificação serão semeadas em tubos contendo 10 ml de caldo infusão de cérebro e coração, estes, incubados a 37°C por 24 horas. A seguir, serão transferidos 0,25 ml destas culturas para tubos contendo 0,5 ml de plasma citratado de coelho, diluído a 1:5 em solução de cloreto de sódio a 0,85%. Estes tubos serão incubados à

temperatura de 37°C, sendo realizadas leituras de 2 em 2 horas até 24 horas. A prova será considerada positiva quando ocorrer a coagulação do plasma.

Prova da desoxirribonuclease-DNase (DISALVO, 1958)

- Na realização desta prova, as cêpas, em identificação, serão inoculadas, por picada profunda, em ágar DNase em placas. A incubação será feita à temperatura de 37°C por 24 horas, após as quais, a superfície do ágar será banhada com uma solução N/1 de ácido clorídrico e, logo em seguida, será feita a leitura da reação.

A prova positiva será caracterizada pela formação de uma zona de transparência ao redor da cultura, decorrente da produção de desoxirribonuclease pela bactéria.

Prova da Termonuclease-TNase (LACHICA e cols., 1971)?

- Para a realização desta prova serão depositados 3 ml de ágar DNA-azul de toluidina fundido, em lâmina de microscopia (26x76 mm), de forma a cobrir toda a superfície de um dos lados da lâmina. Após a solidificação do ágar serão feitos orifícios de, aproximadamente, 2 mm de diâmetro, com um cilindro metálico de borda cortante, adaptado a uma bomba de vácuo. Em seguida, as cêpas em estudo serão semeadas em caldo infusão de cérebro e coração e incubadas a 37°C por 24 horas. A seguir serão aquecidas em banho-maria fervente por 15 minutos, seguido de resfriamento em água corrente. Posteriormente, cada orifício do ágar será preenchido com a cultura. As lâminas serão

posteriormente colocadas em câmara úmida a fim de evitar a dessecação do ágar e incubadas a 37°C durante 4 horas. A prova será considerada positiva quando ao redor do orifício ocorrer um halo de cor rósea.

Verificação da capacidade produtora de enterotoxina estafilocócica pelas cêpas de S. aureus isoladas

Enterotoxinas e anti-enterotoxinas padrões - As enterotoxinas e anti-enterotoxinas padrões A,B,C,D e E utilizadas nas provas de imunodifusão serão as produzidas no "Food Research Institute" da Universidade de Wisconsin, Estados Unidos e gentilmente cedidas pelo Prof. Merlin Bergdoll. Esses reagentes são liofilizados e sua reconstituição será feita seguindo-se as instruções que os acompanham.

Depois de reconstituídos, os antígenos e soros padrões serão distribuídos em volumes de 0,5 ml em tubos de 12x120 mm esterilizados e conservados em temperatura de congelação.

Posteriormente, serão realizados os testes iniciais com os reagentes padrões diluídos em solução salina fosfatada, pH 7,3, contendo timerossal na proporção de 1:10.000, através de provas de imunodifusão em placas (ICMSF, 1978)⁽³⁵⁾.

Assim, serão estabelecidas as diluições dos reagentes a serem empregados nas provas de imunodifusão, realizadas com extratos obtidos a partir das cêpas de *S. aureus* isoladas.

Produção de enterotoxina estafilocócica pelas cêpas de *S. aureus* isoladas - Na produção de enterotoxina estafilocócica será utilizada a técnica de cultura em saco de celofane

preconizada por DONNELLY e cols. (1967), com base em estudos realizados por SIMKOVICOVA & GILBERT (1971).

Preparo dos frascos para produção de enterotoxina - Em um Erlenmeyer com capacidade de 30 ml será introduzido, com o auxílio de um bastão de vidro, um papel quadrado de papel celofane medindo 30cm de lado, de maneira a formar um saco no interior do erlenmeyer. Em seguida, será colocado no saco de celofane 50 ml de caldo de infusão de cérebro e coração, em concentração dupla, sendo a extremidade amarrada com um cordão fino. O saco de celofane colocado no fundo do Erlenmeyer será fixado ao gargalo do mesmo, sendo este tamponado com rolha de algodão. Este conjunto será esterilizado em autoclave a 120°C por 15 minutos.

Semeadura das cêpas de *S. aureus* isoladas e obtenção dos extratos - Cada cêpa de *S. aureus* identificada, será semeada em dois tubos contendo ágar infusão de cérebro e coração inclinado, sendo os mesmos incubados a 37°C por 24 horas. Após a incubação, o crescimento bacteriano será suspenso em 1 ml de solução salina fosfatada pH 7,3 e, posteriormente, as suspensões assim preparadas (2 ml) serão colocadas no fundo do frasco ao redor do saco de celofane. A seguir serão depositados, no frasco, 8 ml de solução salina fosfatada pH 7,3, resultando assim um volume final de suspensão de 10 ml. Em seguida, o frasco será incubado em estufa a 37°C por 48 horas. Após esse período, com auxílio de pipeta esterilizada, a suspensão será transferida para um tubo de centrífuga de 15ml de capacidade, procedendo-se à centrifugação a 4.200 rpm por 45 minutos, utilizando-se

centrífuga refrigerada. A seguir o sobrenadante (extrato) será decantado e transferido para um tubo esterilizado. Ao extrato será adicionado timerossal na proporção de 1:10.000 e, a seguir, mantido sob temperatura de congelação a cerca de -10°C , até ser utilizado nas provas de imunodifusão para a pesquisa de enterotoxina.

Pesquisa de enterotoxina nos extratos obtidos

Preparo das placas para a prova de imunodifusão (ICMSF, 1978) - Para a prova de imunodifusão serão colocados 3 ml de ágar, fundido e resfriado a 45°C , em placas plásticas com 6 cm de diâmetro. Após a solidificação do ágar, na borda da placa aberta, será encaixada uma matriz de acrílico com 7 orifícios circulares, sendo um central com 8,3 mm de diâmetro e seis periféricos, sendo quatro também de 8,3 mm de diâmetro e dois com 6,7 mm de diâmetro. A seguir, com uma bomba de sucção e dois tubos metálicos de bordas cortantes, com os diâmetros referidos, serão feitos, no ágar, orifícios correspondentes àquelas medidas.

Prova de imunodifusão para a pesquisa de enterotoxina nos extratos (ICMSF, 1978)⁽³⁵⁾ - Para a detecção nos extratos das enterotoxinas A,B,C,D e E serão usadas cinco placas, preparadas de modo já descrito. Assim, os orifícios centrais das cinco placas serão preenchidos com anti-enterotoxinas A,B,C,D e F, respectivamente. Os dois orifícios periféricos pequenos (6,7 mm de diâmetro), inferior e superior, de cada placa, serão preenchidos com a enterotoxina padrão, correspondente à anti-

enterotoxina do orifício central. Os quatro orifícios maiores periféricos (8,3 mm de diâmetro) serão preenchidos com extratos obtidos a partir das cêpas de *S. aureus* em estudo, utilizando-se, para cada cêpa, um orifício grande periférico de cada uma das cinco placas. As placas assim preparadas serão colocadas em câmara úmida e incubadas a 37°C durante 24 horas. Após a incubação, a superfície do ágar será banhada com solução de ácido ortofosfórico 0,1 M por 1 a 3 minutos, para realçar o precipitado e, em seguida, será lavada com água destilada. Para uma melhor visualização das linhas de precipitação, será utilizada uma iluminação fosforescente.

Havendo pesquisa de enterotoxina estafilocócica, utilizar a técnica descrita aqui.

17. Pesquisa de bactérias do gênero Salmonella (ICMSF, 1978) (35)

Para a pesquisa de bactérias do gênero *Salmonella* serão utilizadas 3 alíquotas de 25 ml de cada amostra de leite. Essas alíquotas serão colocadas em 3 frascos contendo cada um 225 ml de caldo de enriquecimento seletivo para *Salmonella*.

Um frasco conterá caldo selenito-cistina, que será incubado à temperatura de 35°C por um período de 48 horas. Os outros dois frascos conterão 225 ml, cada, de caldo tetracionato adicionado de 1,25 ml de solução de verde brilhante a 0,1% e de 2,5 ml de uma solução de iodo, sendo a incubação realizada à temperatura de 35°C e 43°C por 48 horas.

Após a incubação, a partir dos 3 frascos contendo caldo de enriquecimento e com o auxílio de uma alça de níquel-cromo, serão semeadas placas de ágar SS e ágar Vb, as quais serão incubadas a 35°C por 24 e 48 horas.

Isolamento e identificação bioquímica (ICMSF, 1978) (35)

- Após a incubação serão observadas as características morfológicas das colônias, nos meios semeados, e serão selecionadas de cada placa algumas colônias com características das bactérias não fermentadoras da lactose, as quais serão semeadas em ágar tríplice-açúcar-ferro e incubadas por 24 horas à temperatura de 35°C. As culturas que revelarem um comportamento bioquímico semelhante ao de *Salmonella*, caracterizado por produção de gás sulfídrico, fermentação da glicose, acompanhada de produção de gás e não utilização da lactose e sacarose, serão submetidas à série de provas bioquímicas de identificação, a saber: produção de desaminase da fenilalanina, urease, descarboxilase da lisina, fermentação de carboidratos, utilização do malonato e citrato, prova de motilidade, produção de indol e reação de VM-VP.

Prova da desanimação da Fenilalanina (ICMSF, 1978) (35)

- As células em estudo serão semeadas em tubos de ágar fenilalanina em posição inclinada. Logo em seguida os tubos serão incubados à temperatura de 37°C durante 24 horas, após as quais serão

adicionadas ao tubo 5 gotas de uma solução aquosa de cloreto férrico a 10%. A prova será considerada positiva quando a superfície do meio em contato com os reagentes adquirir coloração verde, denotando a formação de ácido fenilpirúvico a partir da fenilalanina.

Prova de urease (ICMSF, 1978) ⁽³⁵⁾ - As cêpas a serem testadas serão semeadas em tubos contendo meio de uréia e em tubos controle, sem uréia, os quais serão incubados à temperatura de 37°C, durante 24 horas. Os resultados serão considerados positivos quando o meio apresentar coloração rósea, indicando alcalinização pela presença de enzima, enquanto que os tubos controle permanecerão com a coloração amarela original.

Prova de descarboxilação da lisina (ICMSF, 1978) ⁽³⁵⁾

- As cêpas em identificação serão inoculadas em tubos contendo caldo glicosado e lisina e em tubos controle, sem lisina. Ambos apresentarão coloração púrpura antes de serem inoculados. Após a incubação à temperatura de 37°C durante 24 horas, a positividade da prova será dada pela presença da coloração púrpura nos tubos contendo lisina, enquanto que os tubos controle apresentarão coloração amarela.

Fermentação de carboidratos (ICMSF, 1978) ⁽³⁵⁾ - As cêpas em identificação serão inoculadas em tubos contendo, cada um, caldo vermelho de fenol adicionado dos respectivos açúcares a serem testados: glicose, lactose, sacarose e manitol. Em seguida, os tubos inoculados serão incubados à temperatura de 37°C durante

24 horas. A prova será considerada positiva quando ocorrer acidificação do meio, com consequente mudança do indicador do vermelho para amarelo. Na glicose, será observada também a produção de gás no respectivo tubo que contiver tubo de Durham invertido.

Prova da utilização do Malonato (ICMSF, 1978)⁽³⁵⁾ - As células em estudo serão semeadas em tubos contendo caldo malonato, em seguida, incubados à temperatura de 37°C durante 24 horas. A prova será considerada positiva quando ocorrer alcalinização do meio, evidenciada pela mudança de coloração do indicador de verde para azul.

Prova da Motilidade (ICMSF, 1978)⁽³⁵⁾ - As células a serem testadas serão semeadas, por picada, em tubos contendo ágar motilidade, adicionado de cloreto de trifeniltetrazólio, sendo os mesmos incubados, a seguir, a 37°C durante 24 horas. Após a incubação, a prova será considerada positiva se ocorrer crescimento bacteriano difuso ao longo da linha de semeadura. A solução de cloreto de trifeniltetrazólio facilita a visualização e a leitura do resultado, pois onde ocorre crescimento bacteriano a cultura mostra-se de cor vermelha.

As provas de produção de indol, utilização de citrato, vermelho de metila e Voges-Proskauer, serão efetuadas de forma idêntica à descrita para a identificação bioquímica de *E.coli*.

Provas sorológicas (EDWARDS & EWING, 1972) - Após a realização das provas bioquímicas, as células que se apresentarem

com características das de *Salmonella*, serão submetidas a provas de soro-aglutinação em placa de Huddleson para antígenos somáticos "O" e flagelares "H". Assim, a partir de culturas puras em ágar simples inclinado, incubado à temperatura de 35°C durante 24 horas, será preparada uma suspensão espessa, utilizando-se como meio diluente, solução salina a 0,85%.

Desta suspensão bacteriana serão depositadas 2 gotas, separadamente, na placa acima referida e, em seguida, a uma delas adicionar-se-á uma gota de soro polivalente "O" e, à outra, de soro polivalente "H", ambos anti-salmonelas. Paralelamente será realizada uma prova controle para se testar a auto-aglutinação da suspensão.

Será feita a homogeneização das misturas, imprimindo-se à placa movimentos circulares com leve inclinação para os lados, durante um minuto.

A prova será considerada positiva quando ocorrer formação de grumos na presença dos soros polivalentes. As cêpas, revelando-se positivas nas provas soro-aglutinação, serão posteriormente enviadas à Seção de Bacteriologia do Instituto Adolfo Lutz, da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, onde será realizada a identificação dos sorótipos de salmonelas isoladas.

A N E X O 2

PADRÕES LEGAIS BRASILEIROS PARA O LEITE

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA

Decreto Lei Federal 923, de 10/10/1969 e Decreto Federal 66.183, de 5/2/1970.

Leite Cru - sua venda, para consumo direto da população é proibida em todo o Brasil. No entanto, poderá ser permitida, em caráter precário, em localidades que não possam ser abastecidas permanentemente com leite beneficiado.

Decretos Federais 30.691, de 29/03/1952 e 1.255, de 25/06/1962.

LEITE TIPO	Nº de Germes P/ 1 ml (Art. 540, Parágrafo 2)		Teor de Coliforme (Art. 541)	Redução do azul de metileno (antes da pasteurização) (Art. 537)	Pasteurização e Distribuição (Art. 510)
	Antes da Pasteurização	Depois da Pasteurização			
A (Integral de - Granja)	< ou = 10.000	< ou = 500	ausência em 1 ml	> ou = 5 h	Pasteurização ime- diata após a orde- nha, local. Dis- tribuição dentro de 12 h ou de 18 h (<5º. C) após a ordenha.
B (Integral de Estábulo)	< ou = 500.000	< ou = 40.000	tolerância em 0,5 ml	> ou = 3:30 h	Pasteurização até 2 h após a chegada na usina. Distri- buição dentro de 24h após a chegada na usina.
C (padronizado)		< ou = 150.000	tolerância em 0,2 ml	> ou = 2:30 h	Pasteurização até 5 h após a chegada na usina. Distri- buição dentro de 24h após a chegada

ANEXO - 4

PADRÃO PARA DIAGNÓSTICO CMT-FATEC

Aparencia	Determinação	Diagnóstico
<p>A solução não apresenta precipitação ou apresenta ligeira precipitação que desaparece mediante pequena agitação:</p>	<p>Negativo (-)</p>	<p>Não há sinal de infecção</p>
<p>Apresenta precipitação mas o leite escorre com facilidade e não forma líquido gelatinoso:</p>	<p>Duvidoso (+ -)</p>	<p>Duvidoso: repetir o teste</p>
<p>Apresenta-se coagulado e o líquido ligeiramente viscoso:</p>	<p>Positivo (+)</p>	<p>Mastite</p>
<p>Apresenta partículas coaguladas e o líquido bem viscoso:</p>	<p>Positivo (++)</p>	<p>Mastite</p>
<p>Apresenta-se completamente coagulado e gelatinoso:</p>	<p>Positivo (+++)</p>	<p>Mastite</p>

M A P A S

REGIÃO DE SÃO PAULO

MAPA - 2