

# AVALIAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DO LEITE PRODUZIDO EM UMUARAMA (PARANÁ)

MILENE RIBEIRO DA SILVA \*  
JULIANA SACANAVACCA \*\*  
TATIANE KUKA VALENTE GANDRA \*\*\*  
FLÁVIO AUGUSTO VICENTE SEIXAS\*\*\*\*  
ELIEZER ÁVILA GANDRA \*\*\*\*\*

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite cru produzido em Umuarama (Paraná), mediante quantificação de *Pseudomonas* spp., de coliformes totais e termotolerantes em amostras de leite cru provenientes da Associação de Produtores. Propriedades produtoras de leite da região também foram avaliadas quanto aos procedimentos higiênicos adotados em visitas “in loco”, mediante aplicação de questionário tipo “*check-list*”. Para verificar a influência do armazenamento sob refrigeração inadequada na concentração de *Pseudomonas* spp. no leite cru realizou-se a enumeração desses micro-organismos logo após a ordenha (0h) e depois de 48 horas de armazenamento a 7°C. Observou-se diferença significativa ao nível de 5% nas concentrações de *Pseudomonas* spp. entre os tempos avaliados, comprovando que a refrigeração inadequada e prolongada contribui para o aumento da concentração desses micro-organismos. Verificaram-se contagens elevadas de coliformes totais e coliformes termotolerantes, indicando inadequação higiênico-sanitária das amostras de leite avaliadas. Também foram verificadas várias inadequações nas propriedades quando da aplicação do “*check-list*”, indicando deficiência da higienização na obtenção do leite. Tal resultado reforça a importância de se investir em programas de qualidade, daquela conscientização e treinamento para os produtores da região.

**PALAVRAS-CHAVE:** MICRO-ORGANISMOS; *Pseudomonas*; COLIFORMES; REFRIGERAÇÃO; LEITE CRU – CONTAMINAÇÃO.

- 
- \* Tecnóloga em Alimentos, Especialista em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Umuarama, PR (e-mail: mrsilva3@uem.br).  
\*\* Mestre em Microbiologia, Professora Assistente, UEM, Campus de Umuarama, Umuarama, PR (e-mail: scanavacca@uem.br).  
\*\*\* Engenheira de Alimentos, Mestranda em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, RS (e-mail: tkvgandra@yahoo.com.br).  
\*\*\*\* Doutor em Biofísica Molecular, Professor Adjunto, UEM, Campus de Umuarama, Umuarama, PR (email: favseixas@uem.br).  
\*\*\*\*\* Doutor em Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Professor Adjunto, UFPel, Departamento de Ciência dos Alimentos, Pelotas, RS (e-mails: eliezer.gandra@ufpel.edu.br; gandraea@hotmail.com).

## 1 INTRODUÇÃO

Denomina-se leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta em condições de higiene de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002).

O leite é considerado um dos alimentos mais nobres e importantes da dieta do ser humano, devido sua constituição rica em proteínas, gorduras, carboidratos, minerais e vitaminas.

FORSYTHE (2002) afirmou que os produtos lácteos são alimentos nutritivos, têm pH neutro e atividade de água que pode permitir o crescimento de agentes de doenças de origem alimentar.

O leite quando formado é completamente estéril, porém se contamina em seguida por bactérias que povoam os canais galactóforos. A secreção láctea pode iniciar a contaminação do leite antes de ser vertido para o meio externo. Após sua saída para o exterior, o leite fica exposto a contaminações por diferentes fontes e inúmeros tipos de micro-organismos (EVANGELISTA, 2003). A higiene da ordenha, o ambiente em que a vaca está alojada e os procedimentos de limpeza do equipamento e utensílios usados durante e após a ordenha são fatores que afetam diretamente a contaminação microbiana do leite cru (FAGUNDES *et al.*, 2006).

São igualmente importantes a temperatura e o período de tempo de armazenagem do leite, uma vez que esses dois fatores estão diretamente ligados à multiplicação dos micro-organismos presentes no leite (GUERREIRO *et al.*, 2005).

Buscando melhorar a qualidade do leite produzido no Brasil, mudanças no setor estão sendo implementadas com ênfase à refrigeração do leite na propriedade imediatamente após a ordenha e durante o transporte a granel. No entanto, a refrigeração permite o crescimento de micro-organismos psicrotróficos que se multiplicam bem nessas temperaturas (SANTANA *et al.*, 2001).

A refrigeração do leite por si só não garante sua qualidade. É extremamente importante que o leite cru seja obtido em condições higiênicas adequadas para diminuir a contaminação inicial. Dessa forma, a redução da temperatura poderá manter a contagem microbiana em níveis baixos. Nesse processo de conservação recomenda-se que na segunda hora após a ordenha a temperatura do leite esteja a 4°C, embora essa condição não controle a proliferação de micro-organismos psicrotróficos (FAGUNDES *et al.*, 2006).

Quanto maior for o tempo de estocagem sob temperaturas de sub-refrigeração (7 a 10°C) de leite com alta contagem inicial de micro-organismos, maiores serão as possibilidades de alterações no produto final (leite pasteurizado, leite ultra pasteurizado e queijos) pela ação de micro-organismos psicrotróficos, com predomínio do gênero *Pseudomonas* spp. (FAGUNDES *et al.*, 2006).

Dois grupos de micro-organismos que podem estar presentes no leite cru são: (1) os não patogênicos, mas que alteram as propriedades do leite pela elevada acidez ou pela produção de enzimas termotolerantes como, por exemplo, algumas bactérias psicrotróficas do gênero *Pseudomonas* spp.: *P. fragi*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. mendocina* e *P. synxantha*, entre outras (FAGUNDES *et al.*, 2006) e (2) aqueles potencialmente patogênicos, responsáveis pelas intoxicações alimentares, como a espécie *Staphylococcus aureus* e os coliformes termotolerantes, que são indicadores de possível contaminação de origem fecal sugerindo a presença de patógenos entéricos (MORAES *et al.*, 2005).

A deterioração do leite é consequência sobretudo do crescimento de micro-organismos psicrotróficos, produtores de lipases e proteases termoestáveis que não são desnaturadas durante a pasteurização. *Pseudomonas*, *Flavobactérias* e *Alcaligenes* spp. são produtoras de lipases que geram cadeias médias e curtas de ácidos graxos a partir dos triglicerídeos do leite. Esses ácidos graxos conferem aroma desagradável e sabor rançoso ao leite. As proteases são produzidas pelas *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia* e *Bacillus* spp. e hidrolizam as proteínas do leite, produzindo peptídeos que o fazem azedar. Altas contagens microbianas antes da pasteurização são indesejáveis, já que a ação residual das enzimas durante a estocagem resulta na redução da vida-de-prateleira do leite (FORSYTHE, 2002).

*Pseudomonas*, pertencentes à família das Pseudomonadaceae, apresentam células em forma de bastonetes retos ou ligeiramente curvos, com flagelos polares, são aeróbicas estritas e não formadoras de esporos Gram-negativas. As bactérias dessa família são catalases positivas e comumente oxidases positivas, que se encontram principalmente no solo, nas águas residuais e no ar. As bactérias do gênero *Pseudomonas* caracterizam-se por sua termolabilidade. Além das enzimas já citadas, produzem enzimas do tipo hidrolases que propiciam a catalização de reações químicas (C=O, C-N, C-C). As enzimas do grupo são: amilases, maltase, lipase, fosfatase, pectinoesterase, urease, pepsina, quimotripsina e tripsina (EVANGELISTA, 2003).

A aceitação do leite fluido por parte do consumidor depende das suas características sensoriais (como sabor e aroma), assim como do seu valor nutricional. Tais atributos podem ser alterados pela ação proteolítica e lipolítica de bactérias psicrotólicas, com prejuízos ao tempo de vida-de-prateleira e à qualidade do leite pasteurizado (GUERREIRO *et al.*, 2005). No entanto, devido à característica dessas enzimas de sobreviverem à pasteurização, a sua atividade lipolítica passa a ser importante, principalmente quando a contagem de psicrotóxicos ultrapassa  $10^6$  UFC/mL (GUERREIRO *et al.*, 2005).

Segundo EVANGELISTA (2003) alguns micro-organismos são usados como indicadores do estado higiênico-sanitário de produtos, instalações e dependências de fabricas. Como exemplo têm-se os coliformes termotolerantes e sua espécie mais importante, *Escherichia coli*, cuja presença indica a contaminação de origem fecal do alimento, produzida de forma direta ou indireta. Pode-se, então, inferir que a contagem de coliformes e não coliformes (*Pseudomonas* spp.) podem ser utilizadas como parâmetros para avaliar a qualidade do leite (FAGUNDES *et al.*, 2006).

O estado do Paraná, um dos principais produtores de leite do Brasil, tem na região noroeste importante bacia leiteira, porém com produtividade inferior à de outras localidades. O primeiro passo para melhorar a produtividade e qualidade do leite produzido nessa região é conhecer as deficiências do processo produtivo (FAGUNDES *et al.*, 2006).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica do processo de ordenha e do leite cru, proveniente de propriedades rurais da região de Umuarama/PR, mediante identificação e quantificação da presença de bactérias psicrotólicas do gênero *Pseudomonas* spp. e de bactérias do grupo coliformes e de origem fecal na produção primária do leite. As propriedades produtoras também foram avaliadas em visitas “in loco” e aplicação de questionário tipo “check list”.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 COLETA DE AMOSTRAS

Foram coletadas 33 amostras de leite na recepção do entreposto da Associação de Produtores da região da cidade Umuarama, no período de setembro de 2008 a julho de 2009, sendo 4 a 5 amostras de leite ordenhado no mesmo dia.

O leite chegava na recepção do entreposto acondicionado em latões de 50 L. Nos dias de coleta retiravam-se em média quatro amostras. O leite era agitado manualmente e alíquota de 100 mL era coletada em frasco estéril, acondicionado em caixa isotérmica e imediatamente encaminhado ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Campus Regional de Umuarama da Universidade Estadual de Maringá.

### 2.2 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

As amostras foram analisadas mediante contagem de coliformes totais e termotolerantes e quantificação de *Pseudomonas* spp. (DOWNES e ITO, 2001; SILVA *et al.*, 2007). Para a enumeração

de coliformes totais e termotolerantes utilizou-se a técnica do Número Mais Provável (NMP). A análise presuntiva de coliformes foi realizada em Caldo Lauril Sulfato de Sódio (LST), com incubação por 48 horas a 35°C. A enumeração de coliformes totais foi efetuada em Caldo Lactosado Bile Verde Brilhante, com incubação a 35°C por 24 a 48 horas. A enumeração de coliformes termotolerantes foi realizada em Caldo *Escherichia coli* (EC) com incubação a 45,5°C por 24 horas. A quantificação de *Pseudomonas* spp. foi efetuada no meio *Pseudomonas* Agar Base com adição do suplemento CFC-CAT FD 0366, com incubação durante 48 horas a 30°C.

Para a análise de *Pseudomonas* spp., alíquotas de 25 mL de todas amostras foram separadas e ficaram armazenadas por 48 horas em temperatura média de 7°C, simulando o período de refrigeração que comumente ocorre nas propriedades ou em laticínios de beneficiamento. Após esse período de armazenagem tais amostras também foram submetidas a quantificação de *Pseudomonas* spp.

### 2.3 QUESTIONÁRIOS TIPO "CHECK-LIST"

Para avaliação higiênica das propriedades elaborou-se questionário tipo "check-list", fundamentado na RDC n. 275, de 21 de outubro de 2002 que contém a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos (BRASIL, 2002).

O questionário foi elaborado com questões de simples escolha, focadas em temas relacionados às boas práticas de fabricação, com maior ênfase na higiene do local de ordenha, repouso dos animais, processo de ordenha manual ou mecânica, recipientes, latões de armazenamento, temperatura e tipo de refrigeração aplicada ao leite "in natura", ao animal e aos colaboradores que trabalham diretamente com a obtenção do produto.

Os questionários foram preenchidos durante visitas nas propriedades, selecionadas com auxílio da Associação de Produtores que recebe o leite dessas propriedades. Na Associação foram coletadas as amostras de leite para as análises microbiológicas de forma a representar as características de manejo e instalações mais frequentes na produção de leite da região. Foram selecionadas seis propriedades, sendo quatro que trabalham com ordenha manual e duas com ordenha mecânica.

As propriedades visitadas efetuavam ordenha duas vezes ao dia, uma pela manhã e outra no final da tarde.

### 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar se existiam diferenças significativas, ao nível de 5%, entre as propriedades rurais e as amostras avaliadas em relação à contaminação microbiológica constatada efetuou-se análise de variância (ANOVA) seguida do teste de Tuckey, utilizando o software Statistica 5.1 (STATSOFT INC., 1998), segundo os critérios propostos por Arango (2001).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

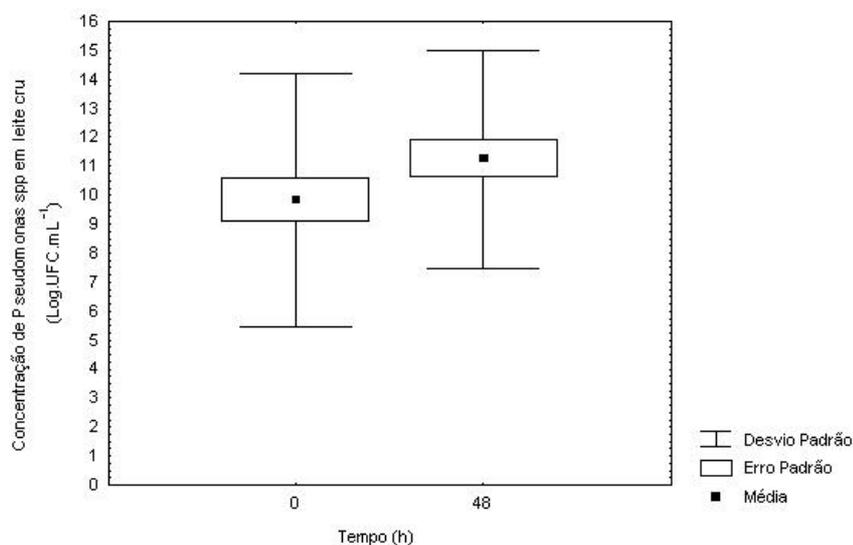
Como pode ser verificado na Tabela 1, as 33 amostras dos produtores foram analisadas quanto a quantificação de *Pseudomonas* spp., coliformes totais e coliformes termotolerantes imediatamente após a sua coleta (tempo zero ou 0h), sendo novamente submetidas à quantificação de *Pseudomonas* spp. depois de armazenamento por 48h.

**TABELA 1 - ENUMERAÇÃO DE *Pseudomonas* spp. EM DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO A 7°C E CONTAGEM DE COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES EM LEITE CRU**

Amostras	<i>Pseudomonas</i> spp. /0h (UFC.mL <sup>-1</sup> )	<i>Pseudomonas</i> spp. /48h (UFC.mL <sup>-1</sup> )	Coliformes Totais (NMP.mL <sup>-1</sup> )	Coliformes Termotolerantes (NMP.mL <sup>-1</sup> )
Produtor 01	3,6x10 <sup>5</sup>	8,0x10 <sup>4</sup>	>2400	39
Produtor 02	1,0 x10 <sup>4</sup>	2,7x10 <sup>5</sup>	150	23
Produtor 03	5,5 x10 <sup>6</sup>	3,3x10 <sup>6</sup>	460	23
Produtor 04	7,5x10 <sup>5</sup>	2,6x10 <sup>5</sup>	>2400	04
Produtor 05	1,1x10 <sup>3</sup>	4,5x10 <sup>3</sup>	240	15
Produtor 06	<1	5,0x10 <sup>2</sup>	39	<3
Produtor 07	2,1x10 <sup>3</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>	>2400	240
Produtor 08	5,0x10 <sup>2</sup>	5,6x10 <sup>2</sup>	<3	NA
Produtor 09	5,6x10 <sup>5</sup>	8,2x10 <sup>6</sup>	>2400	>2400
Produtor 10	9,7x10 <sup>5</sup>	6,4x10 <sup>6</sup>	>2400	04
Produtor 11	8,5x10 <sup>5</sup>	1,3x10 <sup>6</sup>	1100	15
Produtor 12	1,9x10 <sup>6</sup>	1,6x10 <sup>6</sup>	240	07
Produtor 13	1,9x10 <sup>3</sup>	2,0x10 <sup>3</sup>	23	<3
Produtor 14	7,5x10 <sup>5</sup>	2,3x10 <sup>6</sup>	>2400	240
Produtor 15	8,0x10 <sup>2</sup>	4,0x10 <sup>3</sup>	<3	<3
Produtor 16	4,3x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>1</sup>	23	23
Produtor 17	1,1x10 <sup>6</sup>	6,2x10 <sup>6</sup>	>2400	>2400
Produtor 18	3,5x10 <sup>4</sup>	1,6x10 <sup>4</sup>	43	09
Produtor 19	1,1x10 <sup>6</sup>	4,8x10 <sup>5</sup>	>2400	>2400
Produtor 20	7,5x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>4</sup>	460	93
Produtor 21	2,7x10 <sup>3</sup>	3,2x10 <sup>3</sup>	23	<3
Produtor 22	1,2x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>4</sup>	>2400	15
Produtor 23	<1	3,9x10 <sup>3</sup>	<3	<3
Produtor 24	7,0x10 <sup>2</sup>	1,4x10 <sup>3</sup>	23	<3
Produtor 25	9,4x10 <sup>5</sup>	1,1x10 <sup>6</sup>	>2400	>2400
Produtor 26	<1	4,6x10 <sup>2</sup>	23	09
Produtor 27	8,0x10 <sup>2</sup>	8,5x10 <sup>4</sup>	23	04
Produtor 28	2,3x10 <sup>2</sup>	2,1x10 <sup>3</sup>	<3	<3
Produtor 29	6,1x10 <sup>4</sup>	2,2x10 <sup>6</sup>	240	21
Produtor 30	1,1x10 <sup>6</sup>	1,0x10 <sup>7</sup>	>2400	09
Produtor 31	1,2x10 <sup>5</sup>	3,3x10 <sup>6</sup>	>2400	460
Produtor 32	5,7x10 <sup>5</sup>	1,6x10 <sup>5</sup>	>2400	43
Produtor 33	2,0x10 <sup>4</sup>	5,2x10 <sup>5</sup>	>2400	23

A contagem de *Pseudomonas* spp. no leite cru após 48h de refrigeração gerou média de 1,4 x10<sup>6</sup>UFC. mL<sup>-1</sup>, valor com um ciclo logarítmico maior que a média dos resultados do leite recém-obtido (5,1 x10<sup>5</sup>UFC.mL<sup>-1</sup>). FAGUNDES *et al.* (2006) relataram que as temperaturas e tempos de estocagem praticados por produtores rurais facilitam o desenvolvimento de bactérias psicrotóxicas, como é o caso de *Pseudomonas* spp.

Para que os resultados microbiológicos fossem submetidos a análise estatística, os valores das contagens foram logaritmizados (Figura 1).



**FIGURA 1 - MÉDIA, DESVIO-PADRÃO E ERRO PADRÃO PARA ENUMERAÇÃO DE *Pseudomonas* spp. EM LEITE CRU DE 33 PRODUTORES DA REGIÃO DE UMUARAMA (PR) EM DOIS PERÍODOS DE ARMAZENAGEM**

Verificou-se diferença significativa para a enumeração de *Pseudomonas* spp. entre os tempos de armazenagem (Figura 1) de 0h e 48 horas ( $p=0,02$ ). Isto comprova que a armazenagem do leite cru a 7°C por 48 horas possibilita aumento estatisticamente significativo no número de *Pseudomonas* spp.

SANTANA *et al.* (2001) salientam que contagens de psicotróficos superiores a  $5 \times 10^5$  UFC.mL<sup>-1</sup> são suficientes para promover alterações organolépticas sensíveis no leite e que a partir de  $10^6$  UFC.mL<sup>-1</sup> já permitem modificações no sabor, odor e consistência de leite e derivados. Neste estudo, os valores encontrados atingiram contagens de  $10^5$  em 0h e  $10^6$  em 48 horas de refrigeração.

GUERREIRO *et al.* (2005) relataram a importância da adoção de práticas higiênicas durante a ordenha como medida preventiva contra contaminações microbianas do leite, diminuição da sua carga bacteriana inicial e redução da possibilidade de infecções mamárias dos animais.

Em seus estudos, SANTANA *et al.* (2001) encontraram contaminações de psicotróficos nos tetos higienizados de  $1,0 \times 10^4$  UFC. Essa carga microbiana estava provavelmente associada às condições dos piquetes que, na maioria das vezes, apresentam grande quantidade de barro e pouco capim, facilitando a contaminação. Evidenciaram que as práticas de “pré-dipping” podem determinar redução de até 80% na contagem bacteriana total do leite, diminuindo também as contagens de micro-organismos psicotróficos. Esses autores comprovaram redução de 96,0% na contagem de micro-organismos psicotróficos dos tetos quando bem higienizados antes e após a ordenha. GUERREIRO *et al.* (2005) também demonstraram que as técnicas higiênicas foram eficazes na redução de micro-organismos em propriedades produtoras de leite.

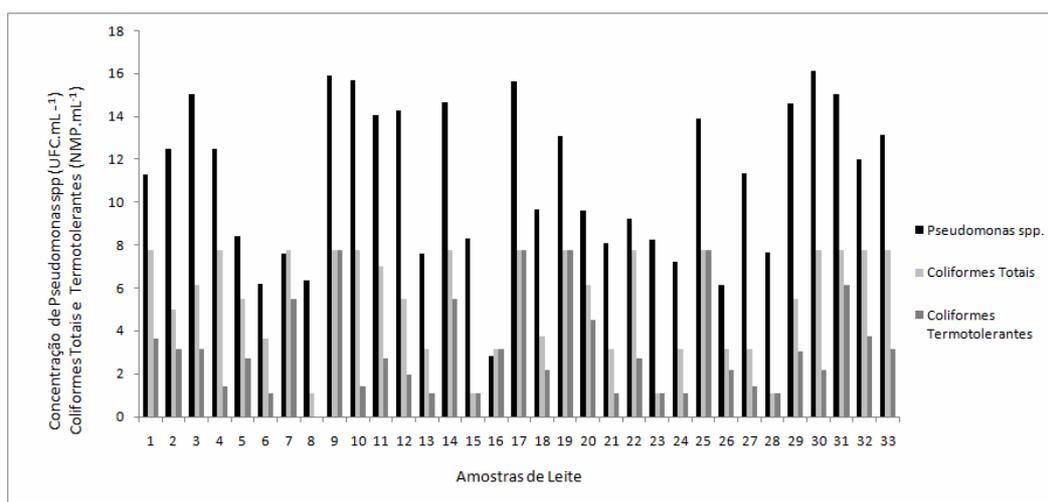
A contaminação por *Pseudomonas* spp. pode ser oriunda de outras fontes, como utensílios e latões usados na ordenha e armazenagem do leite. SANTANA *et al.* (2001) quantificaram  $10^6$  UFC de psicotróficos/cm<sup>2</sup> em superfícies de latões e  $2,6 \times 10^7$  psicotróficos/mL na água residual dos latões e dos tanques de refrigeração (tanques pulmão). Isto demonstra que se deve dispensar especial atenção à água utilizada nas propriedades rurais, pois estima-se que pelo menos 10% do total de bactérias do leite são provenientes da água residual dos equipamentos, podendo comprometer a qualidade do leite cru refrigerado.

Não foi verificada diferença significativa entre os produtores ( $p=0,07$ ) em relação à contaminação por *Pseudomonas* spp., provavelmente, porque todas utilizam práticas similares de higienização na ordenha e de armazenamento do leite.

Na maioria das amostras analisadas foi evidenciada a presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes, porém esses últimos em menor número. A legislação vigente somente estabelece valores máximos para coliformes termotolerantes em leite pasteurizado (BRASIL, 2001), com limites máximos de 4 NMP. mL<sup>-1</sup>. A presença desses micro-organismos nas amostras analisadas ressalta a ausência de cuidados com relação à higienização aplicada nas propriedades.

Para verificar se existia alguma relação entre a contaminação do leite cru nas diferentes propriedades por *Pseudomonas* spp., coliformes totais e termotolerantes realizou-se análise de correlação entre a contaminação do leite cru por esses micro-organismos. O coeficiente de correlação (R) encontrado foi de  $R=0,49$  indicando que praticamente não existe correlação entre *Pseudomonas* spp. e coliformes totais. As fontes de contaminação de um são provavelmente diferentes das do outro e as condições que favorecem o desenvolvimento de um não necessariamente favorecem o desenvolvimento do outro.

Na análise de correlação entre *Pseudomonas* spp. e coliformes termotolerantes, o valor encontrado ( $R=0,37$ ) indica que praticamente não existe correlação entre esses micro-organismos. Os valores encontrados para os três micro-organismos estão expressos na Figura 2.



**FIGURA 2 - CONCENTRAÇÃO DE *Pseudomonas* spp., COLIFORMES TOTAIS E TERMOTOLERANTES NO LEITE CRU DE 33 PRODUTORES DA REGIÃO DE UMUARAMA (PR)**

Os resultados das questões avaliadas mediante “*check-list*” aplicado nas propriedades visitadas estão expressos na Tabela 2.

Entre as propriedades visitadas, 66,7% dos produtores usavam ordenha manual e 33,3% ordenha mecânica. Verificou-se que a ordenha mecânica não significou a obtenção de leite de melhor qualidade microbiológica. GUERREIRO *et al.* (2005) destacaram que o nível tecnológico utilizado na ordenha não implica necessariamente em leite com melhor qualidade microbiológica, representando ainda mais um item a ser considerado como possível fonte de contaminação bacteriana. Era visível a presença de moscas e poeira nas propriedades com ordenha manual e os ordenhadores não usavam qualquer tipo de uniforme.

**TABELA 2 - CONDIÇÕES DE ORDENHA E ESTRUTURA DAS PROPRIEDADES PRODUTORAS DE LEITE DA REGIÃO DE UMUARAMA (PR)**

Condições verificadas	Sim (%)	Não (%)
Ordenha Manual	66,7	33,3
Ordenha Mecânica	33,3	66,7
Resfriamento na propriedade (refrigerador)	66,7	33,3
Resfriamento na propriedade (resfriador)	33,3	66,7
Estado do local de ordenha: (Bom)	100	0
Teste da mamite clínica (teste da caneca telada ou de fundo escuro)	16,7	83,3
Higienização dos tetos antes da ordenha (Pré-dipping)	50	50
Higienização dos tetos após da ordenha (Pós-dipping)	50	50

Em cerca de 66,7% das propriedades visitadas, o resfriamento do leite recém-ordenhado ocorria em refrigerador (4°C a 8°C) nos próprios latões de colheita, 33,3% em tanques de resfriamento e todos os produtores mantinham o leite refrigerado (4°C) até o outro dia quando obtido na parte da tarde. Em todas as propriedades visitadas, o estado dos locais de ordenha não foi considerado como crítico.

O teste da mamite clínica (teste da caneca telada ou de fundo escuro) foi observado apenas em uma das propriedades, representando fator preocupante. A prática de higienização dos tetos antes e após a ordenha (pré e pós-*dipping*) foi verificada em 50% das propriedades, mas dentre essas apenas duas aplicavam solução apropriada para higienização dos tetos. Outro fato preocupante, pois a boa higienização pré-ordenha (pré-*dipping*) colabora de maneira efetiva para diminuir a contaminação (FAGUNDES *et al.*, 2006). Nas demais propriedades visitadas, a higienização dos tetos era efetuada mediante lavagens simples com água e secagem ao natural, ou com papel absorvente tipo toalha, sem nenhuma solução higienizante. Segundo SANTANA *et al.* (2001), a prática de imersão dos utensílios em solução clorada reduz em 50% a contagem de psicrotóxicos, mostrando-se mais eficiente que o enxágue com jatos de água que apresenta redução de 28%.

Com este trabalho foram obtidos parâmetros a respeito da qualidade higiênica e microbiológica do processo de ordenha e do leite cru, proveniente de propriedades da região de Umuarama que carece de dados.

Verificou-se nível elevado de micro-organismos do gênero *Pseudomonas* spp. no leite cru recém-ordenhado (0h) e diferença significativa após 48 horas sob refrigeração. Tal fato poderia até não assumir relevância para o produto principal do entreposto que é leite pasteurizado e envazado em embalagens plásticas (barriga-mole) devido seu consumo ocorrer em tempo restrito. Mas a incidência de produção de enzimas termotolerantes decorrentes dessa contaminação afetaria diretamente a qualidade de outros produtos fabricados a partir desse leite.

Não foi possível observar clara correlação entre a contaminação do leite cru com os micro-organismos *Pseudomonas* spp. e coliformes totais e *Pseudomonas* spp. e coliformes termotolerantes. Os coeficientes de correlação encontrados nas análises indicaram que não há praticamente interrelação entre essas bactérias e que possivelmente as fontes de contaminação são distintas.

A elevada contaminação por micro-organismos do grupo dos coliformes totais e fecais indica grave deficiência na higienização e na sanidade do local de ordenha, dos colaboradores e dos animais, evidenciando a necessidade de readequação higiênica dos procedimentos adotados nessas propriedades.

A obtenção de produto de boa qualidade microbiológica está diretamente ligada à qualidade e cuidados com a higienização do local de ordenha, do colaborador, dos animais e dos utensílios. Assim, é de fundamental importância a implementação nessas propriedades de programas de boas práticas de produção, de investimentos por parte dos proprietários em métodos de higienização e de cursos de aperfeiçoamento para os produtores da região.

## 4 CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pela aplicação de questionário tipo “*check-list*” e da enumeração de *Pseudomonas* spp., coliformes totais e fecais foi possível concluir que as condições higiênicas sanitárias do leite cru refrigerado e das propriedades visitadas em Umuarama/PR são inadequadas, evidenciando a necessidade de readequação das práticas higiênicas na obtenção e conservação do leite na região.

## ABSTRACT

### HYGIENIC SANITATION EVALUATION OF THE MILK PRODUCED IN UMUARAMA/PARANÁ (BRAZIL)

This work was developed to evaluate the hygienic sanitation quality of raw milk produced in Umuarama (Paraná/Brazil) by quantification of *Pseudomonas* spp., total and thermotolerant coliforms in samples from an Association of Producers. Producing properties located at that region were also evaluated for hygienic procedures adopted on-site visits, through the application of a check-list questionnaire. To verify the influence of inadequate refrigerated storage on the concentration of *Pseudomonas* spp. in raw milk the enumeration of these microorganisms was carried out in the newly milked milk (0h) and after 48 hours of storage at 7°C. It was observed that there were significant differences at the level of 5% in the concentrations of *Pseudomonas* spp., between the time periods studied, demonstrating that inadequate and prolonged cooling contributes significantly to increase the concentration of microorganisms. There were high counts of total and fecal coliforms indicating inadequate sanitary conditions of the evaluated milk samples. The questionnaire applied at the producing properties also indicated deficiency of sanitation in the achievement of the milk. Such results reinforce the importance of investing in quality programs, awareness and training to the producers from that region.

**KEY-WORDS:** MICRORGANISMS; *Pseudomonas*; COLIFORMS; RAW MILK-CONTAMINATION.

## REFERÊNCIAS

- 1 ARANGO, H. G. **Bioestatística teórica e computacional com bancos de dados reais em disco**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara KooGan, 2001. 236 p.
- 2 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC n. 12, de 02 de Janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 7-E, p. 46-53, 10 Jan. 2001, seção I.
- 3 BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo A, do leite tipo B, do leite tipo C, do leite pasteurizado e do leite cru refrigerado e Regulamento técnico da coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 183-E, p. 13-22, 20 Set. 2002, seção I.
- 4 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução-RDC n. 275, de 21 de outubro de 2002. Regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos e a lista de verificação das boas práticas de fabricação em estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, n. 215-C, p. 55-58, 06 Nov. 2002, seção I.
- 5 DOWNES, F.P.; ITO, H. (ed.) **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>th</sup> ed. Washington: American Public Health Association (APHA), 2001. 676 p.
- 6 EVANGELISTA, J. **Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2003. 467 p.
- 7 FAGUNDES, C.M.; FISCHER, V.; SILVA, W.P.; CARBONERA, N.; ARAÚJO, M.R. Presença de *Pseudomonas* spp. em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. **Ciência Rural**, v.36, n.2, p.568-572, 2006.
- 8 FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002. 357 p.
- 9 GUERREIRO, P.K.; MACHADO, M.R.F.; BRAGA, G.C.; GASPARINO, E.; FRANZENER, A.S. M. Qualidade microbiológica de leite em função de técnicas profiláticas no manejo de produção. **Ciênc. Agrotec.**, v. 29, n. 1, p. 216-222, 2005.

- 10 MORAES, C.R.; FUENTEFRIA, A.M.; ZAFFARI, C.B.; CONTE, M.; ROCHA, J.P.A.V.; SPANAMBERG, A.; VALENTE, P.; CORÇÃO, G.; COSTA, M. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, n. 3, p. 259-264, 2005.
- 11 SANTANA, E.H.W.; BERTOLI, V.; BARROSA, M.A.F.; MORAES, L.B.; GUSMÃO, V.V.; PEREIRA, M.S. Contaminação do leite em diferentes pontos do processo de produção. I. Micro-organismos aeróbios mesófilos e psicrotóxicos. **Ciências Agrárias**, v. 22, n.2, p. 145-154, 2001.
- 12 SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 2007. 296 p.
- 13 STATSOFT INC. **Statistica 5.1 for windows, computer program manual**. Tulsa, 1998.