

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E RESÍDUOS
DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE
IN NATURA COMERCIALIZADO INFORMALMENTE
EM BROTAS, SP

FAUSTO BAPTISTA VILLA

Botucatu, SP

Julho 2007

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E RESÍDUOS
DE ANTIMICROBIANOS EM LEITE
IN NATURA COMERCIALIZADO INFORMALMENTE
EM BROTAS, SP

FAUSTO BAPTISTA VILLA

Dissertação apresentada junto ao Programa de
Pós-graduação em Medicina Veterinária para
obtenção do título de Mestre

Orientador: Prof. Ass. Dr. José Paes de A. Nogueira Pinto

Botucatu, SP

Julho 2007

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Villa, Fausto Baptista.

Qualidade físico-química, microbiológica e resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP / Fausto Baptista Villa. – Botucatu : [s.n.], 2007.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2007

Orientador: José Paes de A. Nogueira Pinto

Assunto CAPES: 50505009

1. Leite - Qualidade 2. Leite - Inspeção 3. Leite - Bacteriologia

CDD 637.10981

Palavras-chave: Leite informal; Leite *in natura*; Qualidade físico-química; Qualidade microbiológica; Resíduos antimicrobianos

COMPOSIÇÃO DA BANCA EXAMINADORA

Autor: VILLA, Fausto Baptista

Título: QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO, MICROBIOLÓGICA E RESÍDUOS DE
ANTIMICROBIANOS EM LEITE *IN NATURA* COMERCIALIZADO
INFORMALMENTE EM BROTAS, SP

Data: 25 de julho de 2007

BANCA EXAMINADORA

Prof. Ass. Dr. José Paes de A. Nogueira Pinto. Instituição: UNESP – FMVZ – Botucatu

Julgamento:_____ Assinatura_____

Prof. Ass. Dr. Germano Francisco Biondi. Instituição: UNESP – FMVZ – Botucatu

Julgamento:_____ Assinatura_____

Prof. Ass. Dr. Luciano dos S. Bersot. Instituição: UFPR – campus Palotina

Julgamento:_____ Assinatura_____

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. José Paes de A. Nogueira Pinto, pelo precioso conhecimento, pela oportunidade e apoio.

À minha esposa, Fernanda, pelo carinho e apoio.

Aos meus pais, pelo incentivo e força.

À Silvia Helena Gotardi, Karina Basso Santiago, Karina Amaral Ferreira, todos os funcionários, pós-graduandos e residentes do SOAP - Serviço de Orientação a Alimentação Pública.

Aos fornecedores das amostras e produtores de leite, essenciais para a realização deste projeto.

À bibliotecária Rosemary Cristina da Silva, pela atenção e auxílio prestado nas correções das referências bibliográficas.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Aos Doutores Germano Francisco Biondi e Luciano dos S. Bersot, pela colaboração no aprimoramento do trabalho.

RESUMO

VILLA, F.B. **Qualidade físico-química, microbiológica, e resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP.** 2007. 50f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Botucatu.

O trabalho teve como objetivo realizar uma avaliação físico-química, microbiológica, bem como pesquisar a presença de resíduos de antimicrobianos em amostras de leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP. Os resultados das análises físico-químicas revelaram que 13,6% de amostras encontravam-se fora do padrão legal para acidez, 7,4% para densidade, e 16,0% para o índice crioscópico, indicando adulteração pela adição de água ao produto. No tocante aos resultados das análises microbiológicas, 77,2% de amostras excederam o limite de $1,0 \times 10^6$ UFC/mL de leite para microrganismos mesófilos, dados indicativos de sérias deficiências na higiene do processo de ordenha, bem como na sua conservação, desde a obtenção até a sua comercialização direta ao consumidor. Quanto à pesquisa de resíduos de antimicrobianos, 6,0% de amostras mostraram-se positivas para o teste empregado (Delvotest®), resultado preocupante, já que além dos efeitos intrínsecos indesejáveis da presença de tais fármacos no alimento, é indicativo de que parte do leite é oriunda de animais que estavam ou estão sob tratamento com quimioterápicos em virtude de quadros de mastite clínica ou sub-clínica. Pode-se concluir que o leite é de má qualidade microbiológica, alvo de adulterações pela adição de água, representando um risco para os consumidores que o adquirem, já que não recebe nenhum tipo de tratamento e fiscalização.

ABSTRACT

VILLA, F.B. **Physical-chemical, microbiological quality, antibiotics residues in raw milk informally traded in Brotas, SP.** 2007. 50f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Botucatu.

The present work has the objective to evaluate the physical-chemical, microbiological and antibiotics residues in informal raw milk informally commercialized in Brotas, SP. The physical-chemical tests results showed that to the acidity test, with 13.6% samples, 7.4% for the density test, 16.0% for crioscopy test indicating water addition. The microbiological tests results showed to be the major quality problem with 77.2% exceeding the legal standards parameters of 1.0×10^6 UFC/mL of milk to mesophilic microorganisms, indicating hygiene deficiency in the production, conservation, since the milking to the trading. As the result of antibiotics residues research, 6.0% were positives to the used test (Delvotest®), a worried result, because, beyond the problems that the residues can cause by itself, it is indicative of an amount of the milk came from cows that were or still are under treatment with drugs to clinical or subclinical mastitis. It can be concluded that this type of product has poor microbiological, target of water addition, quality and can even represent a risk to the consumers health who buy it without any treatment or fiscalization.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Número de amostras analisadas, médias do teor de acidez (gramas de ácido láctico/100mL), menores e maiores valores encontrados.....	18
TABELA 2: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para acidez.....	18
TABELA 3: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras com valores menores que 0,14g e maiores que 0,18g de ácido láctico/100mL.....	19
TABELA 4: Médias, menores e maiores valores encontrados por produtor, para densidade (g/mL).....	20
TABELA 5: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para densidade.....	21
TABELA 6: Número de amostras analisadas por produtor, média, maiores e menores valores encontrados para Índice Crioscópico (°H).	22
TABELA 7: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para Índice Crioscópico.....	22
TABELA 8: Número de amostras analisadas, medianas, menores e maiores valores de contagem de microrganismos mesófilos em amostras de leite <i>in natura</i> comercializado informalmente em Brotas, SP.....	24
TABELA 9: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora de padrão para contagem de microrganismos mesófilos.....	25

TABELA 10: Distribuição das amostras em classe de acordo com a contagem de microrganismos mesófilos (UFC/mL).....	26
--	----

TABELA 11: Número de amostras com resultados positivos para detecção de resíduos de antibióticos e sua porcentagem em relação ao total de amostras analisadas (100) oriunda de cinco produtores de leite <i>in natura</i> comercializado informalmente em Brotas, SP.....	27
---	----

SUMÁRIO

Resumo	I
Abstract	II
Lista de tabelas	III
1. Introdução	3
2. Revisão bibliográfica	4
2.1 Leite clandestino	4
2.2 Hábitos de consumo	6
2.3 Contaminação por agentes microbiológicos	8
2.4 Resíduos de antimicrobianos	10
3. Objetivos	14
4. Material e Métodos	15
4.1 Colheita	15
4.2 Análises microbiológicas	15
4.3 Análises físico-químicas	16
4.4 Resíduos de antimicrobianos	17
5. Resultados e discussão	17
5.1 Análise físico química	17
5.1.1 Acidez	17
5.1.2 Densidade	20
5.1.3 Crioscopia	21
5.2 Contagem bacteriana total	24
5.3 Resíduos de antimicrobianos	27
6. Conclusões	29
7. Considerações finais	30
8. Referências bibliográficas	32

1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento universalmente conhecido pelo seu alto valor nutricional, fato este que, se por um lado o qualifica como um dos principais alimentos do homem, particularmente crianças e idosos, também o torna um produto extremamente perecível, capaz de alojar e servir como meio de cultura para inúmeros microrganismos (PONSANO et al., 2001).

Segundo Spreer (1991), um litro de leite por dia supre todas as necessidades protéicas de crianças com até seis anos de idade e mais de 50% do conteúdo de proteínas requisitado por adultos. O leite contém todos os nutrientes e biocatalizadores necessários ao desenvolvimento e à manutenção dos processos vitais. Em relação ao cálcio, o consumo de um litro de leite diário supre 100% das necessidades diárias desse mineral (FONSECA & SANTOS, 2000).

Devido às essas suas qualidades intrínsecas, o leite é um produto altamente perecível, exigindo grandes cuidados na sua obtenção e procedimentos tecnológicos adequados no seu processamento, para que sejam mantidas suas características de qualidade como alimento, desde sua produção até o consumidor final (BORGES & OLIVEIRA, 1988).

A produção de leite no Brasil tem sido crescente desde a década de 1980, com maior aceleração a partir de 1996. Neste período, o crescimento da produção foi de 131%. Em 2005, a produção estimada foi de 24,76 bilhões de litros, com produtividade de 1.189 litros/vaca/ano. Isto representou um crescimento, respectivamente, de 5,5% e 1,4%, em relação a 2004, cuja produção foi de 23,47 bilhões de litros, e a produtividade de 1.172 litros/vacas/ano (EMBRAPA, 2006).

Paralelamente a este aumento de produção do leite em nosso país, a comercialização do chamado leite informal ou clandestino ainda possui um espaço considerável no Brasil. Comercializado sem nenhum tipo de fiscalização, este produto pode ser alvo de várias adulterações, além de poder servir como veículo de agentes patogênicos ao homem. Em Brotas, importante pólo turístico de nosso estado, essa prática ainda ocorre rotineiramente, tornando importante a realização de estudos que avaliem as suas características microbiológicas, físico-químicas, bem como a pesquisa de resíduos de antimicrobianos. Tais dados poderão servir de subsídio para que as autoridades de fiscalização do município possam estabelecer políticas que alertem a população sobre os riscos a que está exposta ao adquirir este produto.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O leite clandestino

Apesar de todos os perigos advindos do seu consumo, relacionados mais adiante, de acordo com o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2004), de 35,6 a 42% do leite produzido no país entre 1998 e 2001 não foi inspecionado por nenhum órgão de controle federal, estadual ou municipal. Em Minas Gerais por exemplo, estima-se que 47% do leite consumido pela população seja oriundo da comercialização clandestina de leite cru (BRANDÃO, 1994).

Apesar da proibição legal imposta à comercialização do leite cru no Brasil (Lei nº 1.283 de 18/12/1950 e Decreto nº 30.691 de 29/03/1952), a venda deste tipo de leite tem sido realizada abertamente em diversas cidades do estado de São Paulo, inclusive para populações muitas vezes possuidoras de elevado nível socioeconômico e cultural (QUEIROZ, 1995).

Os números do leite informal são obtidos da seguinte maneira: o Brasil conta com 5.560 municípios, sendo que 645 estão no estado de São Paulo. Para coletar todos os dados do território brasileiro, o IBGE possui 515 agências espalhadas pelo país. Somente o estado de São Paulo conta com 100 agências coletoras, o que representa uma agência para 6,5 municípios. Essas agências são responsáveis pela coleta de todos os dados, ou seja, das pesquisas econômicas, sociais e agropecuárias, além dos censos para quantificação do número de habitantes do país. Em relação à agropecuária tem-se, por exemplo, a “Pesquisa da Pecuária Municipal” (PPM), que levanta, entre outras variáveis, o número de vacas ordenhadas no ano e a quantidade de leite produzido por município. É uma pesquisa realizada anualmente, de cunho subjetivo, uma vez que os produtores não são visitados de porta em porta, como é feito no Censo Agropecuário. Dessa maneira, os técnicos das agências do IBGE são os responsáveis por fazer e manter contatos com os produtores, técnicos, cooperativas e indústrias, com a finalidade de obter os dados. Nessa pesquisa, não há informação sobre qual o destino do leite, e sim, a quantidade total produzida. Desse modo, os dados obtidos referem-se às quantidades de leite formal, clandestino e de auto-consumo produzidas, sem distinção.

Outra importante pesquisa relacionada ao produto é a chamada “Pesquisa Trimestral do Leite” (PTL). Ela teve início em 1976, sendo coletada mensalmente até 1996. A partir de 1997 passou a ser trimestral. É uma pesquisa objetiva, baseada em um

cadastro de estabelecimentos, onde são catalogados todos aqueles que se dedicam à atividade de industrialização do leite e estão, obrigatoriamente, sob inspeção federal, estadual ou municipal. Sua finalidade é levantar informações sobre a quantidade de leite cru de vaca, resfriado ou não, entregue às indústrias, assim como a quantidade destinada à industrialização, inclusive pasteurização. Vale a pena enfatizar que os postos de resfriamento de leite estão fora do âmbito da pesquisa, para não gerar duplicidade na coleta dos dados. Desse modo, esta pesquisa reflete o “leite coletado formalmente” pelo setor e a sua publicação se dá por unidade da federação, ou seja, por estado. Para o cálculo do “Leite Informal”, uma possibilidade é subtrair do “leite produzido”, quantificado na Pesquisa da Pecuária Municipal (PPM), a quantidade de “leite formal”, definido pela Pesquisa Trimestral do Leite (PTL). Esse dado não é válido para cada estado, uma vez que o leite pode ser advindo de estados vizinhos (MEYER, 2004).

Embora a metodologia apresente falhas, os dados obtidos por estes levantamentos podem ser tomados como indicativos do volume do leite informal que chega ao mercado consumidor, seja na forma fluida ou na de derivados elaborados a partir dele.

Ainda que legislação brasileira determine há longo tempo, que todo o leite, para ser comercializado, deva sofrer um tratamento térmico prévio (BRASIL, 1980), observa-se a partir da década de 90 o crescimento do chamado “Leite Informal”, produzido e comercializado sem qualquer tipo de inspeção oficial e que não possui nenhum tipo de garantia de que sofreu processos de eliminação de agentes patogênicos (OLIVAL et al., 2002). É importante destacar que segundo Marinseck (2000), mesmo que legalizada, a comercialização deste tipo de leite só poderia ocorrer caso todo o rebanho bovino estivesse sob um rígido controle veterinário, livre de tuberculose, brucelose ou qualquer outra zoonose e doenças que afetam o estado geral do animal, condições estas que não existem no Brasil.

A prática de comercialização do leite cru possui raízes sociais e econômicas extremamente fortes, visto que em muitas regiões do país é a comercialização do leite, e ainda do queijo, de forma clandestina, que permite a sobrevivência de muitos pequenos produtores (RITTER et al., 2001).

Quanto ao valor nutricional do produto, não há evidências de que o leite cru seja mais nutritivo que o pasteurizado. A pasteurização causa pouco efeito nos níveis de cálcio, vitamina A, riboflavina, niacina, vitamina B₆ e biotina. Ainda é questionado pelos defensores do leite cru que as proteínas são alteradas pela pasteurização de uma

maneira que as tornam de difícil digestão. No entanto, o valor biológico destas é diminuído em torno apenas de 1%, quando o leite é pasteurizado (LUND, 1975).

Farina et al. (2000) comentam que a comercialização de produtos informais produz resultados negativos a todos os elos da Cadeia Agroindustrial do Leite, exacerbando um comportamento oportunista, quebrando as relações contratuais estáveis, comprometendo o preço final do leite e permitindo uma concorrência desleal, visto que os produtores não pagariam impostos e taxas referentes à produção e comercialização do produto.

Um dos requerimentos atuais da sociedade é a disponibilidade de alimentos seguros, saudáveis e nutritivos, sendo este uma responsabilidade de todos os segmentos que constituem a cadeia produtiva do leite, da produção primária à comercialização. O direcionamento de pesquisas relacionadas à qualidade do leite e da transferência de tecnologias para a sua produção, para que tais demandas sejam atendidas é compromisso institucional e social inquestionável. Esses dois processos têm, ademais, que levar em conta necessariamente, a questão da equidade social, de forma a beneficiar principalmente os produtores cujas atividades são desenvolvidas em bases familiares. Afinal, eles formam um grande contingente de pessoas ocupadas com a atividade leiteira do país, embora sejam responsáveis por pequena parcela da oferta global. Dar a eles condições de produção significa proporcionar-lhes ocupação nas propriedades e assegurar-lhes renda e, por consequência, melhor qualidade de vida (BRESSAN et al., 2004).

2.2 Hábitos de consumo

Curiosamente, a população que está cada vez mais consciente de seus direitos como consumidores e exigente com relação à qualidade dos produtos industrializados, perpetua o hábito de adquirir e consumir produtos alimentícios “caseiros”, como o leite de “carrocinha”. Isso pode ocorrer por várias razões: os consumidores pensam que o leite cru é mais saboroso e mais saudável por ser “natural”, acreditando ser isento de produtos químicos. Outros utilizam esse tipo de leite pela camada de gordura que se forma na superfície do produto para diversos fins, por ser mais barato e de maior disponibilidade em algumas áreas quando comparado ao leite pasteurizado. Muitas dessas suposições não são verdadeiras (PHILLIPS et al., 1975). Por esses motivos, o

controle e a fiscalização do leite são de extrema importância para o bem-estar da população que o consome (PONSANO et al. 2001).

Dentre os motivos que levam o consumidor a adquirir o leite cru, Olival et al (2002), em pesquisa realizada em Pirassununga, SP, com 630 consumidores entrevistados, lista várias delas, descritas a seguir.

A justificativa mais freqüente era a da comodidade na obtenção do produto, relatada por 31% dos entrevistados, dos quais, 55% adquiriam o leite diretamente de ambulantes. O mesmo era entregue diariamente na casa do consumidor, facilitando sua aquisição, associada, algumas vezes a um preço mais acessível, onde o consumidor ainda podia ter um crédito por todo o mês, e o valor acumulado poderia ser pago em uma só vez. De uma maneira geral ele desconhecia a agregação de valores advindos do processo de industrialização do produto.

O consumidor ainda acreditava que o leite cru era mais “forte”, produzia mais gordura, e o pasteurizado era “aguado” e “fraco”, quesito citado por 24% dos entrevistados na pesquisa. Havia referência ainda ao melhor sabor, sendo que 22% das pessoas citavam esta característica. Nesse ponto é importante frisar que a maior parte da população que consumia leite informal preferia consumir o produto com achocolatados ou com café e somente 38% afirmaram consumir o leite puro. Outro dado interessante do trabalho é que apenas 1% da população entrevistada comentou que a garantia de um alimento saudável estava relacionada ao logotipo da Inspeção Federal, Estadual ou Municipal, mostrando claramente a falta absoluta de informação sobre estes selos e os procedimentos de inspeção dos produtos de origem animal.

Segundo Brandão (1994), quando o consumidor adquire um litro de leite, ele está pagando pelo preço do produtor e pelas análises laboratoriais de controle de qualidade e também por todos os impostos e exigências da legislação. Esses valores estão embutidos na planilha de custo do leite pasteurizado. A omissão no fornecimento desses serviços, obrigatórios por lei, aumenta significativamente os lucros da indústria clandestina e torna economicamente viável a industrialização de pequenos volumes de leite.

O consumidor ainda desconhece o que é, como é realizada e os benefícios do processo de pasteurização do leite, acreditando que sejam acrescidos pela indústria, produtos químicos variados para conservação, desconhecendo também a potencialidade de veiculação de agentes patogênicos e de resíduos de antibióticos do leite em questão,

por afirmarem que seus pais e avós sempre consumiram esse tipo de produto e nunca tiveram problemas de saúde.

Mesmo havendo disponibilidade do leite beneficiado, este tipo de consumidor opta pelo leite cru, revelando falta de informação e conhecimento em relação ao produto em questão, podendo este hábito se estender a outros tipos de alimentos, sejam eles de origem animal ou não.

Por outro lado, há um apelo ecológico associado ao consumo do leite *in-natura*. No caso de Brotas, SP, isto é particularmente importante, já que o município, com cerca de 21.695 habitantes, e uma extensão territorial de 1.101 km² (IBGE, 2006), é considerado um importante pólo ecoturístico do estado de São Paulo, recebendo anualmente a visita de milhares de turistas. Estes muitas vezes de nível socioeconômico alto, optam por este tipo de leite, “direto da vaca”, por associarem à imagem de um produto mais natural, mais puro e conseqüentemente mais saudável, também desconhecendo a possibilidade da veiculação de doenças e resíduos de antimicrobianos. Ressalta-se ainda que a maior parte das atividades ecoturísticas, como visitas a rios e cachoeiras desenvolvidas no município se encontram na zona rural, em propriedades que ainda possuem atividade leiteira, facilitando o acesso ao produto. Para efeito ilustrativo, em Brotas atualmente, existem cerca de oito estabelecimentos classificados como “hotel fazenda” e cerca de setenta cachoeiras exploradas para o turismo, localizadas em diferentes propriedades rurais no município.

Ampliando-se ainda mais a questão, não há como negligenciar os problemas que uma parcela dos produtores vem tendo em se enquadrar nas novas diretrizes estipuladas pela Instrução Normativa nº51 (BRASIL, 2002), que vieram a se somar às difíceis negociações de preços do produtor com os laticínios. Como resultado, a venda do produto *in natura* diretamente ao consumidor aparece como uma alternativa economicamente viável, frente às dificuldades de adaptação para atender a legislação e à relação comercial com a indústria.

2.3 Contaminação por agentes microbiológicos

O leite de animais sadios, no momento da ordenha, deve apresentar uma microbiota benéfica constituída basicamente por *Lactobacillus* spp. e *Lactococcus* spp. Contaminações posteriores e indesejáveis podem acontecer nas etapas de manipulação do produto, podendo ser detectadas através das alterações nas características físico-

químicas e microbiológicas utilizadas para avaliar a qualidade sanitária e as condições de sua produção (HOFFMAN et al., 1994).

Vários patógenos podem contaminar o produto e causar doenças ao homem, particularmente se o leite for consumido cru ou na forma de derivados produzidos a partir dele (DONELLY, 1990; BOOR, 1997).

Assim, a qualidade do produto assume uma importância destacada também sob ponto de vista de saúde pública. No Brasil, onde sua obtenção se dá, geralmente, em más condições higiênicas, com contagens altas de microrganismos, este risco está bastante presente (CERQUEIRA & LEITE, 1995). Um levantamento realizado em 2000 com produtores da cidade de Pardinho (UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2000), quanto ao manejo higiênico da ordenha, revelou que 90% deles não o faziam de maneira adequada e que a mesma porcentagem dos ordenhadores não lavavam as mãos, em 70% das propriedades não se realizava a lavagem e desinfecção dos tetos das vacas, e em 95% delas, o pós-dipping também não era feito. Também constatou-se que em 5% das propriedades a lavagem do balde utilizado na ordenha era realizada apenas com água.

Com base nesses dados, pode-se ter um panorama da dimensão do problema do leite informal, pois há grande procura deste produto em nosso país, podendo os números do consumo ser encontrados na literatura acima de 30%, podendo atingir até 50% (ANUÁRIO MILKBIZZ, 1999; COSTA, 1999; FARIA & MATTOS, 1999).

Em muitas localidades do país, esta é uma prática comum e preocupante, que expõe o consumidor ao perigo de adquirir doenças como salmonelose, tuberculose, brucelose, infecções estreptocócicas, intoxicação estafilocócica e colibaciloses, entre as mais comuns (SANTOS, 1985; CERQUEIRA & LEITE, 1995; COSTA, 1999). A este respeito, a Organização Mundial da Saúde (OMS) comprovou a existência de sete enfermidades viróticas e dezesseis bacterianas veiculadas pelo leite e derivados (BRANDÃO, 1994).

Boor (1997) ainda relata como patógenos transmitidos pelo leite: enterobactérias (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia enterocolitica*), vibrios (*Campylobacter jejuni*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio cholera*), outros Gram-negativos (*Pseudomonas aeruginosa*, *Brucella* spp.), Gram positivas (*Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus zooepidemicus*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium* spp., *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium*

tuberculosis, *Mycobacterium paratuberculosis*), rickettsias (*Coxiella burnetii*), vírus (Enterovirus, Rotavirus e vírus da hepatite), fungos e protozoários (*Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Toxoplasma gondii*).

No tocante à contaminação do produto, as bactérias mesófilas predominam em situações de higiene deficiente na ordenha e ausência de resfriamento do leite. Nestas condições, os lactobacilos, estreptococos, lactococos e enterobactérias têm a capacidade de fermentar a lactose, o principal açúcar do leite, resultando em acidez aumentada do produto o que causa a coagulação da caseína, separando o leite em coágulo e soro (SANTOS, 2000).

Serra (2004) constatou que em Pardinho, SP, 70% das amostras de leite cru coletadas na plataforma de recebimento de laticínio, encontravam-se fora dos padrões estipulados pela nova legislação, a Instrução Normativa nº 51 (BRASIL, 2002), com 10^6 UFC de microrganismos mesófilos/mL da amostra.

Apesar do risco estar presente, dados com relação à doenças transmitidas pelo leite cru e seus derivados são inconsistentes, por falta de pesquisas direcionadas a este problema (FRANCO et al., 2003), e merecem ser melhor investigados.

A informalidade do produto possui um papel importante na etiologia de enfermidades, a exemplo do verificado em vários países, especialmente nos Estados Unidos, onde após implementação efetiva do processo de pasteurização no período pós-Segunda Guerra Mundial, observou-se uma redução drástica na disseminação de doenças transmitidas pelo leite e derivados, como relatado por Bryan (1983).

2.4 Resíduos de antimicrobianos

Segundo Furtado (1999), resíduos de antimicrobianos podem ser encontrados no leite por introdução voluntária fraudulenta, para prolongar a durabilidade do produto ou por via indireta, oriunda do tratamento terapêutico de vacas em lactação com a utilização do leite destes animais para consumo humano antes do término do período de carência necessário, após a última aplicação do fármaco. Este fato revela um manejo inadequado da antibioticoterapia de vacas em lactação, particularmente quando empregado no tratamento de mastites.

Estas infecções, de grande importância no contexto da saúde animal e pública, mesmo que subclínicas, influenciam grandemente a composição do leite, sendo que o principal efeito é a diminuição das concentrações de gordura, lactose e caseína e o

aumento no conteúdo de proteínas do soro e cloretos. Estados mais avançados de infecção resultam em um leite com composição química bastante diferente do normal. A mastite bovina é uma doença multifatorial, de etiologia complexa e variada e se encontra disseminada por todas as regiões produtoras de leite. A maioria das infecções tem origem bacteriana, predominando o *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae* como agentes etiológicos (PELCZAR et al., 1996).

Também para Santos (2000), a principal causa de ocorrência de resíduos de antimicrobianos no leite é o tratamento da mastite, devido a vários fatores como:

1. Não observância do período de carência do antimicrobiano;
2. Erro na identificação dos animais tratados ou na anotação dos dados do tratamento;
3. Uso de fármacos em diferentes dosagens ou diferentes esquemas de tratamento para qual o período de carência foi estabelecido;
4. Descarte de leite apenas do quarto tratado;
5. Vacas que tem partos antecipados e curtos períodos secos;
6. Uso e produtos de vacas secas para tratamento de vacas em lactação;
7. Ordenha acidental de vacas secas;
8. Erro durante a ordenha e mistura de leite com e sem resíduos.

Segundo Miniussi (1992), além do tratamento clínico dos animais, os antibióticos também podem ser incorporados na alimentação dos mesmos como suplemento dietético. Qualquer que seja seu emprego, na terapêutica ou como aditivo, a sua utilização sem controle pode resultar em resíduos nos alimentos, representando um problema sério na área econômica e de saúde pública (MINIUSSI, 1992).

No Brasil estipulava-se, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), um prazo mínimo de 72 horas para o aproveitamento de leite de vacas tratadas com antimicrobianos. Entretanto, o tempo de eliminação da droga depende da via de inoculação, da dosagem, do estado fisiológico da glândula mamária e do tipo de fármaco aplicado, alcançando às vezes até 141 horas (FAGUNDES, 1978). Mais recentemente, no entanto, o MAPA optou por alterar essa obrigatoriedade de tempo entre a aplicação e o aproveitamento do produto, estipulando ao invés disso, limites para resíduos que podem ser encontrados no leite, limites estes fixados internacionalmente (BRASIL, 2002).

Os efeitos negativos dos resíduos no produto são identificados pela indústria de laticínios, onde as culturas iniciadoras usadas na fabricação de derivados como iogurtes e queijos, não se desenvolvem bem em leite com resíduos de antimicrobianos.

Em relação aos consumidores, a ingestão de leite com resíduos pode representar risco de ocorrência de reações alérgicas, principalmente à penicilina e seus derivados. Estas reações podem se manifestar como urticárias, dermatite e sintomas respiratórios como asma e rinite. Além dos riscos de reações alérgicas, alguns fármacos podem apresentar ação cancerígena, como os nitrofuranos e o cloranfenicol, os quais comprovadamente podem aumentar a frequência desta patologia em animais de laboratório, e desta forma, representam um risco em potencial. Ainda que seja um assunto não totalmente esclarecido, a presença de resíduos de antimicrobianos também pode, segundo alguns pesquisadores, favorecer o aparecimento de cepas microbianas resistentes a essas drogas. Esta resistência, por sua vez, pode dificultar o tratamento de infecções que o consumidor venha a contrair (SANTOS, 2000).

Resíduos de tais drogas também podem causar desequilíbrio da microbiota intestinal, principalmente em crianças com idade inferior a um ano; discrasias sanguíneas associadas ao cloranfenicol; ototoxicidade; potencial efeito teratogênico, como alterações no desenvolvimento ósseo fetal decorrente do consumo por gestantes, de substâncias como o metronidazol, a rifampicina, o trimetoprin, a estreptomicina e a tetraciclina (COSTA, 1996).

Assim sendo, a ocorrência de resíduos de antimicrobianos nos alimentos, particularmente no leite, tem sido objeto de preocupação constante por parte das organizações sanitárias pelos efeitos tóxicos destes compostos sobre a saúde humana, além da possibilidade de favorecer o desenvolvimento de formas de resistência de microrganismos patogênicos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990). Por este motivo, recomenda-se o monitoramento freqüente de resíduos de medicamentos e seus derivados metabólicos nos alimentos, adotando-se, como referência, os limites estabelecidos através de agências internacionais (BOECKMAN & CARLSON, 1997).

Nas últimas décadas foram desenvolvidas diversas metodologias analíticas para a detecção rápida de resíduos de drogas antimicrobianas no leite. Essas técnicas encontram-se disponíveis no mercado sob forma de conjuntos de reativos prontos para uso em condições de campo. Os “kits” foram inicialmente desenvolvidos para utilização em plataformas de recebimento de leite em usinas, porém têm sido aplicados também em propriedades rurais para verificar a presença de resíduos no leite armazenado nos

tanques ou proveniente de vacas mantidas sob tratamento com antibióticos (ANDREW, 1997).

Na pesquisa de resíduos de drogas, muitos métodos têm sido usados, baseando-se na inibição do crescimento de microrganismos, métodos imunológicos e enzimáticos, cromatografia gasosa, em camada delgada e líquida de alta pressão (KANG & KONDO, 2001).

Na triagem de resíduos de antimicrobianos em leite, são mais comumente usados os testes de inibição microbiana e os testes rápidos específicos para substâncias ou grupos de substâncias (REYBROECK, 1995). O método de inibição microbiana é o mais utilizado em virtude do custo e da capacidade de evidenciar uma ampla gama de drogas (BARBERIO & SIGNORINI, 1996).

Testes imunoenzimáticos que empregam a técnica de ELISA (*Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay*) também têm sido bastante empregados. Entre as vantagens deste método, destacam-se a rapidez e a simplicidade de execução, maior especificidade para determinados antibióticos e possibilidade de detecção de outros quimioterápicos, além de antibióticos (CORASSIM & OLIVEIRA, 2000).

A Food and Drug Administration - FDA (1999) estabeleceu conceitos importantes no entendimento e avaliação do uso de testes para detecção de resíduos (CULLOR et al., 1994), definindo como resultado verdadeiramente positivo aquele onde a amostra possui concentração de droga igual ou maior ao nível de tolerância ou segurança estabelecido.

Quanto aos testes comercialmente disponíveis para a aplicação a campo, estes são, na sua maioria, qualitativos ou semi-quantitativos, sendo conhecidos como testes de triagem. Existe entre eles uma variação quanto à classe de antimicrobianos detectável, sensibilidade e tempo de execução (MITCHEL et al., 1998). De acordo com o protocolo desenvolvido para avaliação destes testes, o padrão de seletividade requer que o teste identifique corretamente, com 95% de confiança, leite que contenha resíduos em 90% das amostras (90/95). Quanto ao padrão de sensibilidade, o teste deve detectar leite com resíduos de antibióticos no limite de tolerância/segurança em 90% das vezes, com 95% de confiança (BRITO, 2003).

Entre os testes de triagem mais comumente utilizados destaca-se o Delvotest[®]. Embora vários autores tenham relatado enfaticamente a ocorrência de resultados falso-positivos, este teste tem sido amplamente utilizado individualmente em vacas e seu uso

está, inclusive, recomendado no programa de segurança da qualidade do leite e da carne existente nos EUA (CULLOR et al., 1994).

O Delvotest[®] é um teste rápido baseado na inibição do crescimento e da produção de ácido por *Bacillus stearothermophilus* variedade *calidolactis*. Na presença de resíduo de drogas, a cor púrpura original do indicador de pH não se altera. É um teste simples, sensível e relativamente rápido, quando comparado a outros. Seu uso está aprovado pela Association of Official Analytical Chemist (AOAC) desde 1982 (CULLOR et al., 1994).

Para alguns pesquisadores, entretanto, os métodos que empregam princípios de inibição microbiana, como o Delvotest[®], apresentam certas desvantagens, pois necessitam de equipamentos e conhecimento técnico especializado para sua execução; além disso, os resultados não são imediatos e a interferência de outras substâncias pode provocar resultados falso-positivos (ANDREW et al., 1997).

No Brasil o seu custo é bem inferior quando comparado a de outros sistemas comerciais encontrados no mercado, especialmente aqueles que empregam a técnica de ELISA. Nesse sentido, pode funcionar como teste de triagem, com as amostras detectadas como positivas sendo submetidas a análises posteriores mais sofisticadas para confirmação do resultado, caso haja interesse.

De maneira geral, a maioria dos países estabelece em suas legislações sanitárias, regulamentação para o uso de antimicrobianos na pecuária, definindo os limites máximos de resíduos (LMR) nos alimentos de origem animal. Estes limites são instituídos de acordo com as recomendações do CODEX ALIMENTARIUS (1993), podendo ser inferiores aos recomendados se houver justificativa para tal decisão (FAURE, 1998). No Brasil, tais limites constam do Programa Nacional de Controle de Resíduos Biológicos em Produtos de Origem Animal (PNCRB) do MAPA (BRASIL, 2002).

3. OBJETIVO

Tendo em vista a importância do leite como alimento consumido por ampla faixa da população e os perigos advindos de sua comercialização *in natura*, o trabalho tem como objetivo:

Avaliar a qualidade físico-química, microbiológica e resíduos de antimicrobianos no leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Colheita

Um total de 162 amostras de leite *in natura* comercializados nas ruas da cidade de Brotas foram colhidas de consumidores, os quais foram escolhidos sob o seguinte critério: priorizou-se consumidores que adquiriam o produto há longo tempo e que consentiram em fornecer as amostras em anonimato, para que não fosse interrompido o fornecimento das amostras durante a realização do experimento. Outro fator importante foi a escolha de consumidores que compravam leite de diferentes produtores, apenas para que não houvesse repetição das amostras. O horário da coleta variou de acordo com cada produtor, que passava entregando leite na porta dos consumidores em dias fixos da semana, em garrafas descartáveis de refrigerantes, ou em latões, sendo colocados em recipientes com o auxílio de canecas. Nem sempre esses horários eram os mesmos todos os dias.

As amostras foram colhidas semanalmente imediatamente após a sua aquisição pelo consumidor, sendo transferidas para frascos de 500 mL, estéreis, mantidas resfriadas em refrigerador doméstico (aproximadamente 8°C) por volta de 12 horas, quando então eram encaminhadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável até o laboratório de pesquisas da disciplina de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu para análise laboratorial.

4.2 Análises microbiológicas

4.2.1 Contagem de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis

A partir de 1 mL de cada amostra foram preparadas diluições seriadas (10^{-1} a 10^{-9}), empregando-se como diluidor água peptonada (0,1%) (Oxoid-cód. 216907), previamente esterilizada. Em seguida, 1mL das diluições seqüenciais foram transferidas para placas de Petri, vertendo-se a seguir, 15mL de Ágar Contagem Padrão (ACP) (Merck Germany 1.05463), previamente fundido e mantido em banho-maria a 45°C. Após a homogeneização, as placas foram incubadas em estufa a 32°C por 48 horas para

contagem de colônias. O número de colônias contadas foi multiplicado pelo fator de diluição correspondente, e o resultado obtido expresso em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)/mL de leite.

Todas as análises microbiológicas foram realizadas segundo as normas preconizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003).

4.3 Análises físico-químicas

4.3.1 Acidez

Uma alíquota de 10 mL de cada amostra foi transferida para um béquer de 100 mL, não estéril, sendo a seguir adicionadas 3 a 4 gotas de fenolftaleína a 1%. Procedeu-se então à titulação do leite com uma solução de NaOH 0,1N até o aparecimento de uma coloração levemente rósea. A acidez foi expressa em gramas de ácido láctico/100mL.

4.3.2 Densidade

Uma alíquota de 300 mL de cada amostra foi transferida para uma proveta de 500 mL, sendo a seguir determinada a densidade do produto através de um termolactodensímetro de Quevene. Leituras realizadas em temperaturas diferentes de 15°C foram ajustadas com o emprego de uma tabela de correção conforme preconizado pela técnica, e o resultado dado em g/mL.

4.3.3 Índice Crioscópico

Uma alíquota de 2,5mL de cada amostra foi transferida para tubos de vidro próprio, sendo os mesmos colocados no crioscópio marca ITR (modelo MK540) para determinação do índice crioscópico (IC) do leite. Antes da determinação do IC procedeu-se à calibração do aparelho conforme recomendações do fabricante.

Todas as análises físico-químicas foram realizadas seguindo as técnicas preconizadas e descritas nos métodos analíticos oficiais, para controle de leite e produtos lácteos (BRASIL, 2003).

4.4 Resíduos de antimicrobianos

Para realização desta análise utilizou-se o “kit” Delvotest® SP/SP Mini (DSM Food Specialties Ingredients, Holand), mantido sob refrigeração a 8°C até o momento de sua utilização. O “kit” é comercializado na forma de ampolas contendo cada uma delas um agar com um número padronizado de *Bacillus stearothermophilus* var. calidolactis, nutrientes para o desenvolvimento do microrganismo e um indicador, púrpura de bromocresol.

A cada ampola teste (num total de 100) transferiu-se, com o auxílio de uma seringa descartável (fornecida pelo fabricante) uma alíquota de 0,1 mL da amostra. A ampola foi então incubada em banho-maria a 64°C por 3 horas. Finalizada a incubação, realizou-se a leitura dos resultados, pela observação da coloração do agar (observada nos 2/3 inferiores): amarelo: amostra negativa, indicando a ausência de resíduos de antimicrobianos; amarelo/roxo: , resíduos dentro dos limites de detecção do teste; roxo: quando a quantidade de resíduos detectada é igual ou maior que o limite de detecção do teste.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos testes realizados para as amostras dos 5 produtores de leite *in natura* comercializado de maneira informal em Brotas, SP, foram:

5.1 Análises Físico-químicas

5.1.1 Acidez

A acidez média, bem como os menores e maiores valores dessa variável podem ser observadas na tabela 1:

Tabela 1: Número de amostras analisadas por produtor, médias do teor de acidez (gramas de ácido láctico /100ml), menores e maiores valores encontrados:

Produtor	Nº de amostras	Média	Menor valor	Maior valor
A	26	0,17	0,14	0,19
B	38	0,16	0,14	0,19
C	37	0,15	0,13	0,17
D	30	0,16	0,14	0,20
E	31	0,16	0,13	0,19

Ainda em relação à acidez, o número e porcentagem de amostras fora do padrão estabelecido pela legislação brasileira, (BRASIL, 2002), isto é, valores de acidez menores de 0,14g e maiores que 0,18g, para cada um dos produtores avaliados, podem ser avaliados na tabela 2 e 3.

Tabela 2: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para acidez:

Produtor	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem(%)
A	26	5	19,2
B	38	5	13,1
C	37	6	16,2
D	30	1	3,3
E	31	5	16,1
TOTAL	162	22	13,6

Tabela 3: Números de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras com valores menores que 0,14g e maiores que 0,18g de ácido láctico/100mL:

Produtor	Nº de amostras	Menores que 0,14	Maiores que 0,18
A	26	1 (3,8%)	3 (11,5%)
B	38	0 (0,0%)	5 (13,1%)
C	37	6 (16,2%)	0 (0,0%)
D	30	0 (0,0%)	1 (3,3%)
E	31	3 (9,7%)	2 (6,4%)
TOTAL	162	10 (6,2%)	11 (6,8%)

Com relação à acidez do leite, os valores considerados regulamentares estão entre 14g a 18g de ácido láctico/100mL (BRASIL, 2002). Valores baixos de acidez, ou seja, menores que 14g de ácido láctico/100mL, podem ser decorrentes basicamente de três fatores, sendo estes: diminuição dos sólidos totais, casos de mastite e ainda de fraude por adição de água (RODRIGUES et al, 1995).

Por outro lado, valores elevados de acidez, acima de 0,18g de ácido láctico/100mL, são normalmente oriundos da fermentação da lactose pela microbiota mesofílica, com a produção de ácidos orgânicos, com destaque para o ácido láctico, condição indicativa de más condições higiênico-sanitárias na produção e/ou estocagem do produto em temperatura inadequada por períodos prolongados de tempo (RODRIGUES et al, 1995).

Nas 10 amostras com valores menores que 0,14g de ácido láctico/100mL, cabe a hipótese de que possam ter ocorrido algum ou todos os fatores anteriormente relacionados com conseqüente diminuição da acidez do leite. No entanto, a fraude por adição de água ao produto parece ser a principal causa, já que das 162 amostras analisadas, 26 delas (16,0%) apresentaram um índice crioscópico acima dos padrões estipulados pela legislação (BRASIL, 2002). Saliente-se que isto foi particularmente observado nas amostras do produtor C, que apresentou uma elevada porcentagem de amostras fora do padrão tanto para acidez quanto para o índice crioscópico (Tabelas 2, 3 e 7).

Em algumas amostras (3, do total), no entanto, a baixa acidez observada não estava associada a valores mais elevados de índice crioscópico. Neste caso, podemos

levantar a hipótese de tais amostras fossem originárias de animais com quadro de mastite clínica ou subclínica ou ainda, de animais submetidos a um manejo alimentar deficiente, com reflexos na composição do leite, especialmente no tocante aos sólidos totais não gordurosos, com a diminuição destes e, conseqüentemente, a acidez natural do produto.

5.1.2 Densidade

O número de amostras analisadas, as médias, assim como os menores e maiores valores da densidade encontrados nas amostras de cada um dos 5 produtores de leite relacionados na pesquisa, encontram-se na tabela 4:

Tabela 4: Médias, menores e maiores valores encontrados por produtor, para densidade (g/mL):

Produtor	Nº de amostras	Média	Menor valor	Maior valor
A	26	1,0313	1,0288	1,0343
B	38	1,0302	1,0284	1,0340
C	37	1,0295	1,0254	1,0340
D	30	1,0319	1,0294	1,0338
E	31	1,0312	1,0266	1,0344

Ainda com relação à densidade, os resultados referentes ao número e porcentagem de amostras por produtor, fora do padrão estipulado pela legislação (Brasil, 2002), podem ser observados na tabela 5:

Tabela 5: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para densidade:

Produtor	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem (%)
A	26	0	0,0
B	38	1	2,6
C	37	9	24,3
D	30	0	0,0
E	31	2	6,4
TOTAL	162	12	7,4

A prova da densidade pode ser útil na detecção de fraudes por adição de água no leite, demonstrada pela diminuição da mesma. Entretanto esse não é um teste conclusivo para determinação desta fraude, uma vez que a sua alteração pode ser também decorrente de variações na composição química do leite, como por exemplo, excesso de gordura ou um processo de desnate (FONSECA et al., 2000). Além disto, dependendo do volume adicionado de água, os valores ainda podem manter-se dentro dos padrões estipulados pela legislação, não sendo então evidenciada a fraude.

No presente trabalho, por exemplo, os valores de densidade encontram-se em sua grande maioria (92,6%) dentro dos padrões de normalidade embora o índice crioscópico tenha se mostrado superior a $-0,53^{\circ}\text{H}$ em 16% das amostras, ratificando mais uma vez que a prova de densidade não pode ser considerada conclusiva no que se refere à fraude por adição água ao produto.

Tome-se como exemplo as amostras oriundas do produtor C: 51,3% delas apresentaram um índice crioscópico superior a $-0,53^{\circ}\text{H}$, sendo que em relação à densidade, somente 9 (24,3%) delas apresentaram valores inferiores a 1,028, indicativo de fraude por adição de água.

5.1.3 Crioscopia

Em relação ao Índice Crioscópico ($^{\circ}\text{Horvert} - ^{\circ}\text{H}$), o número de amostras, assim como as médias, os menores e maiores valores encontrados nas amostras de cada

produtor de leite *in natura* comercializado em Brotas, SP, podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6: Número de amostras analisadas por produtor, média, maiores e menores valores encontrados para Índice Crioscópico (°H):

Produtor	Nº de amostras	Média	Maior valor	Menor valor
A	26	-0,546	-0,484	-0,681
B	38	-0,546	-0,502	-0,658
C	37	-0,512	-0,469	-0,572
D	30	-0,547	-0,494	-0,690
E	31	-0,545	-0,470	-0,623

Ainda com relação ao Índice Crioscópico, os resultados referentes ao número e porcentagem de amostras fora do padrão estabelecido pela legislação (BRASIL, 2002) por produtor, podem ser observados na tabela 7.

Tabela 7: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para Índice Crioscópico:

Produtor	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem (%)
A	26	2	7,7
B	38	1	2,6
C	37	19	51,3
D	30	1	3,3
E	31	3	9,7
TOTAL	162	26	16,0

A depressão do ponto de congelamento do leite em relação à da água ou Índice Crioscópico do leite, varia muito pouco em condições normais e indica a quantidade de elementos que se encontram formando uma solução verdadeira neste produto. Embora possa ser influenciado por outros fatores, tais como fase de lactação, estação do ano, clima, latitude, alimentação, raça e ainda pelo tipo de processamento do leite (pasteurização/esterilização) (FONSECA & SANTOS, 2000), normalmente valores acima do estipulado pela legislação são indicativos de fraude por adição intencional de água ao produto. Erros na operação de limpeza do equipamento de ordenha ou refrigeração (FONSECA & SANTOS, 2000) também podem ser responsáveis por índices mais elevados. Já índices menores de crioscopia são normalmente reflexos da fermentação bacteriana resultando na produção de ácidos orgânicos, com conseqüente aumento da osmolaridade do sistema.

Todos os cinco produtores comercializaram amostras com valores de índice crioscópico mais altos que os fixados pela legislação. A porcentagem de amostras fora do padrão em relação a este quesito variou de acordo com o produtor, de 2,6 a 51,3% das amostras analisadas para cada um deles.

No caso do produtor C detectou-se o maior número de amostras adulteradas (51,3% do total analisado), com valores de até 14,7% de água adicionada.

A fraude por adição de água sempre foi uma prática comum no setor leiteiro, e uma preocupação constante dos órgãos oficiais responsáveis pela sua fiscalização, seja no leite entregue nas plataformas das indústrias ou no produto final oferecido ao consumidor.

Com o advento dos crioscópicos eletrônicos, a sua detecção tornou-se uma operação rápida e fácil, o que inibiu bastante esta prática por parte do produtor e pela própria indústria, interessados em aumentar de forma fraudulenta o volume de leite recebido na plataforma ou aquele comercializado no varejo. No caso do leite informal, não sujeito a este tipo de controle, esta prática ainda continua a ser muito utilizada, conforme mostram os resultados.

Outro ponto a se destacar é que várias amostras (20,4%), apresentaram valores de índice crioscópico menores ou iguais a $-0,55^{\circ}\text{H}$, resultados normalmente não encontrados em uma análise laboratorial de leite bovino normal. Várias hipóteses podem ser levantadas para explicar tais resultados, sendo a acidez mais elevada das amostras uma delas, já que a fermentação bacteriana da lactose aumenta a osmolaridade do sistema, com conseqüente diminuição do índice crioscópico. Uma pequena parte (5

amostras) realmente apresentava valores elevados de acidez ($>0,18\text{g}$ de ácido láctico/100mL), reforçando esta hipótese. Nas demais (28) não foram encontrados dados na literatura que possam explicá-los. Tais resultados portanto devem ser melhor investigados em estudos futuros.

Ainda com relação ao emprego do índice crioscópico como ferramenta para se detectar a fraude do produto por adição de água, há de se considerar que ao ser influenciado pelos valores elevados de acidez, esta prova pode proporcionar resultados falso-negativos justamente naquelas amostras em que a acidez mostra-se elevada. A alta osmolaridade do sistema, resultante da fermentação da lactose pode mascarar a presença de água adicionada, já que neste caso os valores do índice crioscópico podem ainda estar localizados dentro dos parâmetros exigidos, mesmo estando o leite adulterado. No caso do leite informal, essa questão adquire uma importância ainda maior, já que o consumidor fica exposto não só à má qualidade microbiológica do produto, mas também à práticas fraudulentas de aumento de volume, detectadas com frequência no presente experimento.

5.2 Contagem total de microrganismos mesófilos aeróbios estritos e facultativos viáveis (Contagem Bacteriana Total-CBT)

Os dados relativos às contagens de microrganismos mesófilos para cada um dos produtores de leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP, encontram-se na tabela 8.

Tabela 8: Número de amostras analisadas, medianas, menores e maiores valores de contagens de microrganismos mesófilos em amostras de leite *in natura* comercializado em Brotas, SP:

Produtor	Nº de amostras	Mediana	Menor valor	Maior valor
A	26	$3,4 \times 10^8$	$9,4 \times 10^4$	$>2,5 \times 10^{11}$
B	38	$1,5 \times 10^9$	$3,6 \times 10^4$	$>2,5 \times 10^{11}$
C	37	$1,2 \times 10^7$	$2,2 \times 10^4$	$>2,5 \times 10^{11}$
D	30	$3,4 \times 10^8$	$3,1 \times 10^4$	$>2,5 \times 10^{11}$
E	31	$7,3 \times 10^6$	$1,0 \times 10^3$	$>2,5 \times 10^{11}$

Ainda com relação à contagem de mesófilos, o número e respectiva porcentagem de amostras fora do padrão (BRASIL, 2002), para cada produtor de leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP, encontram-se na tabela 9:

Tabela 9: Número de amostras analisadas, número e porcentagem de amostras fora do padrão para contagem de microrganismos mesófilos:

Produtores	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem (%)
A	26	24	92,3
B	38	34	89,5
C	37	20	54,0
D	30	23	76,7
E	31	24	77,4
TOTAL	126	125	77,2

A distribuição das amostras em classes, de acordo com as contagens de microrganismos mesófilos observadas, independentemente do produtor avaliado, pode ser observada na Tabela 10:

Tabela 10: Distribuição das amostras em classe de acordo com a contagem de microrganismos mesófilos (UFC/mL):

UFC/mL	Nº de amostras	Porcentagem (%)
$<10^3$	00	0,0
$10^3 \text{ --- } 10^4$	01	0,6
$10^4 \text{ --- } 10^5$	16	9,8
$10^5 \text{ --- } 10^6$	17	10,5
$10^6 \text{ --- } 10^7$	37	22,8
$10^7 \text{ --- } 10^8$	19	11,7
$10^8 \text{ --- } 10^9$	11	6,8
$10^9 \text{ --- } 10^{10}$	22	13,6
$10^{10} \text{ --- } 10^{11}$	03	1,8
$>10^{11}$	36	22,2

Pelos dados expostos nas Tabelas 8, 9 e 10, fica evidente a má qualidade microbiológica do produto comercializado informalmente em Brotas, SP, já que 77,2% das amostras encontravam-se fora do padrão ($1,0 \times 10^6$ UFC/mL) estipulado atualmente pela legislação (BRASIL, 2002).

Esses dados são extremamente preocupantes e permitem levantar a hipótese de que sejam originários de sérias deficiências no tocante à higiene do processo de ordenha, bem como na conservação do produto, desde a sua obtenção até a sua comercialização direta ao consumidor.

Esta má qualidade do leite comercializado informalmente em Brotas, SP, também tem sido detectada em trabalhos recentemente publicados que procuraram avaliar o perfil microbiológico do produto entregue às plataformas dos laticínios em várias regiões do nosso país (SERRA, 2004; NERO et al., 2004; LAVOR et al., 2006).

Saliente-se ainda que os primeiros resultados publicados pela Rede Brasileira de Laboratórios de Análise da Qualidade do Leite (RBQL) após a implantação da Instrução Normativa nº51 revelam que é justamente a qualidade microbiológica do leite o principal fator a ser trabalhado, já que uma porcentagem elevada de amostras avaliadas pelos laboratórios credenciados pelo MAPA para realizar o controle analítico do produto entregue às indústrias, encontrava-se acima do limite estipulado (MESQUITA, 2006).

Em nosso entender, no entanto, nossos dados são mais preocupantes, especialmente do ponto de vista de saúde pública, já que o leite informal não será submetido antes de ser entregue ao consumidor, a nenhum tipo de processo que garanta a sua segurança microbiológica. A responsabilidade neste caso, passa a ser exclusivamente daquele que o adquire, cabendo a este, se assim o desejar, dar ao produto o tratamento térmico (fervura), que muitas vezes não tem a mesma eficácia de um processo de pasteurização.

Ressalte-se ainda que pesquisas anteriormente realizadas com consumidores de leite informal revelaram que na sua grande maioria, estes não tem idéia dos riscos a que estão submetidos ao adquirir este tipo de produto (BADINI et al., 1997; BERSOT et al., 2005).

5.3 Resíduos de antimicrobianos

Os resultados referentes à detecção de resíduos de antimicrobianos nas amostras de leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP, encontram-se na tabela 11:

Tabela 11: Número de amostras com resultados positivos para detecção de resíduos de antibióticos, e sua porcentagem em relação ao total de amostras analisadas (100), oriundas de cinco produtores de leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP.

Resultado	Nº de amostras	Porcentagem (%)
Positivas no limite ou acima do limite de detecção do teste	02	2,0
Positivas dentro do limite de detecção do teste	04	4,0
TOTAL	06	6,0

É importante salientar que em relação ao “kit” comercial empregado neste trabalho, não é possível determinar o tipo de antimicrobiano utilizado, já que o Delvotest® é um teste de triagem, sensível a diferentes tipos de substâncias inibidoras de crescimento microbiano. Embora não seja específico para determinados fármacos, possui boa sensibilidade e um baixo custo, características adequadas para os propósitos do nosso trabalho.

O kit Delvotest® SP/SP é indicado pela Portaria nº 08 de 26/06/1984 do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, publicada no Diário Oficial da União em 11/07/1984 (BRASIL, 1984).

A pesquisa de resíduos de drogas antimicrobianas em alimentos tem sido uma preocupação constante no meio científico e vários são os trabalhos no Brasil que relatam a sua presença em amostras de leite, tanto cru como já processado (FAGUNDES, 1980; BARROS & PERCHES, 1981; GELLI et al., 1984; SILVA et al., 1984; MARTINS & MARTINS, 1985; PELAYO et al., 1990; ALBUQUERQUE et al., 1996; BORGES et al., 2000; BRANDÃO, 2000; SOUZA & BENEDET, 2000; NASCIMENTO et al., 2001; SERRA, 2004). Os resultados quanto à positividade das amostras são muito variáveis, mas preocupantes, já que são poucos os trabalhos em que eles não foram detectados.

Em nosso experimento, 6 amostras mostraram-se positivas, sendo 2 delas acima do limite de detecção do teste. Esta porcentagem, embora aparentemente pequena, é preocupante, já que além dos efeitos indesejáveis da presença de resíduos de tais fármacos no alimento, já listados anteriormente, é indicativa de que parte do leite pode ser oriundo de animais que estavam ou estão sob tratamento com quimioterápicos para mastite clínica ou qualquer outra enfermidade detectada pelo proprietário. Em relação à mastite, o risco sob o ponto de vista de saúde pública de que o leite seja veículo de agentes que possam causar quadros de enfermidades transmitidas por alimentos é ainda maior e não deve ser subestimado. Ressalta-se ainda como já mencionado, o desconhecimento por parte considerável da população que adquire leite *in natura* dos riscos decorrentes do seu consumo, tornando ainda mais perigoso esse hábito alimentar tão popular em nosso país.

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos, podemos concluir que:

- o leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP, é de má qualidade.
- as altas contagens bacterianas encontradas indistintamente nos cinco produtores avaliados atestam a má qualidade do produto sendo indicativas de deficiências no tocante à higiene da ordenha e/ou sua má conservação, desde sua obtenção até sua comercialização diretamente ao consumidor.
- a má qualidade físico-química do produto foi evidenciada basicamente pelos valores elevados do índice crioscópico e, ao contrário do verificado para os aspectos microbiológicos, neste caso, com maior destaque para um dos produtores, evidenciando a adulteração constante do produto por adição de água ao mesmo.
- em relação à presença de resíduos de antimicrobianos, embora a porcentagem detectada de amostras positivas tenha sido aparentemente pequena, ela é preocupante do ponto de vista de saúde pública. Além dos perigos inerentes à presença de tais resíduos, a sua detecção é indicativa de comercialização de leite oriundo de animais com quadros de mastite ou outras enfermidades, cujos agentes etiológicos também podem ser causadores de doenças transmitidas por alimentos naqueles que o consomem.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando-se que a globalização é fato e que cada vez mais vem atingindo um número maior da população, até mesmo das parcelas socioeconômicas consideradas mais baixas, pode-se assegurar uma tendência a médio e longo prazo, pela procura a um produto inócuo, simplesmente pelo maior acesso à informação, já que a busca por qualidade de vida é desejo de todos.

No que diz respeito à qualidade do leite para consumo humano, referente à sua inocuidade, existem vários fatores que podem influenciá-la, como aqueles relacionados à sua contaminação por agentes microbianos, presença de resíduos de antibióticos e os resultantes de ações fraudulentas, com o intuito de lesar o consumidor, aumentando o lucro de quem as pratica. Assim, várias medidas podem e devem ser tomadas, embasadas sempre na legislação vigente, embora atitudes drásticas não devam ser encaradas como a única medida a ser implantada para resolver o problema, especialmente no que se refere à comercialização do leite informal, dado o grande volume desse tipo de produto oferecido à população em nosso país (BELOTI et al., 1999).

Como forma de evitar o consumo do leite informal, deve-se enfatizar à população os benefícios do emprego de tratamentos térmicos, tais como a pasteurização e a esterilização, que mantendo as qualidades físico-químicas e organolépticas do produto, tornam-no ainda seguro para o consumidor. Além disto, tornar claro que o leite cru, comercializado clandestinamente, não passa por nenhum controle de qualidade, podendo ser objeto de vários tipos de adulteração (BELOTI et al., 1999).

No tocante à utilização de medicamentos veterinários, poderia ser corrigido com informações adequadas aos produtores, veiculadas por cooperativas e centros de apoio técnico governamentais, evitando problemas para a saúde do consumidor, como ocorre atualmente. A difusão de boas práticas veterinárias e agrícolas levaria a uma redução dos níveis dessas substâncias, deixando de ser motivo de preocupação pública (MINIUSI et al., 1992).

Esclarecer a população e aglutinar o maior número possível de entidades, tais como universidades, conselhos profissionais de classe, serviços oficiais de inspeção e vigilância sanitária, secretarias da agricultura, saúde e educação, poder judiciário, empresas privadas, etc. na difusão de informações e na busca de soluções para este problema, deve ser o foco das atividades desenvolvidas.

Além disto, propiciar ao pequeno produtor, que tem nesta atividade sua fonte de subsistência, alternativas viáveis para que o mesmo possa se enquadrar na legislação reguladora de produção e comercialização do leite, é uma política fundamental no combate a essa prática ilegal, que tantos riscos podem causar à saúde pública.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S. C. S. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza, CE. **Hig. Aliment.**, v.10, n.41, p.29-31, 1996.

ANDREW, S.M. Antibiotic residue tests for individual cows – an update. **Proc. Annu. Meet. Nat. Mastitis Council**, p. 191-201, 1997.

ANDREW, S.M.; FROBISH, R.A.; PAAPE, M.J.; MATURIN, L.J. Evaluation of selected residue screening tests for milk from cows and examination of factors that affect the probability of false-positive outcomes. **J. Dairy Sci.**, v. 80, p. 3050-3057, 1997.

ANUÁRIO MILKBIZZ. **Anuário Milkbuzz 1999/2000**. São Paulo: Milkbuzz, 1999. 326p.

BADINI, K. B.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L. A. Hábitos dos consumidores de leite cru produzido clandestinamente nos municípios de Botucatu, SP e São Manuel, SP. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v. 11, p. 15-17, 1997.

BARBERIO, A.; SIGNORINI, F. antibiotici e sulfamidicini nel latte. **Obiettivi Doc. Vet.**, v. 17, p. 29-36, 1996.

BARROS, V. R. M.; PERCHES, E. M. C. Pesquisa de inibidores no leite tipo B distribuído ao consumo da grande São Paulo. **Rev. do Inst. Cândido Tostes**, n. 216, p. 39-42, 1981.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 24p.

BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

BELOTI, V. **Leite clandestino**: Quem tem medo do lobo mau? Disponível em: <www.milkpoint.com.br/mn/utills/print.asp?id_artigo=7930> Acesso em: 10/02/2006.

BELOTI, V.; BARROS, M.A.F.; SOUZA, J.A.; SANTANA, E.H.W.; BALARIN, O.; CURIKI, Y. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado em Cornélio Procopio, Paraná. Controle do consumo e da comercialização. **Semina: Ci. Agr.**, v. 20, n.1, p. 12-15, 1999.

BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V.C.; MOTTA, D.S.; GALVÃO, J.A. Perfil dos consumidores de leite informal de Palotina, PR. **Rev. do Cons. Reg. de Med. Vet. do Paraná**, v. 4, p. 20, 2005.

BOECKMAN, S.; CARLSON, K.R. **Milk and dairy beef residue prevention protocol**. Arlington: Agri. Education, 1997.

BOOR, K.J. Pathogenic microorganisms of concern to dairy industry. **Dairy Food Environ. Sanit.**, v.17 p.714-717, 1997.

BORGES, S.F.; OLIVEIRA, J.S. O nosso leite de cada dia. **Inf. Agropec.**, v.13, p.3-5, 1988.

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

BRANDÃO, S.C.C. Leite: Legislação, responsabilidade e saúde pública. **Rev. Balde Branco**, n.360, p.68-71, 1994.

BRANDÃO, W. **Ocorrência de inibidores bacterianos (antibióticos) em leite cru tipo B produzido na região de Tupã, SP.** 2000. 67f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária-Vigilância Sanitária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal-RIISPOA:** (aprovado Decreto nº30.691, de 29/03/52, alterado pelo Decreto nº1.255 de 25/06/62). Brasília, 1980. 40p.

BRASIL. Portaria n.08 de 26 de junho de 1984. Ministério da Agricultura, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária e Secretaria de Inspeção de Produto Animal definem normas técnicas e higiênico Sanitárias para a produção de leite tipo "B". **Rev. Balde Branco**, v. 28, n. 238, p. 30-35, 1984.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. **Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite.** Instrução Normativa nº51, de 18 de setembro de 2002. Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa SDA nº22 de 14/04/2003. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos para o controle de leite e produtos lácteos.** Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Agropecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA nº 62, 26 de agosto de 2003. **Métodos microbiológicos para análise de alimentos de origem animal e água.** Brasília, 2003. 265p.

BRESSAN, M.; MARTINS, M.C. Segurança alimentar na cadeia produtiva de leite e alguns de seus desafios. **Rev. Polít. Agríc.**, v.13, n. 3, p.27-37, 2004.

BRITO, M.A.V.P. Normas internacionais e exigências do Codex Alimentarius e comparação entre blocos comerciais sobre a adoção de testes para detecção de resíduos de antibióticos no leite. In: **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite ; Epamig/CT/ILCT, 2003. 168p.

BRYAN, F. L. Epidemiology of Milk-Borne Diseases. **J. Food Protect.**, v. 46, n. 7, p.637-649, 1983.

CERQUEIRA, M.M.O.P.; LEITE, M.O. Doenças transmitidas pelo leite e derivados. **Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG**, n.13, p.39-62, 1995.

CODEX ALIMENTARIUS. **Resíduos de medicamentos veterinários en los alimentos**. 2.ed. Roma: Codex Alimentarius, v.3, 1993.

CORASSIM, C.H.; OLIVEIRA, C.A.F. Aplicabilidade dos conjuntos para detecção de resíduos de antibióticos no leite em propriedades leiteiras. **O Biólogo**, v. 62, n. 1, 2000.

COSTA, E.O. Resíduos de antibiótico no leite: um risco à saúde do consumidor. **Hig. Aliment.**, v.10, n.44, p.15-17, 1996.

COSTA, E.O. Veterinária: trabalho de base. **Not. Fapesp**, v.40, n.3, p.6-14, 1999.

CULLOR, J.S.; VAN EENENNAAM, A.; GARDNER, L.; PERANI, J.; DELLINGER, W.L.; SMITH, T.; THOMPSON, M.A.; PAYNE, L.; JENSEN, L.; GUTERBOCK, W.M. Performance of various tests used to screen antibiotics residues in milk samples from individual animals. **J. Assoc. Anal. Chem.**, v.77, p.862-870, 1994.

DONELLY, C.W. Concerns of microbial pathogens in association with dairy foods. **J. Dairy Sci.**, v.73, p.1656-1661, 1990.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Agropecuária**. Disponível em: <<http://www.cnpqgl.embrapa.br/producao/dados2002/producao/tabela0212.php> > Acesso em: 23 ago.2006.

FAGUNDES, C. M. **Persistência de antibiótico no leite bovino em condições experimentais e prevalência nos leites tipo “B” e “C” consumidos em Belo Horizonte**. 1978. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1978.

FARIA, V.P.; MATTOS, W.R.S. Leite informal-um inimigo invisível. **Balde Branco**, n.415 p.60-62, 64-66, 1999.

FARINA, E.M.M.Q.; JANK, M.S.; NASSAR, M.; RIBEIRO, F.A. F. Leite clandestino: um problema real. **Bol. Leite**, v.7, n.81, 2000.

FAURE, O. Detection des antibiotiques: vers l’évolution de la method officielle. **Rev. Fr. Lai.**, n. 578, p.28-30, 1998.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite**. São Paulo: Lemos Editorial., 2000. 175p.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Milk safety Branch Beta lactam testing under appendix N of the PMO**. Washington(DC): Dept. Health Human Serv. , publ. Health Serv. FDA CFSAN: OFP: DPC: Milk safe Branch, 1999.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M.; DESTRO, M.T.; GELLI, D. Foodborne Diseases in Southern South America. In: MILIOTIS, M.; BIER, J. **International Handbook of Foodborne Pathogens**. New York: Marcel Dekker, 2003. p. 733-743.

FURTADO, M.M. **Principais problemas dos queijos**: causas e prevenção. São Paulo: Fonte e Comunicação, 1999. 22 p.

GELLI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo. **Rev. do Inst. Adolfo Lutz**, v. 44, p. 19-24, 1984.

HOFFMAN, F.L.; GARCIA CRUZ, C.H.; VINTURIM, T.M. Avaliação das características microbiológicas do leite tipo “C” vendido na região de São José do Rio Preto-SP. **Bol. CEPPA**, v.12, n.1 p.17-23, 1994.

IBGE -. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção leiteira. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 fev. 2004.

IBGE-INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Índices de produção Leite Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=350790&r=1>> . Acesso em: 16 nov. 2006.

KANG, J.H.; KONDO, F. Occurrence of false positive results of inhibitor on milk samples using the Delvotest SP assay. **J. Food Prot.**, v.64, n.8, p.1-5, 2001.

LAVOR, U.L.; D’OVIDIO, L.; IZIDORO, T.B.; PADOVANI, C.R.; PINTO, J.P.A.N. qualidade microbiológica do leite cru produzido na região de Botucatu, SP e impactos da nova legislação sobre a qualidade do produto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2, 2006, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2006. CD-ROM.

LUND, D.B. Effects of heat processing on nutrients. In: HARRIS, R.S.; KARMAS, E.K. (Eds.). **Nutritional evaluation of food processing**. Westport: AVI Publishing Connecticut, 1975.

MARINSECK, J. Hygienic irreducibility of milk and milk products: guarantee of safety. **Bul. Int. Dairy Fed.**, n.351 p.24-26, 2000.

MARTINS, J.L.S.; MARTINS, I.S. Inibidores bacterianos no leite tipo B comercializado no município de São Paulo, SP. **Rev. de Saúde Pública**, v. 19, p. 421-430, 1985.

MESQUITA, A.J.; DÜRR, J.W.; COELHO, K.O. (Org.). **Perspectivas e avanços da qualidade do leite no Brasil**. Goiânia: Talento, 2006. 352p.

MEYER, P.M. **Produção de leite no Brasil**: de onde surgem os dados. Disponível em: <http://www.milkpoint.com.br/mn/utis/print.asp?id_artigo=21037&nv=1>. Acesso em: 10 fev. 2006.

MINIUSI, J.T. Resíduos de medicamentos veterinários em alimentos de origem animal. In: CHARLES, T.P.; FURLONG, J. **Doenças dos bovinos de leite adultos**. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1992. p.169-174.

MITCHELL, J.M.; GRIFFITHS, M.W.; McEWEN, S.A.; McNAB, W.B.; YEE, J. Antimicrobial drug residues in milk and meat: causes concerns, prevalence, regulations, tests, and test performance. **J. Food Prot.**, v. 61, n. 6, p. 742-756, 1998.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; NETTO, D.P.; PINTO, J.P.A.N.; ANDRADE, N.J.; SILVA, W.P.; FRANCO, B.D.G.M. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. **Braz. J. Microbiol.**, n.35, p. 211-215, 2004.

NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba-SP. **Rev. Nutr.**, v. 12, n. 2, p.119-124, 2001.

OLIVAL, A.Z.; SPEXOTO, A.A.; CAMPOS, D.F.S.; FERREIRA, F.; FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V.; DIAS, R.A. Hábitos de consumo de leite informal, associados ao risco de transmissão de doenças, no município de Pirassununga, SP. **Hig. Aliment.**, v.16, n.102/103, p.35-40, 2002.

PELAYO, J. S.; et al. Detecção de resíduos antimicrobianos no leite cru e pasteurizado tipo C comercializado na região de Londrina, PR. **Semina**, v.11, n.2, p.89-91, 1990.

PELCZAR, M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia**. São Paulo: Makron Books, 1996. v.2, p.22-40.

PETZ, M. Residue analysis for antibiotics. **Meat Focus Int.**, v.5, n.10, p.352-353, 1996.

PHILLIPS, M.C.; BRIGGS, G.M. Symposium: milk and dairy products for the American diet. Milk and its role in the American diet. **J. Dairy Sci.**, n.58, p.1751-1763, 1975.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; DELBEM, A.C.B.; DE LARA, J.A.F.; PERRI, S.H.V. Avaliação da qualidade de amostras de leite cru comercializado no município de Araçatuba e potenciais riscos decorrentes de seu consumo. **Hig. Aliment.**, v.15, n.86, p.31-38, 2001.

QUEIROZ, J.C. **Avaliação sanitária do leite cru distribuído nos municípios de Juquitiba e Itapeirica da Serra**. 1995. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

REYBROECK, W. Evaluation of screening test for the detection of antimicrobial residues in milk. In: SYMPOSIUM ON RESIDUES OF ANTIMICROBIAL DRUGS AND OTHER INHIBITORS IN MILK, 1995, Kiel. **Proceedings...** Brussel: **International Dairy Federation**, 1995. p.182-186.

RITTER, R.; SANTOS, D.; BERGMANN, G.P. Análise da qualidade microbiológica de queijo colonial, não pasteurizado, produzido e comercializado por pequenos produtores no Rio Grande do Sul. **Hig. Aliment.**, v.15, n.87, p.51-54. 2001.

RODRIGUES, R.; FONSECA, L.M.; SOUZA, M.R. Acidez do leite. **Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG**, n.13, p. 63-72, 1995.

SANTOS, E.C. Problemas sanitários de importância na produção higiênica do leite. (In: PEIXOTO. A.M. et al. Ed.) **Produção leiteira: problemas e soluções**. Piracicaba: FEALQ, 1985. p. 133-137.

SANTOS, M.V. Ação bacteriana sobre a qualidade do leite: diferenças entre grupos de bactérias. **Milkpoint**, 13/04/2000. Disponível em: http://www.Milkpoint.com.br/mn/utills/print.asp?nv=1&id_artigo=15623. Acesso em: 29 set. 2004.

SANTOS, M.V. **Causas da presença de resíduos de antibióticos no leite**. Campinas: Milkpoint, 2000. Disponível em: http://www.milkpoint.com.br/mn/utills/print.asp?nv=1&id_artigo=15632 > Acesso em: 23 set. 2004.

SANTOS, M.V. **Resíduos de antibióticos no leite: porque evita-los?**. Campinas: Milkpoint, 2000. Disponível em: http://www.milkpoint.com.br/mn/utills/print.asp?nv=1&id_artigo=15631 > Acesso em: 23 set. 2004.

SERRA, M.J.B. **Qualidade microbiana e físico-química do leite cru produzido na região de Pardinho, SP.** 2004. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

SILVA, J. P. et al. Prevalência de antibióticos no leite pasteurizado tipo B e especial 3.2% de gordura consumidos em Belo Horizonte, 1982-1983. **Rev. do Inst. Cândido Tostes.** V.39, p.7-12, 1984.

SOUZA, N. G. & BENEDET, H. D. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina, Brasil. **Rev. do Inst. Candido Tostes**, v.54, n.315, p.156-162, 2000.

SPREER, E. **Lactologia Industrial.** Zaragoza: Acribia, 1991. 617p.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Projeto: convênio **FUNDUNESP/SEBRAE-SP/PRODER(08-2000):** melhoria do sistema produtivo da pecuária de leite de pequenos produtores. Etapa 1. Botucatu, 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Evaluation of certain veterinary drugs residues in food.** Geneva: WHO, 1990. (Technical Report Series, 799).

ARTIGO CIENTÍFICO

Trabalho a ser enviado para a revista Higiene Alimentar

Qualidade físico-química, microbiológica e resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP.

¹Fausto Baptista Villa. ²José Paes de A. Nogueira Pinto

¹Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
FMVZ – Unesp – Botucatu-SP.

²Prof. Ass. Dr. do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia – Unesp – Campus de Botucatu.

Correspondência: Inspeção de Alimentos, Caixa Postal: 572
Distrito de Rubião Júnior S/N. Cep: 18618-000
FMVZ – Unesp, Botucatu, São Paulo.

RESUMO

O presente trabalho avaliou a qualidade físico-química, microbiológica e a presença de resíduos de antimicrobianos em 162 amostras de leite *in natura* comercializado informalmente na cidade de Brotas, SP, as quais foram adquiridas diretamente dos consumidores. Em relação às amostras fora dos padrões para a legislação vigente, temos: para o teste da acidez, 22 (13,6%); para a prova da densidade, 12 (7,4%); para a crioscopia, 26 (16,0%). Na contagem total de microrganismos mesófilos, obtivemos 125 (77,2%) amostras fora do padrão e para resíduos de antimicrobianos, 6,0% delas apresentaram-se positivas. Pode-se concluir que o leite é de má qualidade microbiológica, alvo de adulterações pela adição de água, representando um risco para os consumidores que o adquirem, já que não recebe nenhum tipo de tratamento e fiscalização.

SUMMARY

The present work assessed the physical-chemical and microbiological quality and researched antibiotic residues in 162 raw and milk samples informally traded in Brotas, SP, which were acquired from consumers. The out of legal standard results for the tests were: acidity test, 22 (13,6%); the density test, 12 (7,4%); for cryoscopy test, 26 (16,0%). To the total microbiologic count, we had 125 (77,2%) out of legal parameters and to the antibiotics residues research, just 6,0% of samples were positives. It can be concluded that the milk has a poor quality, with water adulteration, being a risk to the consumer's health because it has no kind of treatment or fiscalization.

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento universalmente conhecido pelo seu alto valor nutricional, fato este que, se por um lado o qualifica como um dos principais alimentos do homem,

particularmente crianças e idosos, também o torna um produto extremamente perecível, capaz de alojar e servir como meio de cultura para inúmeros microrganismos (PONSANO et al., 2001).

Devido às essas suas qualidades intrínsecas, o leite é um produto altamente perecível, exigindo grandes cuidados na sua obtenção e procedimentos tecnológicos adequados no seu processamento, para que sejam mantidas suas características de qualidade como alimento, desde sua produção até o consumidor final (BORGES & OLIVEIRA, 1988). Em Minas Gerais por exemplo, estima-se que 47% do leite consumido pela população seja oriundo da comercialização clandestina do leite cru (BRANDÃO, 1994).

Apesar da proibição legal imposta à comercialização do leite cru no Brasil (Lei nº 1.283 de 18/12/1950 e Decreto nº 30.691 de 29/03/1952), a venda deste tipo de leite tem sido realizada abertamente em diversas cidades do estado de São Paulo, inclusive para populações muitas vezes possuidoras de elevado nível socioeconômico e cultural (QUEIROZ, 1995). A prática de comercialização do leite cru possui raízes sociais e econômicas extremamente fortes, visto que em muitas regiões do país é a comercialização do leite, e ainda do queijo produzido a partir do mesmo, de forma clandestina, que permite a sobrevivência de muitos pequenos produtores (RITTER et al., 2001).

Vários patógenos podem contaminar o produto e causar doenças ao homem, particularmente se o leite for consumido cru ou na forma de derivados (DONELLY, 1990; BOOR, 1997). Assim, a qualidade do produto assume uma importância destacada também sob ponto de vista de saúde pública. No Brasil, onde sua obtenção se dá, geralmente, em más condições higiênico-sanitárias, com contagens altas de microrganismos, este risco está bastante presente (CERQUEIRA & LEITE, 1995).

Além dos aspectos microbiológicos, o consumidor de leite *in natura* também está sujeito a adquirir um produto adulterado, especialmente pela adição de água, bem como ingerir um alimento com resíduos de fármacos antimicrobianos, já que ao ser comercializado clandestinamente, não está sujeito a nenhum tipo de fiscalização.

Segundo Furtado (1999), antimicrobianos podem ser encontrados no leite por introdução voluntária fraudulenta, para prolongar a durabilidade do produto ou por via indireta, oriunda do tratamento terapêutico de vacas em lactação com a utilização do leite destes animais para consumo humano antes do término do período de carência necessário após a última aplicação da droga. Este fato revela um manejo inadequado da antibioticoterapia de vacas em lactação, particularmente quando empregado no tratamento de mastites.

Os efeitos negativos dos resíduos no produto são identificados pela indústria de laticínios, uma vez que as culturas iniciadoras usadas na fabricação de derivados como iogurtes e queijos, não se desenvolvem bem em leite com resíduos de antibióticos. Quanto aos consumidores, a ingestão de leite com resíduos de antibióticos e outros antimicrobianos pode representar risco de ocorrência de reações alérgicas, principalmente à penicilina e seus derivados. Estas reações podem se manifestar como urticárias, dermatite e sintomas respiratórios como asma e rinite. Além dos riscos de reações alérgicas, algumas drogas podem apresentar ação cancerígena, como os nitrofuranos e o cloranfenicol, os quais comprovadamente podem aumentar a frequência desta patologia em animais de laboratório, e desta forma, representam um risco em potencial. Ainda que seja um assunto não totalmente esclarecido, a presença de resíduos também pode, segundo alguns pesquisadores, favorecer o aparecimento de cepas microbianas resistentes a essas drogas. Esta resistência, por sua vez, pode dificultar o tratamento de infecções que o consumidor venha a contrair (SANTOS, 2000).

O consumo de leite *in natura*, portanto, expõe o consumidor a vários tipos de perigos, sendo que parte da população que o adquire não tem idéia dos problemas que podem advir de sua comercialização e consumo (BADINI et al., 1997; BERSOT et al., 2005).

Assim, torna-se importante a realização de pesquisas que possam detectar tais perigos, alertando a população e os órgãos oficiais de fiscalização sobre esta questão, tão importante do ponto de vista de saúde pública.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e a presença de resíduos de antimicrobianos em leite *in natura* comercializado informalmente em Brotas, SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 162 amostras de leite *in natura* comercializados nas ruas da cidade de Brotas foram colhidas de consumidores, os quais foram escolhidos sob o seguinte critério: priorizou-se consumidores que adquiriam o produto há longo tempo e que consentiram em fornecer as amostras em anonimato, para que não fosse interrompido o fornecimento das amostras durante a realização do experimento. Outro fator importante foi a escolha de fornecedores que compravam leite de diferentes produtores, apenas para que não houvesse repetição das amostras. O horário da coleta variou de acordo com cada produtor, que passava entregando leite na porta dos consumidores em dias fixos da semana, em garrafas descartáveis de refrigerantes, ou em latões, sendo colocados em recipientes com o auxílio de canecas. Nem sempre esses horários eram os mesmos todos os dias.

As amostras foram coletadas semanalmente o mais rápido possível após a sua aquisição pelo consumidor, sendo transferidas para frascos de 500 mL, estéreis, mantidas resfriadas em refrigerador doméstico (aproximadamente 8°C) por no máximo 12 horas, quando então eram encaminhadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável até o laboratório de pesquisas da disciplina de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, campus de Botucatu para análise laboratorial.

Cada amostra foi submetida às seguintes análises: contagem de microrganismos mesófilos aeróbios restritos e facultativos viáveis, determinação da acidez, densidade, índice crioscópico e pesquisa de resíduos de antimicrobianos.

Todas as análises microbiológicas foram realizadas segundo as normas preconizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2003), sendo que as físico-químicas foram realizadas seguindo as técnicas preconizadas e descritas nos métodos analíticos oficiais para o controle de leite e produtos lácteos (BRASIL, 2003).

A pesquisa de resíduos antimicrobianos foi realizada através do “kit” Delvotest® SP/SP Mini (DSM Food Specialties Ingredients, Holand), tendo sido seguidas as recomendações do fabricante quando de sua utilização.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes à acidez das amostras de leite comercializado informalmente em Brotas, SP encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Números de amostras, número e porcentagem de amostras com valores menores que 0,14 e maiores que 0,18 g de ácido láctico/100mL:

Produtor	Nº de amostras	Menores que 0,14	Maiores que 18
A	26	1 (3,8%)	3 (11,5%)
B	38	0 (0,0%)	5 (13,1%)
C	37	6 (16,2%)	0 (0,0%)
D	30	0 (0,0%)	1 (3,3%)
E	31	3 (9,7%)	2 (6,4%)
TOTAL	162	10 (6,2%)	11 (6,8%)

Com relação à acidez do leite, os valores considerados naturais estão entre 0,14g-0,18g de ácido láctico/100mL (BRASIL, 2002). Valores baixos de acidez, ou seja, menores que 0,14g de ácido láctico/100mL, podem ser decorrentes basicamente de três fatores, sendo estes: diminuição dos sólidos totais, casos de mastite e ainda de fraude por adição de água (RODRIGUES et al, 1995).

Por outro lado, valores elevados de acidez, acima de 0,18g de ácido láctico/100mL, são normalmente oriundos da fermentação da lactose pela microbiota mesofílica, com a produção de ácidos orgânicos, com destaque para o ácido láctico, condição indicativa de más condições higiênico-sanitárias na produção e/ou estocagem do produto em temperatura inadequada por períodos prolongados de tempo (RODRIGUES et al, 1995).

Nas 10 amostras com valores menores que 0,14g de ácido láctico/100mL, cabe a hipótese de que possam ter ocorrido algum ou todos os fatores anteriormente relacionados com conseqüente diminuição da acidez do leite. No entanto, a fraude por adição de água ao produto parece ser a principal causa, já que das 162 amostras analisadas, 26 delas (16,0%) (Tabela 3) apresentaram um índice crioscópico fora dos padrões estipulados pela legislação (BRASIL, 2002). Saliente-se que isto foi particularmente observado nas amostras do produtor C, que apresentou uma elevada porcentagem de amostras fora do padrão tanto para acidez quanto para o índice crioscópico.

Em algumas amostras (3, do total), no entanto, a baixa acidez observada não estava associada a valores mais elevados de índice crioscópico. Neste caso, podemos levantar a hipótese de que tais amostras fossem originárias de animais com quadro de mastite clínica ou subclínica ou ainda, de animais submetidos a um manejo alimentar deficiente, com reflexos na composição do leite, especialmente no tocante aos sólidos totais não gordurosos, com a diminuição destes e, conseqüentemente, da acidez natural do produto.

Os resultados referentes à densidade do produto podem ser visualizados na Tabela 2.

Tabela 2: Resultados percentuais da quantidade de amostras analisadas e daquelas fora do padrão para a densidade:

Produtor	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem (%)
A	26	0	0,0
B	38	1	2,6
C	37	9	24,3
D	30	0	0,0
E	31	2	6,4
TOTAL	162	12	7,4

A prova da densidade pode ser útil na detecção de fraudes por adição de água ao leite, demonstrada pela diminuição da mesma. Entretanto esse não é um teste conclusivo para determinação desta fraude, uma vez que a sua alteração pode ser também decorrente de variações na composição química do leite, como por exemplo, excesso de gordura ou um processo de desnate (FONSECA et al., 2000).

No presente trabalho os valores de densidade encontram-se em sua grande maioria (92,6%) dentro dos padrões de normalidade, embora o índice crioscópico tenha se mostrado superior a $-0,53^{\circ}\text{H}$ em 16% das amostras, ratificando mais uma vez que a prova de densidade não pode ser considerada conclusiva no que se refere à fraude por adição água ao produto.

Tome-se como exemplo as amostras oriundas do produtor C: 51,3% delas apresentaram um índice crioscópico superior a $-0,53^{\circ}\text{H}$, sendo que em relação à densidade, somente 9 (24,3%) apresentaram valores inferiores a 1,028, indicativo de fraude por adição de água.

A depressão do ponto de congelamento do leite em relação à da água ou Índice Crioscópico do leite, varia muito pouco em condições normais e indica a quantidade de elementos que se encontram formando uma solução verdadeira neste produto. Embora possa ser influenciado por outros fatores, tais como fase de lactação, estação do ano, clima, latitude, alimentação, raça e ainda pelo tipo de processamento do leite (pasteurização/esterilização) (FONSECA & SANTOS, 2000).

Todos os cinco produtores comercializaram amostras com valores de índice crioscópico mais altos que os fixados pela legislação. A porcentagem de amostras fora do padrão em relação a este quesito variou de acordo com o produtor, de 2,6 a 51,3% das amostras analisadas para cada um deles (Tabela 3).

Tabela 3: Resultados percentuais da quantidade de amostras analisadas e daquelas fora do padrão para crioscopia:

Produtor	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem (%)
A	26	2	7,7
B	38	1	2,6
C	37	19	51,3
D	30	1	3,3
E	31	3	9,7
TOTAL	162	26	16,0

No caso do produtor C detectou-se o maior número de amostras adulteradas (51,3% do total analisado), com valores de até 14,7% de água adicionada.

Outro ponto a se destacar é que várias amostras (20,4%), apresentaram valores de índice crioscópico iguais ou menores a $-0,55^{\circ}\text{H}$, resultados normalmente não encontrados em uma análise laboratorial de leite bovino normal. Várias hipóteses podem ser levantadas para explicar tais resultados, sendo a acidez mais elevada das amostras uma delas, já que a fermentação bacteriana da lactose aumenta a osmolaridade do sistema, com conseqüente diminuição do índice crioscópico. Uma pequena parte (5 amostras) realmente apresentava valores elevados de acidez ($> 18\text{g}$ de ácido láctico/100mL).

Em relação às contagens de microrganismos mesófilos, os resultados podem ser observados nas Tabelas 4 e 5.

Tabela 4: Resultados das amostras fora do padrão para contagem de mesófilos por produtor - Brotas, SP.

Produtores	Nº de amostras	Amostras fora do padrão	Porcentagem (%)
A	26	24	92,3
B	38	34	89,5
C	37	20	54,0
D	30	23	76,7
E	31	24	77,4
TOTAL	126	125	77,2

Tabela 5: Distribuição das amostras em classe de acordo com a contagem de microrganismos mesófilos (UFC/mL):

UFC/mL	Nº de amostras	Porcentagem (%)
$<10^3$	00	0,0
10^3 - 10^4	01	0,6
10^4 - 10^5	16	9,8
10^5 - 10^6	17	10,5
10^6 - 10^7	37	22,8
10^7 - 10^8	19	11,7
10^8 - 10^9	11	6,8
10^9 - 10^{10}	22	13,6
10^{10} - 10^{11}	03	1,8
$>10^{11}$	36	22,2

Pelos dados expostos nas Tabelas 4 e 5, fica evidente a má qualidade microbiológica do produto comercializado informalmente em Brotas, SP, já que 77,2% das amostras encontravam-se fora do padrão ($1,0 \times 10^6$ UFC/mL) estipulado atualmente pela legislação (BRASIL, 2002).

As contagens observadas em nosso estudo foram muito elevadas e permitem levantar a hipótese de que sejam originárias de sérias deficiências no tocante à higiene do processo de ordenha, bem como na conservação do produto, desde a sua obtenção até a sua comercialização direta ao consumidor.

Esta má qualidade do leite comercializado informalmente em Brotas, SP, também tem sido detectada em trabalhos recentemente publicados que procuraram avaliar o perfil microbiológico do produto entregue às plataformas dos laticínios em várias regiões do nosso país (NERO et al., 2004; SERRA, 2004; LAVOR et al., 2006).

Em nosso entender, no entanto, nossos dados são mais preocupantes, especialmente do ponto de vista de saúde pública, já que o leite informal não será submetido antes de ser entregue ao consumidor a nenhum tipo de processo que garanta a sua segurança microbiológica.

No tocante à presença de resíduos de antimicrobianos, em nosso experimento 6 amostras mostraram-se positivas, sendo 2 delas acima do limite de detecção do teste. No Brasil são vários os trabalhos que têm relatado a presença de tais drogas em amostras de leite, tanto cru como já processado (FAGUNDES, 1980; BARROS & PERCHES, 1981; GELLI et al., 1984; SILVA et al., 1984; MARTINS & MARTINS, 1985; PELAYO et al., 1990; ALBUQUERQUE et al., 1996; BORGES et al., 2000; BRANDÃO, 2000; SOUZA & BENEDET, 2000; NASCIMENTO et al., 2001; SERRA, 2004). Os resultados quanto à positividade das amostras são muito variáveis, mas na grande maioria dos trabalhos eles têm sido detectados. No presente experimento a porcentagem de amostras positivas, embora aparentemente pequena, é preocupante, já que além dos efeitos indesejáveis da presença de resíduos de tais drogas no alimento, já listados anteriormente, é indicativa de que parte do leite é oriunda de animais que estavam ou estão sob tratamento de mastite clínica ou outra enfermidade detectada pelo proprietário com quimioterápicos. No caso da mastite o risco sob o ponto de vista de saúde pública de que o leite seja veículo de agentes que possam causar quadros de enfermidades transmitidas por alimentos é ainda maior e não deve ser subestimado.

CONCLUSÃO

O leite *in natura* comercializado em Brotas, SP é de má qualidade, não atende aos requisitos legais e ainda pode ser fonte de perigos à saúde da população que o consome.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, L. M. B.; MELO, V. M. M.; MARTINS, S. C. S. Investigações sobre a presença de resíduos de antibióticos em leite comercializado em Fortaleza, CE. **Hig. Aliment.**, v.10, n.41, p.29-31, 1996.
- BADINI, K. B.; NADER FILHO, A.; AMARAL, L. A. Hábitos dos consumidores de leite cru produzido clandestinamente nos municípios de Botucatu, SP e São Manuel, SP. **Hig. Aliment.**, São Paulo, v. 11, p. 15-17, 1997.
- BARROS, V. R. M.; PERCHES, E. M. C. Pesquisa de inibidores no leite tipo B distribuído ao consumo da grande São Paulo. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, n. 216, p. 39-42, 1981.
- BERSOT, L. S.; BARCELLOS, V.C.; MOTTA, D.S.; GALVÃO, J.A. Perfil dos consumidores de leite informal de Palotina, PR. **Revista do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Paraná**, v. 4, p. 20, 2005.
- BOOR, K.J. Pathogenic microorganisms of concern to dairy industry. **Dairy Food Environ. Sanit.**, v.17 p.714-717, 1997.

BORGES, S.F.; OLIVEIRA, J.S. O nosso leite de cada dia. **Inf. Agropec.**, v.13, p.3-5, 1988.

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

BRANDÃO, S.C.C. Leite: Legislação, responsabilidade e saúde pública. **Revista Balde Branco**, n.360, p.68-71, 1994.

BRANDÃO, W. **Ocorrência de inibidores bacterianos (antibióticos) em leite cru tipo B produzido na região de Tupã, SP.** 2000. 67f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária-Vigilância Sanitária)- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

BRASIL. Ministério da Agricultura Agropecuária e Abastecimento. **Regulamentos técnicos de produção, identidade, qualidade, coleta e transporte de leite.** Instrução Normativa nº51, de 18 de setembro de 2002. Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa SDA nº22 de 14/04/2003. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Métodos analíticos oficiais físico-químicos para o controle de leite e produtos lácteos.** Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa SDA n.62, 26 de agosto de 2003. **Métodos microbiológicos para análise de alimentos de origem animal e água.** Brasília, 2003. 265p.

BRASIL. Portaria n.08 de 26 de junho de 1984. Ministério da Agricultura, Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária e Secretaria de Inspeção de Produto Animal definem normas técnicas e higiênico Sanitárias para a produção de leite tipo "B". **Revista Balde Branco**, v. 28, n. 238, p. 30-35, 1984.

CERQUEIRA, M.M.O.P.; LEITE, M.O. Doenças transmitidas pelo leite e derivados. **Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG**, n.13, p.39-62, 1995.

DONELLY, C.W. Concerns of microbial pathogens in association with dairy foods. **J. Dairy Sci.**, v.73, p.1656-1661, 1990.

FAGUNDES, C. M.; Persistência de antibióticos no leite bovino em condições experimentais prevalência no leite tipo B e C consumido em Belo Horizonte, 1980. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva). Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle da mastite.** São Paulo: Lemos Editorial., 2000. 175p.

FURTADO, M.M. **Principais problemas dos queijos:** causas e prevenção. São Paulo: Fonte e Comunicação, 1999. 22 p.

GELLI, D. S.; JAKABI, M.; SOUZA, A. Inibidores microbianos em leite pasteurizado do comércio da cidade de São Paulo-**Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 44, p. 19-24, 1984.

LAVOR, U.L.; D'OVIDIO, L.; IZIDORO, T.B.; PADOVANI, C.R.; PINTO, J.P.A.N. qualidade microbiológica do leite cru produzido na região de Botucatu, SP e impactos da nova legislação sobre a qualidade do produto. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE, 2, 2006, Goiânia. **Anais...** Goiânia, 2006. CD-ROM.

MARTINS, J.L.S.; MARTINS, I.S. Inibidores bacterianos no leite tipo B comercializado no município de São Paulo, SP. **Revista de Saúde Pública**, v. 19, p. 421-430, 1985.

NASCIMENTO, G.G.F.; MAESTRO, V.; CAMPOS, M.S.P. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite comercializado em Piracicaba-SP. **Revista Nutrição**, v. 12, n. 2, p.119-124, 2001.

NERO, L.A.; MATTOS, M.R.; BELOTI, V.; NETTO, D.P.; PINTO, J.P.A.N.; ANDRADE, N.J.; SILVA, W.P.; FRANCO, B.D.G.M. Hazards in non-pasteurized milk on retail sale in Brazil: prevalence of *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes* and chemical residues. **Braz. J. Microbiol.**, n.35, p. 211-215, 2004.

PELAYO, J. S.; et al. Detecção de resíduos antimicrobianos no leite cru e pasteurizado tipo C comercializado na região de Londrina, PR. **Semina**, v.11, n.2, p.89-91, 1990.

PONSANO, E.H.G.; PINTO, M.F.; DELBEM, A.C.B.; DE LARA, J.A.F.; PERRI, S.H.V. Avaliação da qualidade de amostras de leite cru comercializado no município de Araçatuba e potenciais riscos decorrentes de seu consumo. **Hig. Aliment.**, v.15, n.86, p.31-38, 2001.

QUEIROZ, J.C. **Avaliação sanitária do leite cru distribuído nos municípios de Juquitiba e Itapeirica da Serra**. 1995. Tese (Doutorado) - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

RITTER, R.; SANTOS, D.; BERGMANN, G.P. Análise da qualidade microbiológica de queijo colonial, não pasteurizado, produzido e comercializado por pequenos produtores no Rio Grande do Sul. **Hig. Aliment.**, v.15, n.87, p.51-54. 2001.

RODRIGUES, R.; FONSECA, L.M.; SOUZA, M.R. Acidez do leite. **Cad. Téc. Esc. Vet. UFMG**, n.13, p. 63-72, 1995.

SANTOS, M.V. **Resíduos de antibióticos no leite: porque evitá-los?**. Campinas:Milkpoint, 2000. Disponível em:
<http://www.milkpoint.com.br/mn/utills/print.asp?nv=1&id_artigo=15631 > Acesso em: 23 set. 2004.

SERRA, M.J.B. **Qualidade microbiana e físico-química do leite cru produzido na região de Pardinho, SP**. 2004. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

SILVA, J. P. et al. Prevalência de antibióticos no leite pasteurizado tipo B e especial 3.2% de gordura consumidos em Belo Horizonte, 1982-1983. **Revista do Instituto Cândido Tostes**. V.39, p.7-12, 1984.

SOUZA, N. G. & BENEDET, H. D. Ocorrência de resíduos de antibióticos no leite de consumo no estado de Santa Catarina, Brasil. **Revista do Instituto Cândido Tostes**, v.54, n.315, p.156-162, 2000.