

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

FACULDADE DE NUTRIÇÃO



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO - MESTRADO

EURÍDICE FARIAS FALCÃO

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DE LEITE CRU COMERCIALIZADO EM
ALAGOAS E SUA RELAÇÃO COM A CLIMATOLOGIA DA REGIÃO DO
SEMIÁRIDO ALAGOANO

Maceió

2016

EURÍDICE FARIAS FALCÃO

CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DE LEITE CRU COMERCIALIZADO EM
ALAGOAS E SUA RELAÇÃO COM A CLIMATOLOGIA DA REGIÃO DO
SEMIÁRIDO ALAGOANO

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Nutrição
da Universidade Federal de Alagoas como
requisito parcial à obtenção do grau de
Mestre em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes
Nascimento

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Cristina
Delgado da Silva

Maceió

2016

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecária Responsável: Helena Cristina Pimentel do Vale

- F178a Falcão, Eurídice Farias.
Caracterização da microbiota de leite cru comercializado em Alagoas e sua relação com a climatologia da região do semiárido / Eurídice Farias Falcão, 2016.
76 f. : il.
- Orientador: Tirciano Gomes do Nascimento.
Coorientadora: Maria Cristina Delgado da Silva.
Dissertação (mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas. Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió, 2016.
- Inclui bibliografia e anexos.
1. Leite cru – Alagoas. 2. Leite cru – Contaminação. 3. Microrganismos. 4. Staphylococcus aureus. 5. Escherichia coli. 5. Segurança alimentar. I. Título.

CDU: 613.2:636.293.2

MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS



Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro dos Martins
Maceió-AL 57072-970
Fone/fax: 81 3214-1160

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO

“CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DE LEITE CRU
COMERCIALIZADO EM ALAGOAS E SUA RELAÇÃO COM A
CLIMATOLOGIA DA REGIÃO DO SEMIÁRIDO ALAGOANO”

por

Eurídice Farias Falcão

A Banca Examinadora, reunida aos 20 de maio de 2016, considera
a candidata **APROVADA**.

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Orientador)

Prof. Dr. Arnaldo Diniz Basílio Junior
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Zenaldo Porfírio da Silva

Faculdade de Medicina
Universidade Estadual de Ciências da Saúde de Alagoas
(Examinador)

Prof. Dr. Washington Luiz Félix Correia Filho
Universidade Federal do Rio Grande do Norte
(Examinador)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por acreditar e dar-me a oportunidade de realizar mais um sonho, me abençoando e guiando todos os meus passos.

A Jesus Cristo, meu Mestre Maior, que me conduz divinamente em todos os momentos, proporcionando sabedoria e inteligência na aquisição de conhecimentos.

A minha filha Bárbara Amanda, pelo companheirismo, incentivo, carinho e alegria que motiva todos os dias de minha vida, me fazendo caminhar sempre em busca de realização dos meus objetivos.

Em especial, ao meu notável orientador Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento, pela condução aos conhecimentos, paciência, compreensão e dedicação em todos os momentos da pesquisa.

A minha Co-Orientadora e estimada Prof^a. Dra^a. Maria Cristina Delgado da Silva, pela colaboração fundamental ao desenvolvimento deste trabalho.

Ao parceiro e colega de laboratório Cantídio Francisco de Lima Filho, pelo apoio e ensinamentos preciosos durante as diferentes fases do projeto.

Ao companheiro de estudos Otto Portela, pela condução, companheirismo e colaboração na coleta das amostras para análises.

Ao Prof. Dr. Washington Luiz Félix Correia Filho, pela solicitude e contributo valioso dos seus fundamentos no desdobramento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Ricardo Ferreira Carlos de Amorim, pela disposição, acesso e orientação compartilhados na idealização deste trabalho.

RESUMO GERAL

A produção agropecuária no Brasil desempenha função reputada no cenário da economia nacional e suas atividades econômicas direcionadas com a criação de gado conduziram o povoamento do interior do país e a comercialização informal de leite cru é um problema comum. O semiárido nordestino compõe as principais bacias leiteiras do Brasil, cuja produção é predominantemente oriunda de pequenas explorações de base familiar, de inquestionável relevância socioeconômica. O sistema de aquisição deste produto ainda é praticado sob precárias condições higiênico-sanitárias, o que leva a contagens elevadas de microrganismos, podendo constituir-se um risco à saúde coletiva, principalmente quando consumido sem tratamento térmico adequado. Estudos de microrganismos indicadores e patogênicos nos alimentos são importantes por ser um fator de preocupação a ocasionar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Vários elementos interferem na produção e qualidade do leite cru, inclusive no que se refere à saúde do animal e que fatores biometeorológicos estão intrinsecamente ligados ao bovino leiteiro. A pesquisa objetivou caracterizar a microbiota de leite cru comercializado em regiões do Estado de Alagoas e a sua relação com a influência meteorológica em 07 regiões do semiárido alagoano quanto à determinação de Coliformes a 45°C, pesquisa de *Escherichia coli*; e contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Listeria monocytogenes*. Os dados microbiológicos demonstraram considerável contagem de Coliformes a 45°C, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva para as amostras de leite cru da região de semiárido alagoano, dependente da época do ano e períodos de transição climática, não sendo detectado *Listeria monocytogenes* em nenhuma amostra, apesar da possível ocorrência em ambientes de ordenha.

Palavras-Chave: Leite cru – Alagoas. Leite cru – Contaminação. Microbiologia. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. Segurança alimentar.

GENERAL ABSTRACT

Agricultural production in Brazil plays a reputed role in setting the national economy and its economic activities directed to the livestock led the population of the countryside and the informal marketing of raw milk is a common problem. The semi-arid northeast composes the main dairy regions of Brazil, whose production is mainly coming from small farms family-based, unquestionable socioeconomic relevance. The product of this acquisition system is still practiced under precarious sanitary conditions, which leads to higher counts of microorganisms, which may constitute a risk to public health, especially when consumed without adequate heat treatment. Studies indicators and pathogenic microorganisms in food are important for being a source of concern to cause Transmitted Disease outbreaks for Food (DTA). Several elements interfere with the production and quality of raw milk, including with regard to the animal health and biometeorological factors are intrinsically linked to dairy cattle. The study aimed to characterize the microbiota of raw milk sold in regions of the State of Alagoas and its relationship with the weather influence in 07 regions of Alagoas semiarid region as the determination of coliforms at 45 ° C, *Escherichia coli* research; and coagulase-positive *Staphylococcus* count of *Listeria monocytogenes* and research. Microbiological data showed considerable Coliform count at 45 ° C, *E. coli* and *Staphylococcus* coagulase positive for samples of raw milk of Alagoas semiarid region, depending on the time of year and climate transition periods, not detected *Listeria monocytogenes* in any sample, despite the possible occurrence milking environments.

Keywords: Raw milk – Alagoas. Raw milk – Contamination. Microbiology.
Staphylococcus aureus. Escherichia coli. Food security.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Seção 3 - Artigo 1

Figura 1 – Fatores interferentes na produção de leite.....	16
Figura 2 – Municípios que compõem os Territórios do Estado de Alagoas	17

Seção 4 - Artigo 2

Figura 1 – Mapa dos Municípios de Alagoas com destaque em vermelho das localizações das Associações de agricultores familiares e produtores de leite	40
Gráfico 1 - Box & Plotter para os dados de determinação de Coliformes a 45°C analisando todas as Associações leiteiras	49
Gráfico 2 – Diagrama de árvore avaliando a qualidade microbiológica do leite das das associações leiteiras quanto ao atributo para Coliformes a 45°C	50
Gráfico 3 – Box & Plotter para os dados de determinação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva analisando todas as Associações leiteiras	52
Gráfico 4 - Diagrama de árvore avaliando a qualidade microbiológica do leite das Associações leiteiras quanto ao atributo para <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	53
Gráfico 5 - Conforto Térmico Bovino com ITU entre julho/2014 e julho/2015 para a microrregião de Traipu-Penedo (A), entre maio/2015 e maio/2016 da mesma microrregião(B) e entre maio/2015 e maio/2016 da microrregião de Palmeira dos Índios (C)	54
Gráfico 6 - Índice de Vegetação das microrregiões de Traipu-Penedo (A) e Palmeira dos Índios (B)	55
Gráfico 7 - Matriz avaliando as prováveis variáveis climatológicas que podem influenciar nos indicadores microbiológicos de qualidade Coliformes a 45°C e <i>E. coli</i>	56
Gráfico 8 - Ternários em 3D avaliando variáveis meteorológicas principais que podem estar associadas ao aumento no número de Coliformes a 45°C.....	58

Gráfico 9 - Matriz avaliando as prováveis variáveis climatológicas que podem influenciar no indicador de qualidade <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	59
---	----

Seção 4 - Artigo 2

Tabela 1 – Número de coletas realizadas nas associações rurais receptoras de leite cru por Município, entre julho de 2014 e abril de 2015.....	41
Tabela 2 – Variáveis utilizadas, abreviações no arquivo excel e as dimensões de cada uma das variáveis, unidades, fator de correção (necessário).....	45
Tabela 3 – Localização das cidades utilizadas, com base na aproximação dos pontos de grade.....	46
Tabela 4 – Distribuição de contagem de Coliformes a 45°C e <i>Escherichia coli</i> em amostras de leite cru refrigerado provenientes de diferentes regiões de Alagoas	48
Tabela 5 – Distribuição de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva nas 58 amostras de leite cru refrigerado, analisados pela técnica de Unidade Formadora de Colônia (UFC).....	51

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
ECMWF	European Centre for Medium-Range Weather Forecasts
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMET	Instituto Nacional de Meteorologia
JAXA	Japan Aerospace Exploration
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MDA	Ministério do Desenvolvimento Agrário
Ng	nanograma
NASA	National Aeronautics Space Administration
NMP	Número Mais Provável
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SIM	Sistema de Informação sobre Mortalidade
TRMM	Tropical Rainfall Measuring Mission
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	Objetivo geral.....	14
2.2	Objetivos específicos.....	14
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1	Introdução.....	15
3.2	Desenvolvimento.....	16
3.2.1	Produção de leite no semiárido nordestino.....	16
3.2.2	Inerências ambientais e do rebanho bovino.....	18
3.2.3	Técnica de produção integrada na bovinocultura do leite no Nordeste..	19
3.2.4	Importância da água nos sistemas de produção de leite.....	20
3.2.5	Importância da forragem de boa qualidade para bovinos leiteiros.....	22
3.2.6	Microbiota do leite cru.....	23
3.2.6.1	Microrganismos Indicadores.....	23
3.2.6.2	Coliformes totais, coliformes fecais e <i>Escherichia coli</i>	24
3.2.6.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	25
3.2.6.4	<i>Listeria monocytogenes</i>	25
3.2.7	Leite cru: qualidade e comercialização informal.....	26
3.2.8	Produção de leite em Alagoas.....	28
3.2.9	Doenças Transmitidas por Alimentos: impacto à saúde pelo consumo de leite cru.....	29
3.3	Considerações finais.....	30
4	ARTIGO CIENTÍFICO.....	31
4.1	Introdução.....	33
4.2	Métodos.....	40

4.2.1	Planejamento Amostral.....	40
4.2.2	Coleta das Amostras.....	41
4.2.3	Análise Microbiológica.....	42
4.2.4	Caracterização das Variáveis Meteorológicas das Regiões de Captação do Leite.....	43
4.2.5	Especificação dos Índices de Conforto Térmico Bovino (ITU).....	46
4.3	Resultados	46
4.4	Discussão.....	47
4.4.1	Detecção da Microbiota.....	47
4.4.2	Identificação e contagem de contagem de Coliformes a 45°C e <i>Escherichia coli</i> versus variáveis meteorológicas.....	56
4.4.3	Identificação e contagem de contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva versus variáveis meteorológicas.....	58
4.5	Considerações.....	59
	REFERÊNCIAS.....	60
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
	REFERÊNCIAS GERAIS	65
	ANEXOS.....	72

1 INTRODUÇÃO GERAL

O incremento da produção primária dos alimentos em diversas áreas se torna cada vez mais desafiante, com a proposta de integração mundial entre os países, que econômica e socialmente contribuem ao mercado brasileiro compartilhar do progresso da indústria alimentícia. A produção agropecuária no Brasil por sua vez, desempenha função reputada no cenário da economia nacional e suas atividades econômicas estão direcionadas com a criação de gado que conduziram o povoamento do interior do país. Com a existência e valorização da agricultura familiar como patrimônio histórico e cultural no Brasil, a produção de leite em território nacional tornou-se a sua principal característica, vinculada à primeira participação da cadeia produtiva leiteira através de pequenas propriedades de base familiar (LORDÃO, 2011).

Sendo estimado como um dos alimentos mais completos em termos nutricionais e fundamentais para dieta humana, o leite reúne excelentes substratos para o desenvolvimento de uma grande diversidade de microrganismos, inclusive os patogênicos, que estão relacionados com surtos de origem alimentar (SILVA et al., 2008). A qualidade do leite está associada à carga microbiana, sendo uma variável dependente da carga bacteriana inicial e da taxa de multiplicação dos microrganismos, ao qual depende basicamente dos seguintes fatores: carga microbiana do leite dentro da própria glândula mamária, ou seja, da saúde do rebanho em termos de mastite, higiene da ordenha, condição da limpeza e higienização dos utensílios utilizados na ordenha, qualidade da água utilizada no estábulo e temperatura *versus* tempo de armazenamento do leite (MENDONÇA et al., 2001).

Predominantemente a microbiota do leite cru inclui estirpe de bactérias pertencentes à família *Micrococcaceae* (como *Staphylococcus spp.* considerado potencialmente patogênico e responsável por intoxicações alimentares) e outros grupos microbianos também presentes, que englobam *Listeria spp.* (como *Listeria monocytogenes* que pode ocasionar doença no homem) e Enterobactérias (LAFARGE et al., 2004). É possível contar com a presença dos coliformes termotolerantes (Coliformes a 45°C) que são indicadores de possível contaminação de origem fecal sugerindo a presença de patógenos entéricos (MELO et al., 2010). Além dos coliformes, a detecção de *Escherichia coli* e *Klebsiella spp.* também é

observada quando na presença de dejetos dos animais, no solo e em água contaminada (BRITO, 2010).

Ao observar os níveis e tipos de microrganismos encontrados no leite, proporcionalmente poderá conduzir dados sobre os requisitos de higiene durante as suas etapas de processamento (ELMOSLEMANY et al., 2010). Independente de sua proveniência, o leite deve garantir qualidade e inocuidade ao consumidor, tornando-se uma constante preocupação para técnicos e autoridades ligadas à área de saúde, principalmente pelo risco de veiculação de microrganismos relacionados com surtos de doenças de origem alimentar (SILVA, 2008 apud LEITE JUNIOR; TORRANO; GELLI, 2000; TIMM et al., 2003). No Brasil, não existe uma regulamentação específica quanto à qualidade microbiológica do leite cru destinado à fabricação de produtos lácteos específicos (PINTO, 2006).

No contexto geral, o sistema de aquisição do leite no Brasil ainda é praticado sob precárias condições higiênico-sanitárias, o que leva a contagens elevadas de microrganismos no produto, podendo constituir-se um risco à saúde coletiva, principalmente quando consumido sem tratamento térmico adequado (MATTOS et al., 2010). E, de acordo com Mendes et al. (2010) apud (JAYARAO; HENNING, 2001), a comercialização informal de leite cru é um problema comum no Brasil, havendo necessidades de programas educacionais para conscientização da população sobre os riscos associados ao consumo deste produto, sem o devido processamento tecnológico.

Aliado às formas e circunstâncias de aquisição e tratamento do leite in natura estão os fatores interligados na produção láctea do rebanho, que advêm, além da nutrição, das condições que interferem no desempenho e bem-estar do animal, influenciados por problemas fisiológicos e comportamentais causados pelo estresse térmico. O ambiente térmico é determinado pelo clima de uma região, que encontram-se fatores climáticos como: temperatura, umidade relativa do ar, radiação solar e velocidade do ar, reunidos numa variável única, a temperatura efetiva. O estresse oriundo de altas temperaturas e umidade pode culminar em maior suscetibilidade a infecções intramamárias, bem como aumentar o número de patógenos aos quais as vacas estão expostas (RICCI, 2013). Os riscos de mastite bovina por *Staphylococcus aureus* parecem estar aumentados na existência de elevação dos índices pluviométricos, possivelmente ocasionados em condições de umidade e temperatura favoráveis à sua sobrevivência e proliferação (ZAFALON et

al., 2008). Há também relatos em pesquisa que a taxa de infecções por patógenos ambientais demonstrou presença maior no verão e coincidiu com o maior número de coliformes nas camas dos animais (RICCI, 2013 apud SMITH et al., 1985).

O grupo dos coliformes é encontrado nos dejetos dos animais, no solo e em água imprópria ao uso, e, altas contagens no leite cru sugerem seguramente a contaminação fecal de úberes e tetos sujos, deficiência na higiene durante a ordenha, falhas na limpeza dos equipamentos e utensílios ou utilização de água contaminada na limpeza dos equipamentos (BRITO, 2010). A qualidade da água é uma questão fundamental na produção e na saúde dos animais, contando-se que a prática pecuária é uma grande usuária dos recursos hídricos, e o rebanho obtém a água normalmente dos mananciais naturais, como: rios, riachos, represas, lagoas, diques, açudes, barreiros e poços. O líquido pode ser ingerido diretamente no local pelos animais ou é utilizado através de redes de distribuição canalizada para diferentes tipos de bebedouros (ARAÚJO et al., 2011).

Sabe-se, no entanto, que o semiárido, além da pouca disponibilidade dos recursos hídricos, estes se encontram prejudicados devido ao mau uso. Conseqüentemente, a disponibilidade mínima de água provoca a perda da qualidade devido à contaminação recebida que é uma consequência direta da ação antrópica, principalmente pelo lançamento de fezes humanas e de animais ou escoamento de esgoto doméstico nesses mananciais (NASCIMENTO, 2016).

Esta pesquisa constitui a caracterização da microbiota no leite cru comercializado em algumas regiões do agreste e do baixo São Francisco no Estado de Alagoas, através da investigação de microrganismos indicadores de contaminação fecal (Coliformes a 45°C e *Escherichia coli*) e alguns patogênicos (*L. monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*) e a sua relação com a influência meteorológica da região do semiárido alagoano. Justifica-se a realização deste estudo pela relevância de conhecer a qualidade e a segurança sanitária do leite cru in natura, a partir de sua origem, que implica na vulnerabilidade à saúde dos usuários quando consumidos diretamente e utilizados inadequadamente na fabricação de subprodutos, com possibilidades de desencadeamento de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), além de proporcionar elementos de referencial para controle e melhoria do produto que garanta os processos de produção industrial com qualidade.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar a microbiota de leite cru comercializado em regiões do Estado de Alagoas e a sua relação com a influência meteorológica da região do semiárido alagoano.

2.2 Objetivos Específicos

a) Desenvolver uma revisão da literatura sobre a presença de microrganismos indicadores e patogênicos em leite cru refrigerado como fator de preocupação a ocasionar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA).

b) Avaliar a qualidade higiênico-sanitária de leite cru comercializado em 7 regiões de Alagoas quanto à determinação do Número Mais Provável (NMP/mL) de Coliformes a 45°C e pesquisa de *Escherichia coli*; isolamento, identificação e contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva e pesquisa de *Listeria monocytogenes*.

c) Realizar uma análise meteorológica aplicada ao bovino leiteiro com as especificidades climáticas das microrregiões de produção do leite;

d) Estabelecer uma relação entre a microbiota analisada de leite cru das regiões estudadas e suas inter-relações com as variáveis climatológicas do semiárido alagoano.

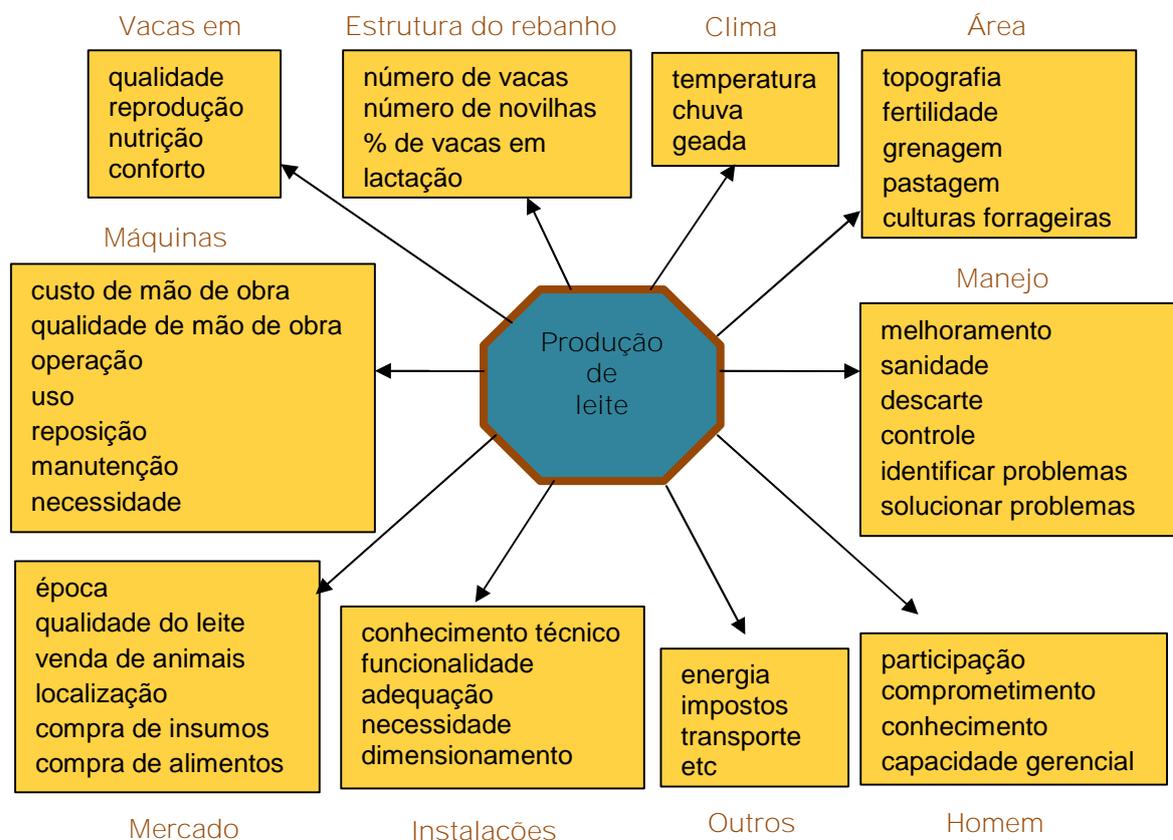
3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Introdução

Em 2012, o Ministério do Desenvolvimento Agrário (MDA) computou que o crescimento da produção nacional de leite e derivados por parte da agricultura familiar aumentou de forma significativa em dez anos devido ao bom desempenho do setor e creditado em grande parte às políticas públicas adotadas de estímulo à atividade das cooperativas de produtores familiares que, além de haver maior produção, passou também a diversificar seus produtos possibilitando a permanência de maior contingente de produtores na atividade. O crescimento acumulado da produção passou dos 25,2 bilhões de litros de leite em 2006, para 30,8 bilhões em 2011, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Desse total, mais de 60% ou cerca de 2/3 da produção nacional vêm da agricultura familiar (BRASIL, 2012).

Desde a mais remota antiguidade, o homem utiliza o leite como alimento, ordenhando diversas espécies de animais domésticos, embora algumas espécies possuíssem baixa produtividade. Em particular, além dos bubalinos, os bovinos são grandes produtores de leite em todo o mundo, submetidos aos mais diferentes sistemas de criação, em função de vários fatores que interferem no processo produtivo (Figura 1), tais como: topografia, drenagem, pastagens e culturas forrageiras. A definição do sistema de produção pode ser estabelecida por cada fazenda. No semiárido nordestino, a maioria destes sistemas dispõe o pasto nativo e a água distante, geralmente de açudes, e para o sistema de criação e produção a ser adotado decorre do desempenho dos animais existentes e das práticas zootécnicas utilizadas na propriedade (SANTOS, 2009).

Figura 1 - Fatores interferentes na produção de leite.



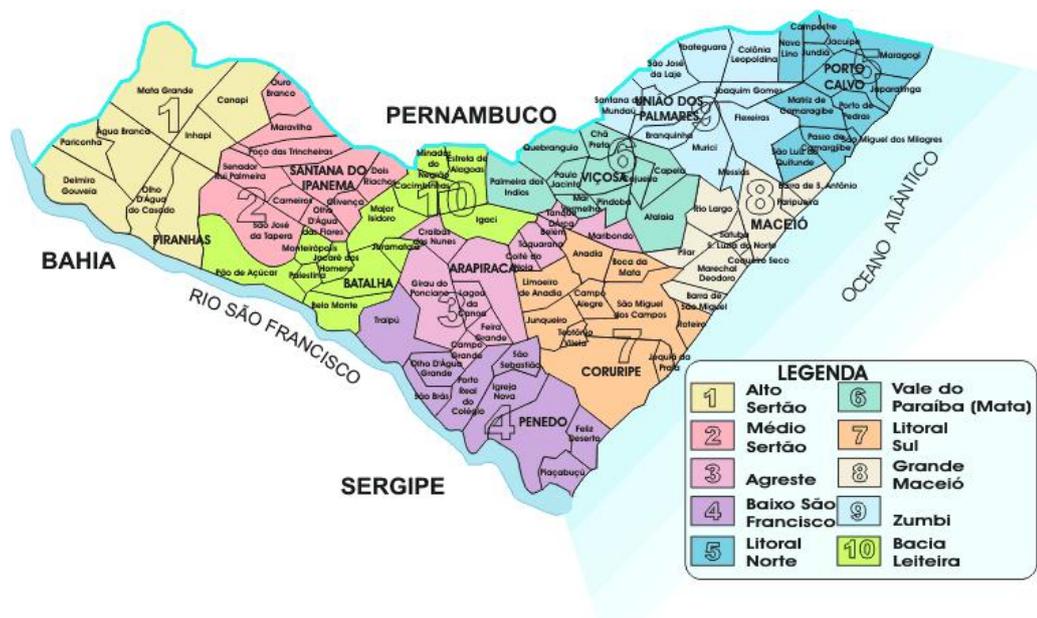
Fonte: SANTOS (2009).

3.2 Desenvolvimento

3.2.1 Produção de leite no semiárido nordestino

Alagoas (AL) é um estado brasileiro localizado na região Nordeste do país, fazendo divisa com Pernambuco, ao norte; com o Sergipe, ao sul; e com a Bahia, a oeste; sendo banhado a leste pelo Oceano Atlântico (Figura 2). O relevo caracteriza-se por se encontrar na região da Depressão Sertaneja e do São Francisco, no Planalto de Borborema e nas Planícies e Tabuleiros litorâneos, quando na organização do espaço geomorfológico do Brasil (PENA, 2016 apud Ross, 2005). Portanto, o espaço alagoano é marcado pela presença de planícies, planaltos e depressões, apresentando altitudes que, em média, não ultrapassam os 300 metros, salvo alguns locais de maior elevação, com destaque para a Serra da Santa Cruz, cujo ponto mais alto se encontra a 844 metros acima do nível do mar (PENA, 2016).

Figura 2 – Municípios que compõem os Territórios do Estado de Alagoas



Fonte: <http://sit.mda.gov.br/download/ptdrs/ptdrs_qua_territorio036.pdf>

Nas regiões marcadas pela predominância das depressões, há evidência do clima semiárido como característico do Agreste nordestino. Nas outras partes do território, a presença é do clima tropical úmido, com um regime maior de chuvas nos pontos mais próximos ao litoral (PENA, 2016).

O semiárido nordestino compõe as principais bacias leiteiras do Brasil, cuja produção é predominantemente oriunda de pequenas explorações de base familiar, de inquestionável relevância socioeconômica. Nenhuma outra atividade assegura tantos benefícios quanto aos condicionados pela atividade leiteira em uma pequena propriedade, que perfaz: fluxo de caixa semanal, menores riscos de investimentos, alto escoamento do capital fixado em animais e, frequentemente, sendo a principal forma de capitalização e inserção no mercado para centenas de milhares de produtores familiares sertanejos, para quem poucas opções de transformação econômica são viáveis, devido a inconstância climática da região (CARVALHO FILHO, 2011).

O clima é considerado um fator primordial para a definição de um sistema, tanto para o animal, como para a produção de forragem. Fatores climáticos, tais como: temperatura, pluviosidade, geada e umidade são muito importantes a serem considerados. No Nordeste brasileiro, a pluviosidade é um fator imprescindível, pois determina a produção de forragem em locais com maior ocorrência, mas

dependendo da intensidade pode provocar formação de barro (lamaçal), impedindo o tráfego nos corredores de pastejos e aumentando o índice de mastite. Em caso de pluviosidade baixa, pode ocorrer o impedimento da produção de forragem ou a armazenagem de água para consumo do próprio gado, referenciado no Nordeste com açudes e barreiros (SANTOS, 2009).

A grande maioria dos pequenos produtores ainda sobrevive do usufruto de uma baixa oferta ambiental constante e inadequada dos recursos naturais. Verifica-se a fragilização dos rebanhos, devido a utilização de animais com alta mestiçagem de raças europeias especializadas, acarretando no uso desregrado de carrapaticidas, vermífugos e antibióticos, levando a sinalização notória de degradação ambiental e de contaminação alimentar que, juntamente com outras ameaças, configuram um quadro de comprometimento da sustentabilidade da cadeia produtiva do leite em regiões semiáridas nordestinas, com uma oferta de leite de baixa qualidade (CARVALHO FILHO, 2011).

3.2.2 Inerências Ambientais e do Rebanho Bovino

A inconsistência climática é o que mais caracteriza o semiárido nordestino, com perfil de produção acentuadamente estacionária e irregular ao longo dos anos, resultando na restrição e assim dificultando o planejamento e a execução das atividades agropecuárias. O sertão alagoano é caracterizado por relevo predominantemente suave-ondulado, com solos rasos, pedregoso, pouco dissecados e que constitui problemas de salinidade. O clima é semiárido quente e apresenta dois períodos chuvosos distintos: primeiramente, em maior proporção, ocorre na região mais seca (sertão) com período chuvoso de outubro a abril e o segundo ocorre na região de clima mais ameno (agreste) com período de janeiro a junho, com pequenas variações. A caatinga hipoxerófila (árvores e arbustos com espinhos e de aspecto menos agressivo) é a vegetação natural predominante nas áreas menos secas, enquanto a caatinga hiperxerófila (poucas plantas de pequeno porte, ambiente seco-desértico, solo irregular) predomina nas áreas mais acentuadas (CARVALHO FILHO, 2011).

Direta ou indiretamente as condições climáticas influenciam na criação de animais de três maneiras importantes. Primeiro, os animais domésticos são altamente dependentes da disponibilidade de forragem e esta disponibilidade é

altamente dependente do clima, o qual determina o tipo, a quantidade e a qualidade da forragem disponível, além de influenciarem até mesmo a difusão de insetos e de doenças que atacam as plantações, a partir dos elementos climáticos como a precipitação, a temperatura e a radiação; segundo, as condições climáticas afetam as funções físicas normais dos animais, que devem estar fisiologicamente ajustados ao ambiente para sobreviverem, e, em caso contrário os níveis de produção caem abaixo do mínimo. Por último, a produção pecuária é influenciada indiretamente pelo clima, determinando os tipos de animais e de doenças que seriam predominantes em um dado ambiente (AYOADE, 2002).

Ao se referir da ambiência animal, precisamente quanto ao conforto térmico, Filho (2011) atenta que, as temperaturas excessivas são verificadas nos meses mais quentes do ano, entre 32°-35°C com eventualidade de picos atingíveis até 40°C, promovendo interferência direta sobre o bem-estar e o desempenho animal, além de afetar o valor nutritivo das plantas locais, tornando-as mais fibrosas e menos digeríveis, quando comparadas às regiões mais amenas. No período seco, ocorre uma redução da disponibilidade de forragem nas pastagens, do seu valor nutritivo e a alimentação do rebanho se faz necessária com a utilização de forragens de alta qualidade produzidas a partir da infraestrutura agrosilvipastoris e rações concentradas. Em período chuvoso, o rebanho alimenta-se, basicamente, de pastagens cultivadas, realizando pastejo de “pontas”, em rodízio de pastos.

Devido às condições de seca, a quantidade e a qualidade nutritiva dos pastos são prejudicadas, resultando numa redução na produção de leite e uma perda de peso generalizada nos animais. Há também carência de água para os animais beberem provocando desta forma o desconforto, em especial nos ambientes e nas estações mais quentes. A exemplo, o gado geralmente prefere pastar em locais sombreados do que sob o sol e normalmente descansa durante à tarde, quando as temperaturas são altas e a radiação é mais forte. Tal influência climática interfere também sobre a incidência e difusão de doenças além de pestes que atacam pontualmente os animais (AYOADE, 2002).

3.2.3 Técnica de Produção Integrada na Bovinocultura do Leite no Nordeste

Os sistemas silvipastoris são definidos como uma técnica de produção na qual ocorre uma integração de pastagem, árvores e arbustos e criação de animais

(RANGEL et al., 2011 apud MEDEIROS; SANTOS, 2011). Estes sistemas se destacam por apresentarem um grande potencial de benefícios econômicos e ambientais, tendo como exemplo, a criação de animais com árvores dispersas na pastagem, árvores em divisas e em barreiras de quebra-ventos, que permitem reduzir a erosão, beneficiarem a conservação da água, reduzir a necessidade de fertilizantes minerais, capturar e fixar carbono, diversificar a produção e melhorar o conforto dos animais (RANGEL et al., 2011 apud SANSON; SANTOS, 2011).

3.2.4 Importância da Água nos Sistemas de Produção de Leite

Com característica de clima seco, o semiárido brasileiro conta com precipitações anuais entre 250 a 500 mm (NASCIMENTO, 2016 apud CIRILO, 2008) e abrange oito Estados Nordestinos e o Norte de Minas Gerais, perfazendo uma área total de 980.133,079 Km² e contando com 22,5 milhões de pessoas distribuídas entre 1.135 municípios, sendo considerada a região árida mais habitada do mundo. Apesar de 1.122 municípios disporem de rede de distribuição de água, 16% deles apresentam poluição ou contaminação da sua fonte de abastecimento, tornando-se um fator crítico às populações locais (NASCIMENTO, 2016 apud INSA, 2014). Nessas áreas, devido ao crescimento populacional e ao mau uso dos recursos hídricos, a reduzida disponibilidade de água provoca a perda da qualidade devido à contaminação, conseqüentemente pela ação antrópica, sobretudo de descarga de fezes humanas e de animais ou lançamento de esgoto doméstico nesses mananciais. (NASCIMENTO, 2016)

A água é um nutriente essencial para todos os animais e a escassez crescente deste precioso recurso natural afeta diretamente a pecuária, tendo em vista a demanda de grande quantidade para seu crescimento, bem-estar, produção de carne e leite. A atividade pecuária intensiva é grande consumidora direta de recursos hídricos e os animais podem obter a água a partir de três fontes, sendo: a água de beber, a água contida nos alimentos e a água metabólica derivada do catabolismo dos nutrientes (ARAÚJO et al., 2011 apud EMINGER et. al., 1990). A disponibilidade deste nutriente é muitas vezes um fator limitante para os rebanhos, principalmente em regiões áridas e semiáridas. Precisamente no decorrer da estação seca, os animais consomem forragens de baixo teor de umidade e baixo valor nutricional, com acesso irregular e limitado de água potável a uma vez por dia

quando os animais têm acesso a um ponto para dispor do fluido, e, em muitas ocasiões, se faz necessário o transporte desta água até os animais (ARAÚJO et al., 2011 apud ARAÚJO et al., 2010).

Ainda segundo Araújo et al. (2011), a oferta do líquido origina-se dos mananciais naturais como rios, riachos, represas, lagoas, diques, açudes, barreiros e poços, que podem ser ingeridas diretamente no local pelos animais ou são utilizadas em redes de distribuição canalizada para diferentes tipos de bebedouros. Com referência aos mananciais naturais, o bom manejo dos animais deve ser acompanhado, tendo em vista, algumas vezes, o favorecimento de processos erosivos além de servir como fonte de contaminação por impurezas ou substâncias tóxicas para os animais, bem como a propensão para verminoses, já que os mesmos, em muitas ocasiões, defecam e urinam no local.

Satisfazer o requerimento completo de água para um animal, fornecendo quantidade suficiente ao consumo voluntário – que equivale a 83% do consumido - é imprescindível para o sucesso do manejo nutricional. Entretanto, é preciso determinar a exigência orgânica do animal através de um processo que envolve o balanço hídrico, ou seja, em que o consumo deve satisfazer a totalidade da perda da água. Independentemente do tipo de fonte, a utilização ou a ingestão de água pelo animal, pode estar diretamente relacionada a diferentes variáveis, tais como: o peso do corpo; o consumo da matéria seca; o consumo de energia; efeitos das estações do ano (temperatura, radiação e umidade); efeito da privação (disponibilidade e espaço dos bebedouros), da qualidade da água, das espécies; das raças e dos diferentes estágios fisiológicos do animal: crescimento, gestação e lactação. (ARAÚJO et al., 2011 apud NRC, 2007).

A baixa qualidade da água oferecida aos ruminantes pode prejudicar o desempenho do animal e se constituir em um fator limitante nos sistemas de produção, resultando na queda de consumo, perda de peso, transtornos digestivos e metabólicos, redução da produção de leite e carne, alteração na reprodução e consequências mais extremas, como a morte de animais. A pesquisa sobre contaminantes da água e seus efeitos no desempenho de bovinos são escassas. A prevalência das causas de alterações de odor e sabor são efeitos de propriedades físico-químicas, excessos de substâncias e de presença de bactérias e seus metabólitos (ARAÚJO et al., 2011)

Notabiliza-se que a qualidade da água é uma questão fundamental na produção e saúde dos animais, podendo-se considerar cinco propriedades frequentemente consideradas ao uso, como: características organolépticas (odor e sabor), propriedades físico-químicas (pH, sólidos totais dissolvidos, total oxigênio dissolvido e dureza), as presenças de compostos tóxicos (metais pesados, minerais tóxicos, organofosforados e hidrocarbonetos), excesso de minerais ou compostos (nitratos, sulfatos, sódio e ferro) e de bactérias. O odor e gosto desagradável na água podem ser detectados pelos animais. Caso a fonte de água apresentar odor intragável, os animais poderão não beber o suficiente para atender as necessidades de produção ou mesmo rejeitar totalmente. (ARAÚJO et al., 2011apud WALDNER; LOOPER, 2010).

3.2.5 Importância da Forragem de Boa Qualidade para Bovinos Leiteiros

A pecuária representa uma das mais importantes atividades do agronegócio no semiárido brasileiro, com muitas dificuldades a superar. A resistência maior à seca quando comparada às explorações agrícolas, tem se constituído num dos principais fatores para a garantia da segurança alimentar das famílias rurais e geração de emprego e renda, tendo a pecuária condições de representar o eixo principal dos sistemas de produção. Para isso, é necessário a estruturação de um suporte alimentar que garanta reservas para o período seco, de forma a permitir o manejo maior do rebanho à geração produtiva que assegure renda e lucros capazes de melhorar a qualidade de vida no campo (LIMA, 2009).

Comumente, a paisagem natural do segundo semestre no semiárido é a dos pastos nativos secos, que se tornam muito pobres, fibrosos e pouco contribuem para atender às necessidades dos rebanhos. A falta de alimentos adequados que garantam sua nutrição é evidente, as vacas diminuem a produção de leite, apresentam dificuldades de entrar no cio após o parto, o gado jovem e solteiro perde o peso e atrasa seu crescimento. O custo da produção do leite tem estimativa de mais de 50% das despesas com a alimentação do gado e durante o período chuvoso é necessário que o criador saiba como vai alimentar seu rebanho, desenvolvendo estratégias de reserva de alimentos para garantir a saúde e a produção de seus animais no período seco (LIMA, 2009).

3.2.6 Microbiota do Leite Cru

No leite cru geralmente a microbiota predominante inclui espécies de bactérias do ácido láctico (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*, *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à família *Micrococcaceae* (*Micrococcaceae* *Staphylococcus* spp.). Outros grupos microbianos também presentes incluem: *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. **E**nterobactérias. Há também muitas espécies como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* e *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* e *Propionibacterium* (LAFARGE et al., 2004). Entre os grupos de microrganismos que podem estar presentes no leite cru estão aqueles potencialmente patogênicos, responsáveis pelas intoxicações alimentares, *Staphylococcus* spp. e os coliformes termotolerantes, que são indicadores de possível contaminação de origem fecal sugerindo a presença de patógenos entéricos (MELO et al., 2010).

3.2.6.1 Microrganismos Indicadores

O conteúdo quantitativo e qualitativo de microrganismos existentes nos alimentos pode ser oportuno para avaliar com garantia a qualidade microbiológica dos mesmos, e neste aspecto, os microrganismos indicadores são enfatizados em relação à vida de prateleira ou à segurança, devido a presença de patógenos alimentares. Os microrganismos indicadores vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade microbiológica “*como grupos ou espécies de microrganismos que quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação de origem fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de poderem indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento*”, tendo como exemplo desde 1892 a *Escherichia coli* (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Alguns preceitos ainda são salientados por Franco & Langraf (1996) em consideração à definição de um microrganismo ou grupo de microrganismos indicadores: (I) deve ser de rápida e fácil detecção; (II) deve ser facilmente distinguível de outros microrganismos da microbiota do alimento; (III) não deve estar presente como contaminante natural do alimento, pois assim sua detecção não indicará, necessariamente, a presença de matéria fecal ou dos patógenos; (IV) deve

estar sempre presente quando o patógeno associado estiver; (V) seu número deve correlacionar -se com o do patógeno; (VI) deve apresentar necessidades de crescimento e velocidade de crescimento semelhantes às do patógeno; (VII) deve ter velocidade de morte que seja ao menos semelhante à do patógeno e, se possível, sobrevivência levemente superior à do patógeno e, se possível, sobrevivência levemente superior à do patógeno; (VIII) deve estar ausente nos alimentos que estão livres do patógeno, ou estar presente em quantidades mínimas.

3.2.6.2 Coliformes totais, Coliformes fecais e *Escherichia coli*.

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, possíveis de fermentar a lactose com produção de gás quando incubados a 35-37°C por 48 horas, destacando-se os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, tendo apenas a *Escherichia coli* o trato intestinal do homem e animais como o habitat primário. A característica das bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes fecais equivale aos coliformes totais que possuem a faculdade de continuarem fermentando lactose com produção de gás, ao serem incubadas à temperatura de 44-45,5°C (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Assim, o grupo dos coliformes, como *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp., são encontrados nos dejetos dos animais, no solo e em água imprópria ao uso, e, altas contagens no leite cru sugerem seguramente a contaminação fecal de úberes e tetos sujos, deficiência na higiene durante a ordenha, falhas na limpeza dos equipamentos e utensílios ou utilização de água contaminada na limpeza dos equipamentos (BRITO, 2010). A proposta de utilização de *Escherichia coli* como um indicador de contaminação de origem fecal ocorreu em 1892 para água, por se tratar de um microrganismo habitador exclusivo do conteúdo intestinal do homem e animais de sangue quente e que preencheria alguns requisitos a mais, como: estar em número expressivo nas fezes; apresentar alta resistência ao ambiente extra-enteral; haver técnicas rápidas, simples e precisas à sua detecção e/ou contagem (FRANCO; LANGRAF, 1996).

3.2.6.3 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* possuem habitat usual na pele, membranas mucosas, trato respiratório superior e intestino humano, com destaque para o *Staphylococcus aureus* como o de elevada patogenicidade. Trata-se de um coco Gram-positivo, com disposição em pares, em cadeias curtas ou agrupados em cachos, semelhantes aos cachos de uvas, que em caso de algumas cepas produzem uma enterotoxina termo-estável, responsável pelos quadros de estafiloenterotoxemia ou estafiloenterotoxicose, com atribuição da dose tóxica mínima inferior a 1,0 ng, capaz de provocar manifestação clínica da intoxicação. No âmbito da saúde pública, especificamente na área de vigilância sanitária, este microrganismo é mencionado como um dos mais freqüentes causadores de surtos de toxinfecção, em virtude da atuação dos manipuladores de alimentos durante as fases de processamento dos alimentos, aliado à possível contaminação das matérias primas e às temperaturas inadequadas de conservação pós-cozimento (GERMANO, 2001).

Staphylococcus possui atividade de crescimento em temperaturas entre 7 e 47,8° C e a produção de enterotoxinas termorresistentes pode ocorrer a temperaturas entre 10 e 46° C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C. As enterotoxinas estafilocócicas têm sido relatadas em vários surtos como agentes de intoxicação de origem alimentar. Com atividade termoestável, é necessário menos de 1ng de toxina pura para desencadear os sintomas característicos de intoxicação estafilocócica, sendo que a população de 10⁵UFC de *Staphylococcus*/g ou mL de alimento é relevante para provocar um quadro de intoxicação (SANTANA et al., 2010).

3.2.6.4 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes é um bacilo Gram-positivo, não formador de esporo, não produtor de ácidos, anaeróbio facultativo, de ampla distribuição ambiental, tendo sido isolado de águas superficiais, solos, insetos, adubo orgânico, esgotos domésticos, águas residuais de indústrias de laticínios e abatedouros e material fecal de animais e humanos. O isolamento também se estende em diversos produtos alimentícios crus ou após tratamentos térmicos ou químicos. Apesar da capacidade de se desenvolver entre 0° e 44°C, e embora sua faixa ótima seja 30°C e

37°C, suporta repetidos congelamentos e descongelamentos. Embora o pH ótimo para o seu crescimento esteja entre 6 e 8, é possível tolerar pH extremos de 5 e 9,5 bem como concentrações de NaCl de 10% e até superiores (FRANCO; LANGRAF, 1996).

Listeria monocytogenes é estimada como bactéria patogênica para os animais e promotora da listeriose desde 1926, mas somente na década de 80 recebeu maior atenção em saúde pública ao ser reconhecida com relevância em alimentos na cadeia de transmissão de infecção ao homem. O organismo está suscetível à sua entrada a partir da ingestão de alimentos contaminados que atinge o trato intestinal aderindo-se à mucosa e invadindo-a, sendo posteriormente fagocitada por macrófagos. Está amplamente disseminada na natureza, tendo sido isolada em diversos países do mundo, inclusive no Brasil. O isolamento tem sido feito a partir de vários tipos de alimentos entre os quais se destacam o leite cru ou pasteurizado, derivados lácteos e sorvetes, além de produtos cárneos crus ou termoprocessados de diversas origens, peixes crus ou defumados e embutidos provindos de carne crua fermentada (GERMANO, 2001).

3.2.7 Leite cru: qualidade e comercialização informal

O leite cru, não pasteurizado, apresenta requisitos ideais para a multiplicação de vários microrganismos, entre os quais, muitos são patogênicos que condicionando risco ao consumidor, particularmente quando não recebe tratamento térmico adequado e quando advindo principalmente de fonte informal, tornando-se agravante ao fazer parte da dieta de crianças, idosos e pessoas imunocomprometidas (VIDAL-MARTINS et al., 2013 apud SOUSA, 2005). Em virtude dessas particularidades e por ser um produto significativo da dieta humana, o leite cru pode ocasionar enfermidades, muitas delas conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), que são consideradas atualmente um grande problema na saúde pública mundial. Nota-se o agravamento da situação pela falta de conhecimento da maioria dos consumidores, com exposição da população ao perigo e a diversos agravos à saúde (VIDAL-MARTINS et al., 2013 apud WHO, 2000).

Tendo com regulamento técnico federal quanto a produção, identidade, qualidade, coleta e transporte a granel do leite, a Instrução Normativa nº 62 (IN62),

do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) de 29 de dezembro de 2011, intenciona superar o padrão da qualidade do leite à altura de uma comercialização no Brasil e no exterior (BRASIL, 2011). Partindo deste princípio, a qualidade do leite impulsionou o interesse de discussão desde então, comum dos temas relevantes no setor leiteiro, trazendo reflexões sobre o presumível impacto que tais regulamentos técnicos ocasionariam na área e na exequibilidade dos pequenos produtores. Entretanto, com a preocupação da viabilização do agronegócio, em 2015 o MAPA publicou a Instrução Normativa nº 16 (IN16) que “Estabelece, em todo território nacional, as normas específicas de inspeção e a fiscalização sanitária de produtos de origem animal, referente às agroindústrias de pequeno porte”, que em seu Inciso I, Art. 3º sobre as ações dos serviços de inspeção e fiscalização sanitária respeitarão “a inclusão social e produtiva da agroindústria de pequeno porte”, ente outros princípios que simplificam e racionalizam os procedimentos (BRASIL, 2015).

O contexto da prática da agricultura familiar configura uma forma de produção para transformar os serviços que rendam as potencialidades da propriedade, empregar a mão-de-obra existente com mais vantagem e agregar valor à renda, contribuindo com proveitos agros socioeconômicos e ambientais. Contudo, é imprescindível considerar que, em geral, são produtores com nível de escolaridade desfavorecido, com mínimo grau de instrução fundamental em sua maioria, o que contribui como um dos fatores principais para prejudicar o processo de inovação tecnológica, elevando esta dificuldade quando se observa a existência de analfabetos (LORDÃO, 2011 apud ZOCCAL, 2004).

O cenário da qualidade do leite produzido no Brasil é considerado insatisfatório, em que fatores de ordem social, econômica, cultural e até mesmo climática estão envolvidos demonstrando ser de difícil solução, e que a devida atenção no campo político não está direcionada, apesar do importante papel representado pelo leite na alimentação da população. Alguns pontos também são importantes na consideração da baixa qualidade, tendo em vista a influência das estações do ano, as práticas de produção e manuseio em nível de fazenda, localização geográfica, temperatura de permanência do leite e a distância do transporte entre a fazenda e a plataforma de recepção da indústria, que contribuem para o desenvolvimento de microrganismos contaminantes do leite (ZENI et al., 2013).

Considerações devem ser destacadas sobre as alterações climáticas em relação aos impactos gerados na produção leiteira, principalmente nos estados nordestinos. A maior parte do seu território brasileiro está situado em regiões tropicais, possuindo grande vulnerabilidade às mudanças de clima, podendo afetar a pecuária leiteira, direta e indiretamente. De maneira mais direta, as alternâncias climáticas podem intensificar o estresse térmico que envolvem os fatores ambientais (radiação, temperatura, umidade relativa e velocidade do vento) e mecanismos de termo regulação (condução, radiação, convecção e evaporação), provocando desconforto para o animal (SILVA et al., 2010 apud SIROHI; MICHAELOWA, 2007).

Assim como os seres humanos, os animais são diretamente afetados pelos fatores climáticos e temperaturas extremamente baixas ou altas interferem nas funções fisiológicas dos animais, incluindo o homem. No caso das vacas leiteiras tendem a produzir menos leite em condições quentes devido à própria redução do seu consumo de forragem (AYOADE, 2002).

3.2.8 Produção de Leite em Alagoas

A produção de leite em Alagoas é oriunda, principalmente, da agricultura familiar e é a segunda atividade econômica mais importante do Estado, perdendo apenas para a cana-de-açúcar, e se concentra na bacia leiteira do Estado, no sertão e agreste alagoano (DANTAS, 2011).

De acordo com a Pesquisa Pecuária Municipal do Instituto Brasileiro de Estatística - IBGE (Anexo A, Tabela 74 - Produção de origem animal, por tipo de produto, IBGE) no ano de 2014 em Alagoas, a produção de leite no Estado alcançou consideravelmente um total de 304.674 litros, e neste cômputo, estão incluídos uma geração total de 23.066 litros em 07 (sete) regiões específicas: Girau do Ponciano (8.721 litros), Igreja Nova (1.825 litros), Mar Vermelho (583 litros), Olho D'água Grande (639 litros), Porto Real do Colégio (963 litros), Tanque D'arca (3.915 litros) e Traipu (6.420 litros). Ainda segundo dados do IBGE, a apuração de leite cru que foi industrializado e inspecionado em Alagoas atingiu 79.858 litros (Anexo B, Tabela 1086 - Número de informantes e Quantidade de leite cru, resfriado ou não, adquirido e industrializado, no mês e no trimestre, por tipo de inspeção, IBGE), estimando apenas 26,2% de produto formalizado a partir da produção global no Estado.

3.2.9 Doenças Transmitidas por Alimentos: Impacto à saúde pelo consumo de leite cru

Embora a atividade de alguns microrganismos que contaminam o leite é claramente benéfica para o homem, por participarem ativamente nas mudanças físicas, químicas e organolépticas ao se preparar diversos produtos por ele consumidos, a atividade microbiana incontrolada é prejudicial e leva à alteração deste, tornando-o inadequado ao consumo, principalmente no que se refere aos microrganismos patogênicos que podem causar graves problemas à saúde humana (PEREDA et al., 2005).

Mesmo inexistindo uma regulamentação específica quanto à qualidade microbiológica do leite cru destinado à fabricação de produtos lácteos específicos no Brasil (PINTO, 2006), o comércio deste produto representa uma importante alternativa, uma vez que existe uma demanda bem estabelecida para o leite não pasteurizado no país, apesar da ilegalidade (NERO et al., 2004).

Apesar da existência de uma população cada vez mais informada de suas reivindicações legais como usuários, no que diz respeito à obtenção de alimentos com qualidade, ainda sobrevém o hábito de consumir produtos duvidosos, confiando que estes sejam mais saudáveis por serem direto da fonte, com características de naturalidade e imune de substâncias nocivas.

Souza (2005) em seu estudo, reforça que embora haja reconhecimento, pouca prioridade tem sido dada à segurança alimentar e, em particular, à educação dos consumidores e manipuladores de alimentos nos programas nacionais de saúde; que a importância da segurança alimentar não tem sido levada em consideração nos programas para a prevenção de diarreia. Tal prevenção compreende medidas regulamentares, atividades educacionais, vigilância de DTA's e monitoramento dos contaminantes (SOUZA, 2005 apud WHO, 2000). Dados a respeito das DTA's causadas pelo consumo do leite cru, são inconsistentes e pouca informação está disponível sobre a ocorrência de patógenos no leite cru brasileiro (NERO, 2004).

3.3 Considerações Finais

As referências elegidas nesta revisão de literatura enfatizam as peculiaridades inerentes ao leite cru refrigerado produzido em regiões do semiárido nordestino, com apreciação ao agreste alagoano. Vários aspectos correlacionados à qualidade e condições microbiológicas do leite cru foram destacados, como as interferências ambientais (climatologia) e do rebanho (saúde do gado, manejo, boas práticas agropecuárias).

Apesar do veto na comercialização do leite cru sob os riscos à saúde do consumidor, ainda é possível assistir a prática deste mercado. Sabe-se que o leite produzido nas pequenas e médias fazendas no Brasil faz parte de uma considerável fatia do empório leiteiro, destinando sua produção às cooperativas que intermediam o repasse do leite cru refrigerado às empresas para transformação em produto industrializado. Entretanto devido às flutuações do mercado do leite brasileiro, os pequenos produtores precisam encontrar alternativas comerciais de contingência, que inclui a venda de leite cru para as pessoas que preferem esse tipo de gênero ao invés de leite industrializado.

O consumo de leite cru impõe ao acometimento de DTA's que pode ser de natureza infecciosa ou tóxica, a depender do agente etiológico envolvido, deixando indivíduos suscetíveis desde a uma leve indisposição até quadros mais graves. Isto se torna lesivo ao imaginar tal produto compondo parte da dieta de crianças, idosos e pessoas imunocomprometidas. Medidas mais efetivas de propagação são emergencialmente necessárias por parte dos órgãos de saúde e de educação que abranjam as escolas, comunidades, meios de comunicação e redes sociais quanto aos riscos no consumo do leite cru e de seus subprodutos sem o mínimo processo termicamente correto, como forma de coibir o uso inconsequente.

Paralelamente, planos regulamentares e de vigilância por parte dos órgãos governamentais também devem ser empreendidas de forma oportuna e eficaz, não eximindo também a providência de conduzir assistência profissional agropecuária mais ampla e sucessiva aos pequenos e médios produtores que conduzam aos benefícios do agronegócio bem como à responsabilidade quanto à saúde do consumidor.

4 ARTIGO CIENTÍFICO - CARACTERIZAÇÃO DA MICROBIOTA DE LEITE CRU COMERCIALIZADO EM REGIÕES DE ALAGOAS E SUA RELAÇÃO COM A CLIMATOLOGIA DA REGIÃO DO SEMIÁRIDO ALAGOANO¹.

RESUMO

A produção agropecuária no Brasil desempenha função reputada no cenário da economia nacional e suas atividades econômicas direcionadas com a criação de gado conduziram o povoamento do interior do país e a comercialização informal de leite cru é um problema comum. O semiárido nordestino compõe as principais bacias leiteiras do Brasil, cuja produção é predominantemente oriunda de pequenas explorações de base familiar, de inquestionável relevância socioeconômica. O sistema de aquisição deste produto ainda é praticado sob precárias condições higiênico-sanitárias, o que leva a contagens elevadas de microrganismos, podendo constituir-se um risco à saúde coletiva, principalmente quando consumido sem tratamento térmico adequado. Estudos de microrganismos indicadores e patogênicos nos alimentos são importantes por ser um fator de preocupação a ocasionar surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). Vários elementos interferem na produção e qualidade do leite cru, inclusive no que se refere à saúde do animal e que fatores biometeorológicos estão intrinsecamente ligados ao bovino leiteiro. A pesquisa objetivou caracterizar a microbiota de leite cru comercializado em regiões do Estado de Alagoas e a sua relação com a influência meteorológica em 07 regiões do semiárido alagoano quanto à determinação de Coliformes a 45°C, pesquisa de *Escherichia coli*; e contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Listeria monocytogenes*. Os dados microbiológicos demonstraram considerável contagem de Coliformes a 45°C, *E. coli* e *Staphylococcus* coagulase positiva para as amostras de leite cru da região de semiárido alagoano, dependente da época do ano e períodos de transição climática, não sendo detectado *Listeria monocytogenes* em nenhuma amostra, apesar da possível ocorrência em ambientes de ordenha.

Palavras-Chave: Leite cru – Alagoas. Leite cru – Contaminação. Microbiologia. *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*. Segurança alimentar.

¹ Será submetido a revista Ciência e Agrotecnologia (Lavras-MG): B2

ABSTRACT

Agricultural production in Brazil plays a reputed role in setting the national economy and its economic activities directed to the livestock led the population of the countryside and the informal marketing of raw milk is a common problem. The semi-arid northeast composes the main dairy regions of Brazil, whose production is mainly coming from small farms family-based, unquestionable socioeconomic relevance. The product of this acquisition system is still practiced under precarious sanitary conditions, which leads to higher counts of microorganisms, which may constitute a risk to public health, especially when consumed without adequate heat treatment. Studies indicators and pathogenic microorganisms in food are important for being a source of concern to cause Transmitted Disease outbreaks for Food (DTA). Several elements interfere with the production and quality of raw milk, including with regard to the animal health and biometeorological factors are intrinsically linked to dairy cattle. The study aimed to characterize the microbiota of raw milk sold in regions of the State of Alagoas and its relationship with the weather influence in 07 regions of Alagoas semiarid region as the determination of coliforms at 45 ° C, *Escherichia coli* research; and coagulase-positive *Staphylococcus* count of *Listeria monocytogenes* and research. Microbiological data showed considerable Coliform count at 45 ° C, *E. coli* and *Staphylococcus* coagulase positive for samples of raw milk of Alagoas semiarid region, depending on the time of year and climate transition periods, not detected *Listeria monocytogenes* in any sample, despite the possible occurrence milking environments.

Keywords: Raw milk – Alagoas. Raw milk – Contamination. Microbiology.
Staphylococcus aureus. Escherichia coli. Food security.

4.1 Introdução

Localizado na região Nordeste do Brasil, Alagoas (AL) é um estado realçado no Agreste nordestino pelo clima semiárido (PENA, 2016). Carvalho Filho (2011) discorre que, o semiárido nordestino, por possuir peculiaridade de instabilidade do clima, além da restrição e dificuldade para planejar práticas de atividades agropecuárias é conhecido também pela implicação de uma produção fortemente sazonal e irregular ao longo dos anos.

Por definição, o leite é um produto integral da ordenha total e ininterrupta de uma fêmea leiteira sadia, bem nutrida e não fatigada, devendo ser produzido de uma forma adequada e isento de substâncias estranhas. É um líquido branco opaco, duas vezes mais viscoso que a água, de sabor ligeiramente adocicado e de odor pouco acentuado. A composição varia de acordo com a espécie, raça, individualidade, alimentação, tempo de gestação e alguns fatores (VALSECHI, 2001). Sob a visão nutricional, a relevância do leite se deve pela qualidade de suas proteínas - caseínas (α_1 , α_2 , β e κ), proteínas do soro (albumina, α -actoalbumina, β -lactoglobulina, imunoglobulinas e proteose-peptonas) - e ao seu teor elevado em cálcio, fósforo, magnésio, vitamina A, riboflavina e niacina (REZER, 2010).

A produção de leite em Alagoas é oriunda, principalmente, da agricultura familiar e é a segunda atividade econômica mais importante do Estado, perdendo apenas para a cana-de-açúcar, e se concentra no sertão e agreste alagoano, conhecida como bacia leiteira do Estado (ALMEIDA, 2012 apud DANTAS, 2011).

De acordo com a Pesquisa Pecuária Municipal do Instituto Brasileiro de Estatística - IBGE (Anexo 1, Tabela 74-Produção de origem animal, por tipo de produto, IBGE) no ano de 2014, a produção de leite no Estado de Alagoas alcançou consideravelmente um total de 304.674 litros, e neste cômputo, estão incluídos uma geração total de 23.066 litros em 07 (sete) regiões específicas: Girau do Ponciano (8.721 litros), Igreja Nova (1.825 litros), Mar Vermelho (583 litros), Olho D'água Grande (639 litros), Porto Real do Colégio (963 litros), Tanque D'arca (3.915 litros) e Traipu (6.420 litros). Ainda segundo dados do IBGE, a apuração de leite cru da produção global no Estado que foi industrializado e inspecionado em Alagoas atingiu 79.858 litros, estimando apenas 26,2% do produto formalizado. (Anexo 2, Tabela 1086 - Número de informantes e Quantidade de leite cru, resfriado ou não, adquirido e industrializado, no mês e no trimestre, por tipo de inspeção, IBGE).

Devido a sua composição, o leite é considerado um dos alimentos mais completos em termos nutricionais e fundamentais para dieta humana, mas pela mesma razão, constitui num excelente substrato para o desenvolvimento de uma grande diversidade de microrganismos, inclusive os patogênicos. A partir deste aspecto, a qualidade do leite ser uma frequente preocupação para técnicos e autoridades ligadas à área de saúde, principalmente pelo risco de veiculação de microrganismos relacionados com surtos de doenças de origem alimentar (SILVA et al. 2008 apud LEITE JÚNIOR; TORRANO; GELLI, 2000; TIMM et al., 2003).

A aquisição do leite com qualidade que possua os pré-requisitos exigidos na legislação do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) depende das práticas distintas que concebam os variados aspectos que interferem na composição físico-química e microbiológica do produto (SANTOS, 2013). A identificação de microrganismos que indicam riscos à segurança alimentar, a exemplo dos causadores de doenças transmitidas por alimentos, assinala uma magnitude do ponto de vista da saúde pública, requerendo ações educativas, preventivas e reguladoras dentro do processo que aprimorem a qualidade do leite como matéria prima bem como seus subprodutos.

Apesar de suas qualidades como alimento, o leite apresenta requisitos ideais para a multiplicação de vários microrganismos, entre os quais, muitos destes são patogênicos que oferecem risco ao consumidor, particularmente quando não recebe tratamento térmico adequado e quando advindo principalmente de fonte informal a partir do leite cru, não pasteurizado. A utilização do produto agrava-se especialmente ao fazer parte da dieta de crianças, idosos e pessoas imunocomprometidas (VIDAL-MARTINS et al., 2013 apud SOUSA, 2005). Em virtude dessas particularidades e por ser um produto significativo da dieta humana, o leite cru pode ocasionar enfermidades, muitas delas conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA), que são consideradas atualmente um grande problema na saúde pública mundial. Nota-se o agravamento da situação pela falta de conhecimento da maioria dos consumidores, com exposição da população ao perigo e a diversos agravos à saúde (VIDAL-MARTINS et al., 2103 apud WHO, 2000).

No leite cru geralmente a microbiota predominante inclui espécies de bactérias do ácido láctico (*Lactococcus*, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc*, *Enterococcus* ou *Streptococcus* spp.), *Pseudomonas* spp., bactérias pertencentes à

família *Micrococcaceae* (*Micrococcus* e *Staphylococcus* spp.) e leveduras. Outros grupos microbianos também presentes incluem: *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. (como *Listeria monocytogenes* que pode ocasionar doença no homem) e Enterobactérias. Há também muitas espécies como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* e *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* e *Propionibacterium* (LAFARGE et al., 2004). Entre os grupos de microrganismos que podem estar presentes no leite estão aqueles potencialmente patogênicos, responsáveis pelas intoxicações alimentares, *Staphylococcus* spp. e os coliformes termotolerantes (Coliformes a 45°C), que são indicadores de possível contaminação de origem fecal sugerindo a presença de patógenos entéricos (MELO et al., 2010). O grupo dos coliformes, como *Escherichia coli* e *Klebsiella* spp., é observada quando na presença de dejetos dos animais, no solo e em água contaminada. Altas contagens no leite sugerem que a contaminação fecal seja decorrente de úberes e tetos sujos, deficiência na higiene da ordenha, falhas na limpeza dos equipamentos ou utilização de água contaminada na limpeza dos equipamentos (BRITO, 2010).

O semiárido brasileiro tem como característica um clima seco com precipitações anuais entre 250 e 500 mm (NASCIMENTO, 2016 apud CIRILO, 2008). É uma região seca que abrange oito Estados Nordestinos e o Norte de Minas Gerais que possui uma área total de 980.133,079 Km² com 22,5 milhões distribuídas entre 1.135 municípios, e é considerada a região árida mais habitada do mundo, e apesar de 1.122 municípios disporem de rede de distribuição de água, a poluição ou contaminação da fonte de abastecimento está presente em 16%, tornando-se um fator crítico às populações locais (NASCIMENTO, 2016 apud INSA, 2014). Nessas áreas, devido ao crescimento populacional e ao mau uso dos recursos hídricos, a reduzida disponibilidade de água provoca a perda da qualidade devido à contaminação, conseqüentemente pela ação antrópica, sobretudo de descarga de fezes humanas e de animais ou lançamento de esgoto doméstico nesses mananciais. (NASCIMENTO, 2016)

O grupo de coliformes totais é composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae*, bacilos gram-negativos, não formadores de esporos, possíveis de fermentar a lactose com produção de gás quando incubados a 35-37°C por 48 horas, destacando-se os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, tendo apenas a *Escherichia coli* o trato intestinal do homem e animais como o habitat primário. A característica das bactérias pertencentes ao grupo dos coliformes

fecais equivale aos coliformes totais que possuem a capacidade de continuarem fermentando lactose com produção de gás, ao serem incubadas à temperatura de 44-45,5°C (FRANCO; LANGRAF,1996).

Ao se tratar das bactérias do gênero *Staphylococcus*, caracterizam-se pelo habitat usual na pele, membranas mucosas, trato respiratório superior e intestino humano, com atividade de crescimento em temperaturas entre 7 e 47,8° C com destaque para o *Staphylococcus aureus* como o de elevada patogenicidade. Produz enterotoxinas termorresistentes pode ocorrer a temperaturas entre 10 e 46° C, com temperatura ótima entre 40 e 45° C.

As enterotoxinas estafilocócicas têm sido relatadas em vários surtos como agentes de intoxicação de origem alimentar. Com atividade termoestável, é necessário menos de 1ng de toxina pura para desencadear os sintomas característicos de intoxicação estafilocócica, sendo que a população de 10⁵UFC de *Staphylococcus/g* ou mL de alimento é relevante para provocar um quadro de intoxicação (SANTANA et al., 2010). No âmbito da saúde pública, especificamente na área de vigilância sanitária, este microrganismo é mencionado como um dos mais freqüentes causadores de surtos de toxinfecção, em virtude da atuação dos manipuladores de alimentos durante as fases de processamento dos alimentos, aliado à possível contaminação das matérias primas e às temperaturas inadequadas de conservação pós-cozimento (GERMANO, 2001).

De acordo com Franco e Langraf (1996), *Listeria monocytogenes* possui ampla distribuição ambiental, tendo sido isolado de águas superficiais, solos, insetos, adubo orgânico, esgotos domésticos, águas residuais de indústrias de laticínios e abatedouros e material fecal de animais e humanos, mas também se estendendo em diversos produtos alimentícios crus ou após tratamentos térmicos ou químicos. Trata-se de um bacilo Gram-positivo, não formador de esporo, não produtor de ácidos, anaeróbio facultativo. Apesar da capacidade de se desenvolver entre 0° e 44°C, e embora sua faixa ótima seja 30°C e 37°C, suporta repetidos congelamentos e descongelamentos. Embora o pH ótimo para o seu crescimento esteja entre 6 e 8, é possível tolerar pH extremos de 5 e 9,5 bem como concentrações de NaCl de 10% e até superiores (FRANCO; LANGRAF,1996).

Listeria monocytogenes é patogênica para o homem e diversos animais, despertando interesse na indústria alimentícia, no controle da qualidade sanitária dos alimentos, seja nas matérias-primas, durante a produção e/ou durante o

processamento, bem como nos produtos acabados em exposição nas prateleiras. A atenção é relevante na cadeia epidemiológica de transmissão de listeriose ao consumidor, devido as dificuldades de sua eliminação por parte de um controle eficaz na produção primária e secundária de alimentos e de mão-de-obra habilitada em boas práticas de fabricação (ARRUDA, 2006).

Em várias plantas de processamento de alimentos *L. monocytogenes* tem sido encontrada, em especial na indústria de laticínios, na qual as principais vias de produção desse patógeno são o leite cru, os utensílios e os equipamentos contaminados, material do solo arrastado pelas botas e roupas dos empregados, o ar, o sistema de ventilação, a água acumulada e os carros de transporte, além da possibilidade dessa ser carregada por colaboradores ou visitantes doentes, sendo possível permanecer no ambiente de processamento durante meses ou anos

Mesmo não havendo uma regulamentação específica quanto à qualidade microbiológica do leite cru destinado à fabricação de produtos lácteos específicos no Brasil (PINTO, 2006), o comércio deste produto representa uma importante alternativa, uma vez que existe uma demanda bem estabelecida para o leite não pasteurizado no país, apesar da ilegalidade (NERO et al., 2004).

Apesar da existência de uma população cada vez mais informada de suas reivindicações legais como usuários, no que diz respeito à obtenção de alimentos com qualidade, ainda sobrevém o hábito de consumir produtos duvidosos, confiando que estes sejam mais saudáveis por serem direto da fonte, com características de naturalidade e imune de substâncias nocivas.

Souza (2005) em seu estudo reforça que, embora haja reconhecimento em relação à segurança alimentar, pouca prioridade tem sido dada e, em particular, à educação dos consumidores e manipuladores de alimentos nos programas nacionais de saúde; que a importância da segurança alimentar não tem sido levada em consideração nos programas para a prevenção de diarreia. Tal prevenção compreende medidas regulamentares, atividades educacionais, vigilância de DTA's e monitoramento dos contaminantes (SOUZA, 2005 apud WHO, 2000). Dados a respeito das DTA's causadas pelo consumo do leite cru, são inconsistentes e pouca informação está disponível sobre a ocorrência de patógenos no leite cru brasileiro (NERO et al., 2004).

Aliado às formas e circunstâncias de aquisição e tratamento do leite in natura estão os fatores interligados na produção láctea do rebanho, que advêm, além da

nutrição, das condições que interferem no desempenho e bem-estar do animal, influenciados por problemas fisiológicos e comportamentais causados pelo estresse térmico. Ao se referir em fatores produtivos a biometeorologia é a ciência que se ocupa dos efeitos do estresse climático que limitam uma produção animal ótima e das estratégias de manejo ambiental visando a minorar o estresse e valorizar a produção (desempenhos produtivo e reprodutivo) e a saúde (BACCARI JÚNIOR., 1998).

Como fator imprescindível, Santos (2009) faz referência do clima para a definição de um processo, que importa tanto para o animal, como para a produção de pasto, levando em consideração fatores climáticos como: umidade, temperatura, pluviosidade, geadas, entre outros. Simultaneamente, a fragilidade dos rebanhos híbridos aliados ao comprometimento de devastação ambiental, degradação alimentar e outras ameaças, representam uma imagem de implicação do desenvolvimento sustentável da rede produtiva do leite em regiões semiáridas nordestinas, e conseqüentemente ao fornecimento de leite com baixa qualidade (CARVALHO FILHO, 2011).

As condições climáticas influenciam direta ou indiretamente a criação de animais de maneiras importantes: pela disponibilidade de forragem que é altamente dependente do clima, implicando na determinação da variedade, da quantidade e do atributo do pasto acessível; nas condições das funções orgânicas normais dos animais, que necessitam estar fisiologicamente adequados ao ambiente para subsistirem, e, em caso inverso os níveis de produção decaem abaixo do mínimo; na determinação do estilo do animal e nas moléstias que predominam em um dado universo, sendo o clima responsável indireto que irá influenciar na produção pecuária. Quando em condições de seca, as forragens são prejudicadas na quantidade e na qualidade nutritiva, interferindo à redução na produção láctea e peso corpóreo dos animais. A insuficiência de água para ofertar os animais é evidente acarretando em desconforto, principalmente nas regiões e estações de temperaturas mais aquecidas (AYOADE, 2002).

Os animais domésticos em sua maioria, a temperatura corporal se eleva significativamente em resposta à temperaturas efetivas ambientais em torno de 28°C. A hipertermia ocorre em temperaturas efetivas ambientais na faixa de 30 a 50°C ou quando a temperatura do corpo aumenta cerca de 3 a 6°C acima do nível

normal, dependendo do tempo de exposição, da adaptação ao calor e do nível de produção do animal (MÜLLER, 1989).

O ambiente térmico é determinado pelo clima de uma região, que encontram-se fatores climáticos como: temperatura, umidade relativa do ar, radiação solar e velocidade do ar, reunidos numa variável única, a temperatura efetiva. O estresse oriundo de altas temperaturas e umidade pode culminar em maior suscetibilidade a infecções intramamárias, bem como aumentar o número de patógenos aos quais as vacas estão expostas (RICCI, 2013). Em pesquisa, a taxa de infecções por patógenos ambientais demonstrou presença maior no verão e coincidiu com o maior número de coliformes nas camas dos animais (RICCI, 2013 apud SMITH et al., 1985). Os riscos de mastite bovina por *Staphylococcus aureus* parecem estar aumentados na existência de elevação dos índices pluviométricos, possivelmente ocasionados em condições de umidade e temperatura favoráveis à sua sobrevivência e proliferação (ZAFALON et al., 2008).

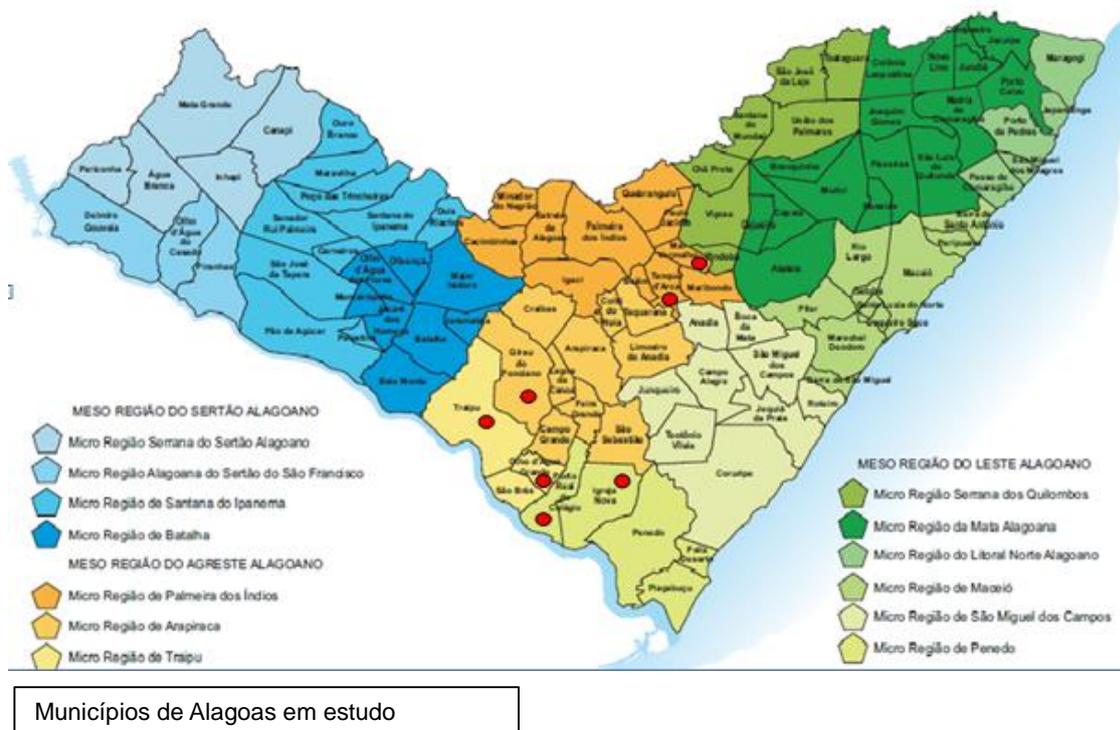
O foco na importância estabelecida nos sistemas de vigilância em saúde em promover a saúde coletiva, exalta a atenção quanto à firmeza de propósito em conduzir pesquisas que alertem aos perigos oriundos de alimentos microbiologicamente inadequados ao consumo humano e que contribuam com o estabelecimento de critérios rigorosos de controle higiênico-sanitário desde a aquisição à comercialização, a exemplo do leite cru. Neste contexto, realizou-se a caracterização da microbiota quanto a contagem de Coliformes a 45°C e pesquisa de *E. coli*, contagem de *S. coagulase (+)* e de *Listeria monocytogenes* em leite cru comercializado em 07 (sete) regiões do Estado de Alagoas e a sua relação com a influência meteorológica da região do semiárido alagoano. Trata-se da relevância de conhecer a qualidade e a segurança sanitária do leite cru “in natura” a partir de sua origem, de forma a promover elementos de referencial para controle e melhoria do produto que assegure os processos de produção industrial com qualidade. O consumo deste alimento imprópriamente implica na vulnerabilidade à saúde dos usuários quando consumidos diretamente e/ou utilizados inadequadamente na fabricação de subprodutos, conduzindo às possibilidades de desencadeamento de surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA).

4.2 Métodos

4.2.1 Planejamento Amostral

O presente estudo foi realizado em 07 (sete) regiões do Estado de Alagoas, no total de 12 (doze) Associações de agricultores familiares e produtores de leite (que além do próprio consumo, comercializam para o Programa do Leite), precisamente nos municípios de Girau do Ponciano (A3), Igreja Nova (A8, A9, A10), Mar Vermelho (A2), Olho D'água Grande (A7), Porto Real do Colégio (A11, A12), Tanque D'arca e Traipu (A1, A4, A5, A6), o equivalente a 27% do total de 44 (quarenta e quatro) Associações desta modalidade dentro do Estado quando iniciado o estudo (Figura 1), totalizando 58 amostras ao final da pesquisa. Preservou-se a identidade das associações, atribuindo-se códigos de identificação de A1 a A12.

Figura 1 - Mapa de Alagoas por meso, micro-regiões geográficas e municípios, com destaque em vermelho das localizações das Associações de agricultores familiares e produtores de leite.



Fonte: < http://www.wikialagoas.al.org.br/index.php/Arquivo:Mapa_de_alagoas_por_meso_e_micro.png >

4.2. 2 Coleta das Amostras

As amostras de leite cru refrigerado foram coletadas nas associações rurais receptoras de leite da agricultura familiar, distribuídas nos 07 (sete) municípios alagoanos determinados no estudo durante o período de 09 (nove) meses, entre julho de 2014 e abril de 2015, (sendo coleta 1 em jul/14; coleta 2 em set/14; coleta 3 em nov/14; coleta 4 em jan/15; coleta 5 em abril/15), equivalente ao parcial do planejado para execução em 01 (um) ano, com captação das coletas em meses alternados, em intervalo de 02 (dois) meses entre cada coleta (Tabela 1), de forma que atendesse às quatro estações do ano (inverno, verão, outono e primavera).

Tabela 1 - Número de coletas realizadas nas associações rurais receptoras de leite cru por Município, entre julho de 2014 e abril de 2015.

Municípios alagoanos	Nº de Associações Rurais	Número de coletas realizadas por Município, entre julho de 2014 e abril de 2015					Total de Amostras
		Julho 2014	Setembro 2014	Novembro 2014	Janeiro 2015	Abril 2015	
Tanque D'arca	01	01	01	01	01	-	04
Mar Vermelho	01	01	01	01	01	-	04
Girau do Ponciano	01	01	01	01	01	01	05
Traipu 1	03	03	03	03	03	03	15
Olho D'água Grande	01	01	01	01	01	01	05
Igreja Nova 1	03	03	03	03	03	03	15
Porto Real do Colégio	02	02	02	02	02	02	10

Fonte: Autora (2016).

A coleta das amostras ocorreu diretamente dos tanques de expansão refrigerados, que mantém o produto em temperatura controlada igual ou inferior a 4°C, mantido por até 48 horas, sendo transportado para o estabelecimento industrial em caminhão-tanque refrigerado para ser processado. O critério de temperatura de recebimento do leite cru pelo laticínio era igual ou inferior a 7°C, conforme estabelece a Instrução Normativa Nº 62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2011).

Todas as amostras, após coleta em frascos autoclaváveis estéreis, foram transportadas sob refrigeração em caixas isotérmicas acrescidas de placas de gelo e

encaminhadas diretamente para o Laboratório de Controle e Qualidade de Alimentos da Faculdade de Nutrição - Universidade Federal de Alagoas, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

4.2.3 Análises Microbiológicas

Determinação do Número Mais Provável (NMP/mL) de Coliforme a 45°C e Pesquisa de *Escherichia coli*

Foi medido 25 mL de leite cru e adicionado em 225 mL de água peptonada tamponada (APT) (diluição 10^{-1}). A seguir, transferiu-se 1,0mL dessa diluição para tubo contendo 9,0mL de APT (diluição 10^{-2}) e em seguida 1,0mL da diluição 10^{-2} para tubo contendo 9,0mL de APT (diluição 10^{-3}). Após o preparo das diluições, semeou-se 1,0 mL de cada diluição em 9 tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST). Em seguida os tubos foram incubados em estufa a 35°C por 24 a 48 horas. Após incubação, os tubos que apresentaram gás e turvação do meio de cultura foram semeados em Caldo *E. coli* MUG e incubados em banho-maria a 45°C. Em seguida, os tubos que apresentaram produção de gás e turvação do meio foram considerados positivos para Coliformes a 45°C e calculado o NMP/mL através da Tabela de Número Mais Provável (NPM) e intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade para diversas combinações de tubos positivos em série de três tubos (SILVA, 2007). E aqueles tubos que apresentaram fluorescência na presença da lâmpada de luz ultravioleta (6w), ondas longas (365nm), indicaram presença de *E. coli* (SILVA, 2007).

Isolamento, Identificação e Contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva

A quantificação de *Staphylococcus coagulase* positiva foi realizada através do método de contagem (UFC/mL) por semeadura em superfície em placas contendo o meio Agar Baird Parker (BP) suplementado com telurito de potássio a 3,5% e emulsão de gema de ovo.

Inicialmente, mediu-se 25 mL de leite cru e adicionou-se em 225 mL de água peptonada tamponada (APT) (diluição 10^{-1}). Em seguida preparou-se as demais diluições (10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4}) utilizando o mesmo diluente. A seguir realizou-se a

semeadura em placas contendo Agar BP com auxílio da alça de Drigalski e incubou as placas em estufa a 37 °C por 24 a 48 horas. Após esse período selecionaram-se colônias típicas com características de *S. coagulase* (+) (colônias circulares pretas ou cinza escuro, com 2-3 mm de diâmetro, lisas, convexas, com bordos perfeitos e rodeados por uma zona opaca e ou um halo transparente se estendendo para além da zona opaca) para realizar os testes bioquímicos de catalase e de coagulase. As colônias típicas são catalase e coagulase (+). A contagem foi realizada em UFC/mL de leite.

Detecção de *Listeria* sp

Foi realizada de acordo com a metodologia convencional especificado pelo *Health Protection Branch* (WARBURTON et al., 1991).

Inicialmente homogeneizou-se uma porção de 25mL de leite cru em 225mL de caldo de enriquecimento para *Listeria* (*Listeria* Enrichment Broth–LEB, Difco) e incubou-se a 30°C por 24h (enriquecimento primário). Em seguida, transferiu-se 0,1mL de inóculo do caldo LEB para um tubo contendo 10mL de caldo Fraser (*Modified Fraser Broth*) e incubou a 30°C por 24h (enriquecimento secundário). Posteriormente, observou-se se houve enegrecimento do meio de cultura e semeou-se em placas de Petri contendo os meios Agar PALCAM suplementado e Agar OXFORD suplementado, para isolamento de colônias com características de *L. monocytogenes*. As placas foram incubadas a 30°C por 24 a 48h. Colônias amarronzadas, côncavas, com halo escuro presentes no Agar OXFORD e aquelas cinza-esverdeadas com halo negro no Agar PALCAM foram submetidas a identificação através de testes bioquímicos (produção de catalase, teste do nitrato, fermentação da ramnose, xilose, manitol, glicose, dextrose e maltose).

4.2.4 Caracterização das Variáveis Meteorológicas das Regiões de Captação do Leite

As 07 (sete) regiões do Estado de Alagoas objeto de estudo estão situadas captação do leite O presente estudo foi realizado em 07 (sete) regiões do Estado de Alagoas, no total de 12 (doze) associações de agricultores familiares e produtores de leite (que além do próprio consumo, comercializam para o Programa do Leite), precisamente nos municípios de Girau do Ponciano (A3), Igreja Nova (A8, A9, A10),

Mar Vermelho (A2), Olho D'água Grande (A7), Porto Real do Colégio (A11, A12), Tanque D'arca e Traipu (A1, A4, A5, A6).

Descrição dos Dados Modelados (Reanálise)

Os dados modelados foram obtidos a partir da base do *European Centre for Medium-Range Weather Forecasts* (ECMWF) disponibilizados via site <www.ecmwf.int>, sendo este um dos centros mundiais responsáveis pela distribuição deste tipo de dado para todo o mundo, baseados em métodos de interpolação, como alternativa para tentar minimizar as lacunas causadas pela ausência de estações meteorológicas em algumas regiões do globo, realizando estimações de diversas variáveis meteorológicas. Os dados extraídos fazem parte de um dos produtos em execução no ECMWF, o ERA-INTERIM, ao qual ele possui um conjunto de dados do início de 01/01/1979 até o 31/07/2015 (DEE et al., 2011). Estes dados podem ser fornecidos em horários sinóticos (de 6 em 6 horas) ou também como previsão (de 3 em 3 horas), além disso, o mesmo conjunto possui uma resolução espacial de $0.125^{\circ} \times 0.125^{\circ}$ (1° corresponde em aproximadamente 111km), ou seja, gerando uma grade de aproximadamente 14km x 14km. Nesta extração, foram utilizados dados diários de 10 variáveis meteorológicas, entre o período de 01 de julho de 2014 à 30 abril de 2015, contidas na Tabela 1. Alguns dos dados utilizados necessitaram ser convertidos, como por exemplo: temperatura, foi convertida de Kelvin (K) para Celsius ($^{\circ}\text{C}$); a velocidade do vento foi obtida a partir da raiz quadrada do quadrado da soma das componentes U e V à 10 metros (Tabela 1); já a pressão atmosférica foi convertida de Pa para hPa (o valor extraído dividido por 100).

Tabela 2 - Variáveis utilizadas, abreviações no arquivo excel e as dimensões de cada uma das variáveis, unidades, fator de correção (necessário).

Variável	Abreviações	Unidades	Conversão
Temp. máxima	mx2t	K	valor-273,16 (K para °C)
Temp. mínima	mn2t	K	valor-273,16 (K para °C)
Temp. do ar	t2m	K	valor-273,16 (K para °C)
Temp. do ponto de orvalho	td2m	K	valor-273,16 (K para °C)
Componente zonal do vento à 10 m	u10	ms-1	-
Componente meridional do vento à 10m	v10	ms-1	-
Velocidade do vento à 10 metros	vv10	ms-1	$\sqrt{u10^2+v10^2}$
Pressão à nível do mar	msl	Pa	valor/100(PaparahPa)
Precipitação diária	p	mm	-
Umidade relativa	Rh	(%)	-

Fonte: Autora (2016).

Determinação dos Dados de Precipitação

Para os dados de precipitação, foram utilizados sete pontos de grade (Tabela 2), estes pontos correspondessem a localização mais próxima a cada município usado neste estudo. A área está compreendida entre as latitudes 9,5°S-10,25°S e as longitudes 36,375°W-37,125°W. A Tabela 3 demonstra as coordenadas geográficas correspondentes a cada uma delas.

Quanto aos dados de chuvas, foram provenientes do *Tropical Rainfall Measuring Mission* (TRMM) da versão 7 do algoritmo 3B42, ao qual fazem parte da missão conjunta entre a *National Aeronautics Space Administration* (NASA) e o *Japan Aerospace Exploration* (JAXA) com objetivo de estudar as chuvas para pesquisas relacionadas ao tempo e clima (HUFFMAN et al., 2007; HUFFMAN et al., 2010). Estes dados são obtidos a partir de satélites por extração de imagens via microondas, a partir de três sensores: *Visible and Infrared Scanner* (VIRS), *Lightning Imaging Sensor* (LIS) e *Cloudsand the Earth's Radiant Energy System* (CERES), e possuem resolução temporal de 3 em 3 horas e espacial de 0,5° x0,5° (aproximadamente 67,5 km x 67,5 km), neste trabalho foram utilizados dados diários do período entre os meses de julho de 2014 a abril de 2015.

Tabela 3 - Localização das cidades utilizadas, com base na aproximação dos pontos de grade.

Municípios	Latitude (°S)	Longitude (°W)
Girau do Ponciano	-9,875	-36,875
Igreja Nova	-10,125	-36,625
Mar Vermelho	-10,125	-36,625
Olho D'água Grande	-10	-36,75
Porto Real do Colégio	-10,125	-36,75
Tanque D'Arca	-9,625	-36,375
Traipu	-10	-36,875

Fonte: Autora (2016).

4.2.5 Especificação dos Índices de Conforto Térmico Bovino (ITU)

Para avaliação dos índices de conforto térmico bovino (ITU), utilizou-se a Equação: $ITU = T_{bs} + 0,36 \cdot T_{po} - 41,5$ (SOUZA et al., 2010 apud THOM, 1959).

4.3 Resultados

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as contagens de Coliformes 45°C variou de <3,0 a >1.100 NMP/mL e a presença de *E. coli* ocorreu em 86,2% das amostras de leite cru (Tabela1). Segundo Franco; Langraf (1996), a investigação de Coliformes 45°C ou de *Escherichia coli* em produtos alimentícios indica dados mais seguros sobre as condições higiênicas do alimento e maior probabilidade do aparecimento de enteropatógenos, sugerindo condições higiênico-sanitárias inadequadas devido à manipulação sem aplicação de higiene e/ou procedimentos de armazenamento impróprio. Entretanto, o estresse calórico no gado leiteiro, especialmente nas regiões tropicais, consiste em uma importante fonte de perda econômica pecuária, tendo efeito adverso sobre a produção de leite, produção de carne, fisiologia da produção, reprodução, mortalidade de bezerros e saúde do úbere, contribuindo com o maior número de coliformes nas camas dos animais (RICCI et al., 2013 apud SMITH et al., 1985). Na realização da pesquisa não foi detectada a presença de *Listeria monocytogenes* em nenhuma das amostras.

4.4 Discussão

4.4.1 Detecção da Microbiota

Pode-se constatar (Tabela 4) que a maioria das amostras de leite cru avaliada apresentou presença de *E. coli*, devido provavelmente a falta de higiene do local da ordenha, lavagem e sanitização dos utensílios, tetas com fezes provindas da cama do animal, falhas na manipulação do leite durante a ordenha e água contaminada com material fecal. De acordo com ICMSF (1998), cepas não virulentas têm como habitat o trato entérico de humanos e animais sadios, enquanto cepas altamente patogênicas são responsáveis por provocar surtos de doenças em humanos e animais com considerável taxa de mortalidade.

Beloti (2015), ao estudar a microbiota de leite cru em 300 propriedades de cinco estados brasileiros (Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Rio Grande do Sul e Pernambuco), constatou que as mesmas apresentaram altas contagens de aeróbios mesófilos, psicrotóxicos, coliformes fecais e ausência de *E. coli*, contudo, prevalência de bactérias ácido lácticas. Bactérias do grupo dos coliformes podem se multiplicar rapidamente no leite, principalmente nos meses mais quentes do ano, as quais fermentam lactose produzindo ácido láctico e outros ácidos orgânicos, o que causa acidez no leite. A falta de higiene no manuseio do leite, principalmente o uso de utensílios que não estão adequadamente limpos e o não resfriamento ou resfriamento inadequado do leite são condições que favorecem o desenvolvimento da acidez (BRITO et al., 2003).

No contexto das variações microbiológicas entre as contagens de Coliformes a 45°C do leite cru nas regiões, houve uma similaridade entre as Associações de Tanque D'arca e Mar Vermelho, Traipu 2 e Traipu 3 nas 4ª e 5ª coletas, demonstrando que o produto em Traipu 3 demonstrou maior contaminação por apresentar valores >1.100 e com presença de *E. coli* no leite cru nas 3ª, 4ª e 5ª coletas. Nas Associações de Igreja Nova 1 e Igreja Nova 2, houve uma simetria na presença do microrganismo na 5ª coleta, porém foram diferentes nas demais coletas, incluindo Igreja Nova 3. O produto colhido nos tanques de Porto Real do Colégio 1 e Porto Real do Colégio 2 houve similaridade, entretanto ocorreu elevação na 5ª coleta para Porto Real do Colégio 2, em que este esteve, inclusive, proporcional a Traipu 3, conforme Tabela 4 e demonstração gráfica (Gráfico 1).

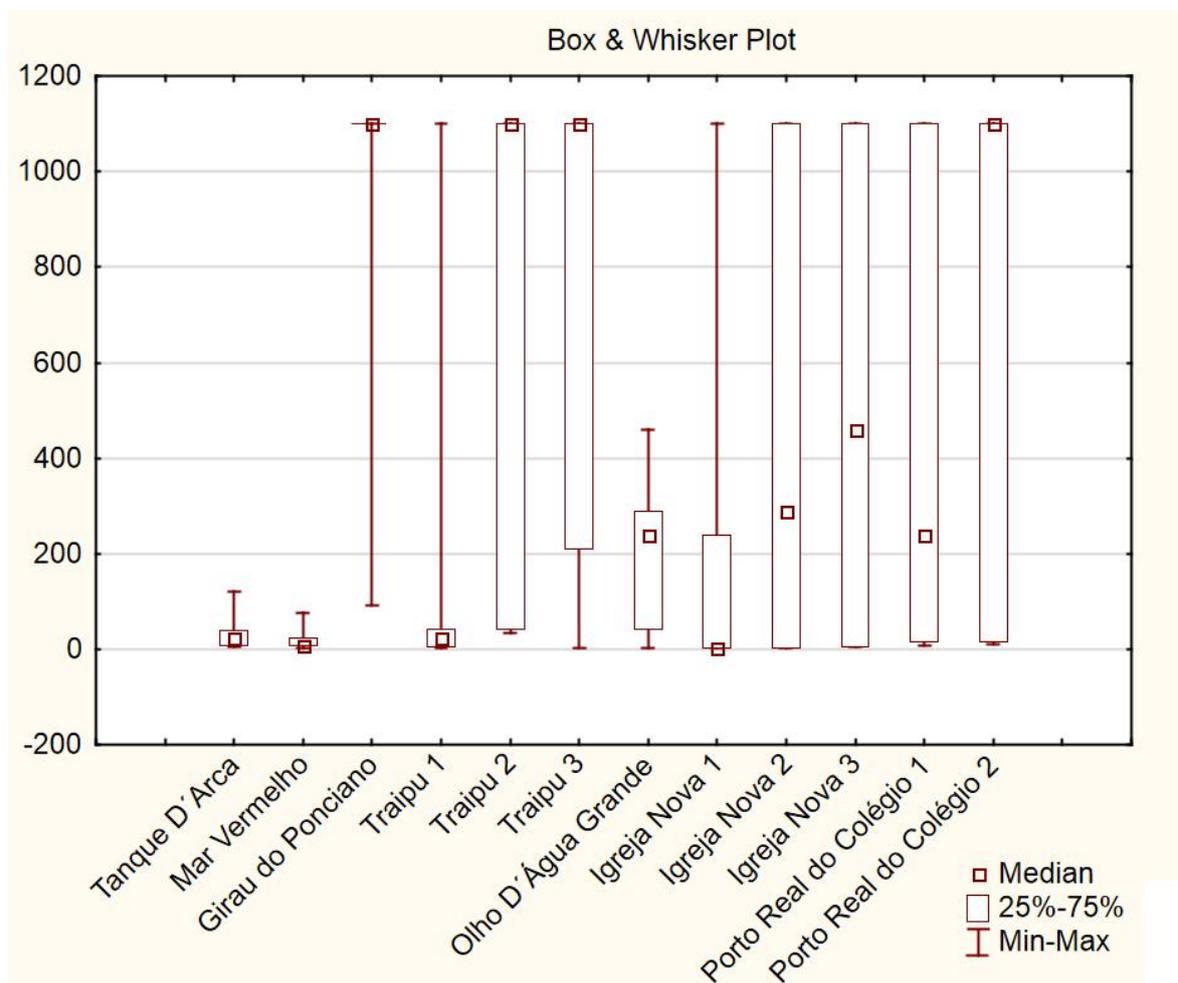
Tabela 4 - Distribuição de contagem de Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em amostras de leite cru refrigerado provenientes de diferentes regiões de Alagoas

Região do Estado de AL	Contagem de Coliformes 45°C (NMP/mL) / Pesquisa de <i>E.coli</i>				
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	5ª coleta
Tanque D'arca	7,4/ (+)	120/ (+)	6,1/ (+)	23/ (+)	-
Mar Vermelho	9,2/ (+)	75/ (+)	3,0/ (+)	9,2/ (+)	-
Girau do Ponciano	1.100/ (+)	>1.100/ (+)	93/ (+)	>1.100/ (+)	>1.100/ (+)
Traipu 1	43/ (+)	23/ (+)	< 3,0/ (-)	3,6/ (-)	1.100/ (+)
Traipu 2	43/ (+)	>1.100/ (+)	35/ (+)	>1.100/ (+)	>1.100/ (+)
Traipu 3	< 3,0/ (-)	210/ (+)	>1.100/ (+)	>1.100/ (+)	>1.100/ (+)
Olho D'água Grande	< 3,0/ (-)	240/(+)	290/ (+)	460/ (+)	43/ (+)
Igreja Nova 1	< 3,0/ (-)	240/(+)	3,0/ (+)	< 3,0/ (-)	>1.100/ (+)
Igreja Nova 2	< 3,0/ (-)	< 3,0/ (-)	>1.100/ (+)	290/ (+)	>1.100/ (+)
Igreja Nova 3	3,6/ (+)	6,1/ (+)	1.100/ (+)	>1.100/ (+)	460/ (+)
Porto Real do Colégio 1	15/ (+)	7,4/ (+)	>1.100/ (+)	1.100/ (+)	240/(+)
Porto Real do Colégio 2	15/ (+)	11/ (+)	>1.100/ (+)	1.100/ (+)	1.100/ (+)

(+) = presença de *E. coli*; (-) = ausência de *E.coli*

Fonte: Autora (2016).

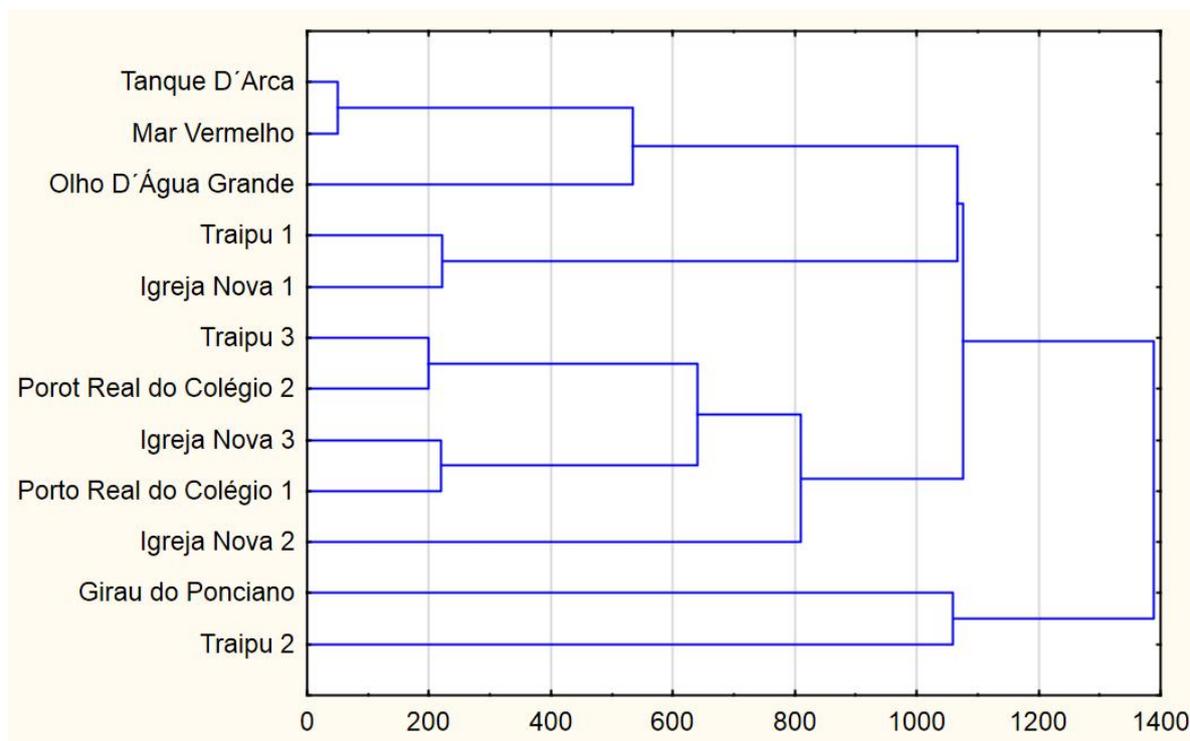
Gráfico 1 – Box & Plotter para os dados de determinação de Coliformes a 45°C analisando todas as Associações leiteiras.



Fonte: Autora (2016).

Dentro das análises microbiológicas para Coliformes a 45°C, o cenário demonstrou que as Associações de Tanque D'arca e Mar Vermelho apresentaram o menor índice de contaminação no leite cru analisado, muito embora tenha sido confirmada a presença de *E. coli* (Gráfico 2). As demais Associações retrataram uma variação de contaminação, mas especificamente na 5ª coleta apontaram em sua maioria, contagens entre =F.100, e em todas elas visualizou-se a existência de *E. coli* (Tabela 4).

Gráfico 2 – Diagrama de árvore avaliando a qualidade microbiológica do leite das Associações Leiteiras quanto ao atributo para Coliformes a 45°C.



Fonte: Autora (2016).

Das 58 amostras analisadas foram detectadas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva variando de <10 a $6,9 \times 10^3$ em 33 (56,9%) amostras de leite cru (Tabela 5). Embora não exista padrão microbiológico para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite cru, sabe-se que elevada contagem desse patógeno no alimento pode existir cepas enterotoxigênicas que são termorresistentes indicando perigo potencial para a saúde pública. Essa incidência de *S. coagulase (+)* pode ser devido à má higienização das tetas durante a ordenha ou mesmo em decorrência de mastite subclínica.

As vacas com mastite, uma enfermidade inflamatória do tecido mamário, podem apresentar o desenvolvimento de um elevado número de microrganismos e células somáticas do leite, sendo referido *Staphylococcus aureus*, entre outros patógenos procedentes de animais enfermos (ICMSF, 1998). Outra forma de transmissão ao alimento se dá através dos manipuladores, portadores assintomáticos, durante as fases de contato com o produto (MELO, 2010).

No âmbito das variações microbiológicas na pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite cru das Associações, houve uma uniformidade nas 2^a, 3^a

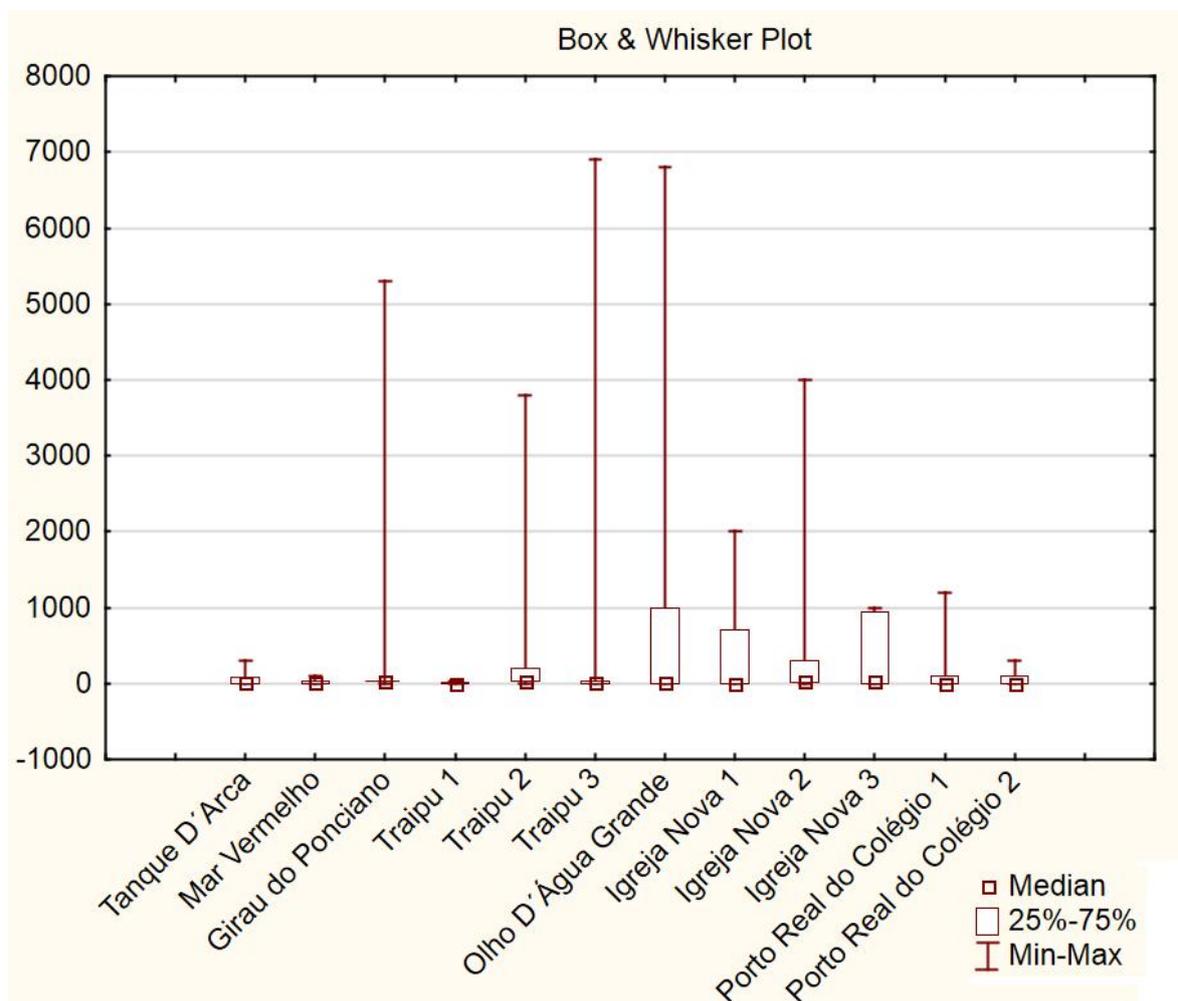
e 4ª coletas entre Tanque D'arca, Olho D'água Grande e Porto Real do Colégio 1 com contagens ≤ 10 . O leite cru captado nas Associações de Traipu 3 e Olho D'água Grande, houve também uma estreita proximidade na presença do microrganismo na 5ª coleta, com bastante relevância em relação às anteriores e com diferencial nos demais resultados. A contaminação do leite cru em para o microrganismo em Igreja Nova 3 aumentou numerosamente na 5ª coleta, não deixando de relevar também esta citação Girau do Ponciano, conforme Tabela 5 e sinalização gráfica (Gráfico 3).

Tabela 5 - Distribuição de *Staphylococcus coagulase* positiva nas 58 amostras de leite cru refrigerado, analisados pela técnica de Unidade formadora de colônia

Região do Estado de AL	Contagem de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva(UFC/mL)				
	1ª coleta	2ª coleta	3ª coleta	4ª coleta	5ª coleta
Tanque D'arca	3×10^2	10	<10	<10	-
Mar Vermelho	10^2	<10	<10	2×10	-
Girau do Ponciano	3×10	4×10	<10	4×10	$5,3 \times 10^3$
Traipu 1	3×10	2×10	<10	<10	<10
Traipu 2	4×10	3×10	<10	2×10^2	$3,8 \times 10^3$
Traipu 3	<10	2×10	<10	4×10	$6,9 \times 10^3$
Olho D'água Grande	1×10^3	10	<10	<10	$6,8 \times 10^3$
Igreja Nova 1	<10	2×10^3	<10	<10	7×10^2
Igreja Nova 2	3×10	2×10	<10	3×10^2	4×10^3
Igreja Nova 3	<10	1×10^3	<10	3×10	$9,5 \times 10^2$
Porto Real do Colégio 1	1×10^2	<10	<10	<10	$1,2 \times 10^3$
Porto Real do Colégio 2	1×10^2	3×10^2	<10	<10	<10

Fonte: Autora (2016).

Gráfico 3 – Box & Plotter para os dados de determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva analisando todas as Associações leiteiras.

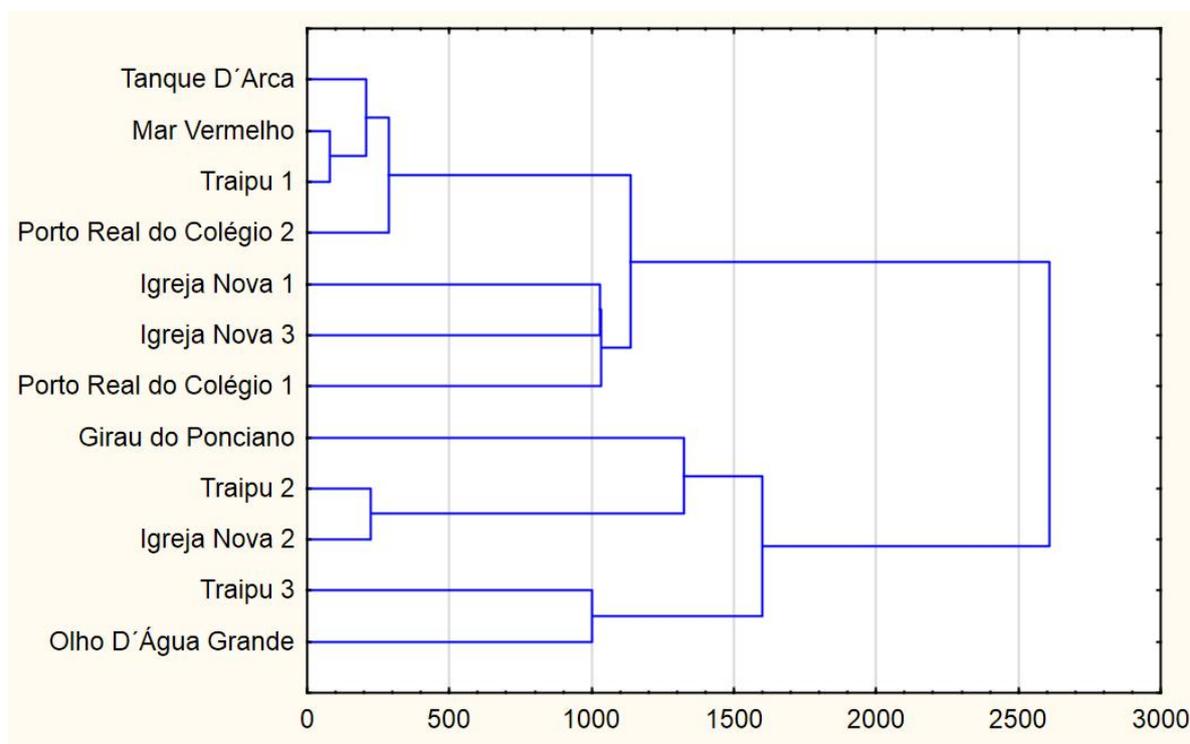


Fonte: Autora (2016).

O panorama da pesquisa para *Staphylococcus* coagulase do leite cru obtido das Associações de Mar Vermelho e Traipu 1 apresentou índices de contaminação mais inferiores em relação aos demais locais, seguidas de Traipu 2 e Igreja Nova 2. Já entre Igreja Nova 1, Igreja Nova 3, Porto Real do Colégio 1, Traipu e Olho D'água Grande as relações de contagens do microrganismo são semelhantes e demonstram estar em segunda posição de menor contaminação, conforme apresentação do diagrama (Gráfico 4).

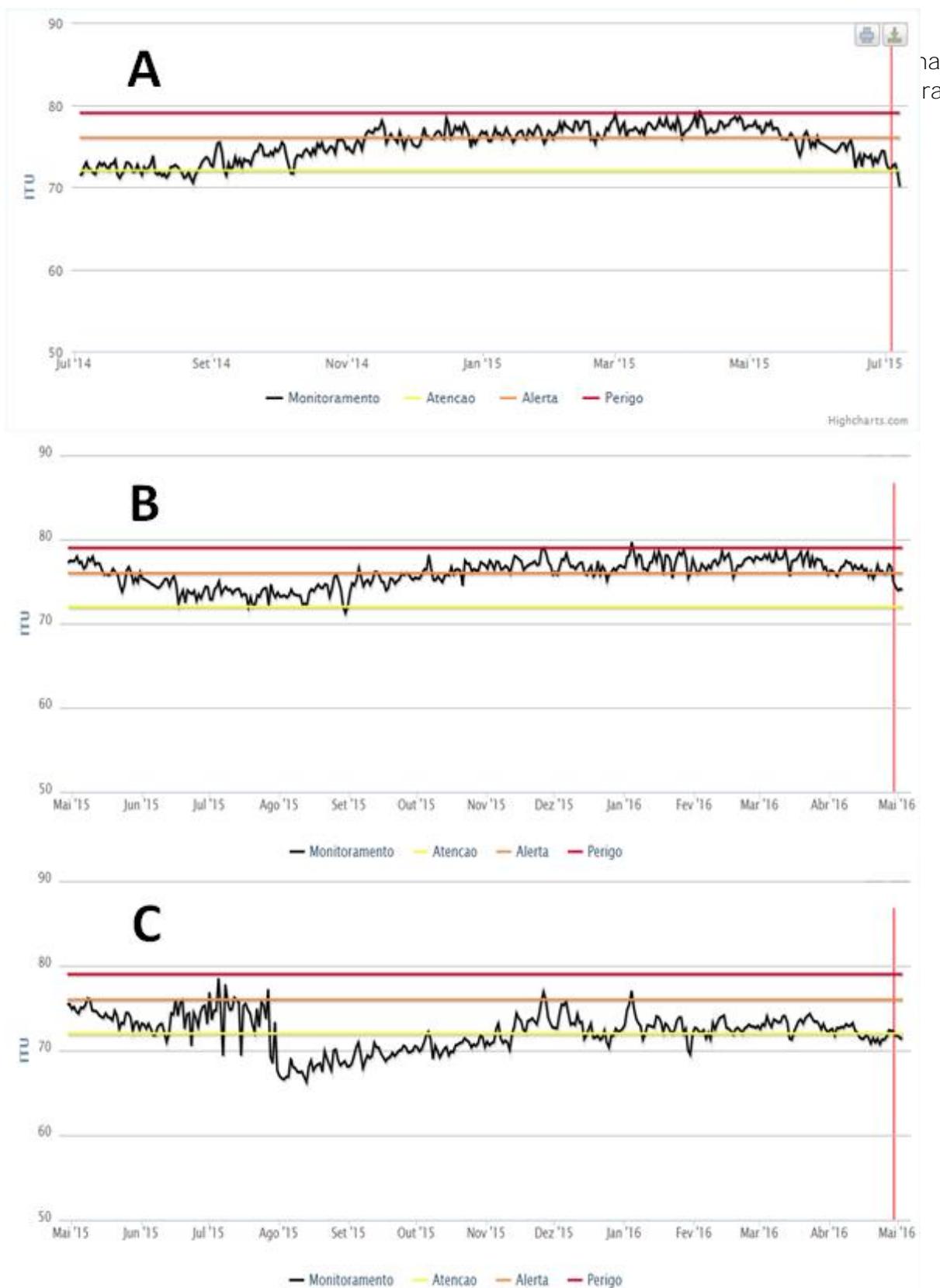
As correlações com as demais Associações demonstram uma variação na contaminação, entretanto, particularmente a 5ª coleta apontou em sua maioria, contagens representativas e bem distintas (Tabela 5).

Gráfico 4 – Diagrama de árvore avaliando a qualidade microbiológica do leite das Associações leiteiras quanto ao atributo para *Staphylococcus coagulase* positiva.



Fonte: Autora (2016).

Para a produção, o animal exige do meio em que habita condições satisfatórias para que seus processos fisiológicos não sejam afetados negativamente, repercutindo no rendimento obtido na produção de carne, leite, ovos e lã. A sensação térmica do animal é influenciada, entre outros fatores, pela temperatura e pela umidade. No caso do gado bovino, estudos empíricos têm demonstrado que o Índice de Temperatura e Umidade (ITU) é um bom indicador da condição de conforto térmico a que o animal está sujeito. Valores de ITU superiores a 72 impõem desconforto ao animal, passando a afetar seu rendimento. Esse desconforto aumenta com o crescimento do índice, podendo atingir níveis de efetivo risco à saúde do rebanho (INMET). Os dados de conforto térmico para as microrregiões estudadas estão apresentados no Gráfico 5.



*Dados de satélite do município de Propiá-SE (A e B) e de Palmeira dos Índios-AL (C) obtidos através do sistema de satélites do INMET. O gráfico destaca as faixas de Normalidade, Atenção, Alerta e Perigo.

Fonte: <<http://sisdagro.inmet.gov.br:8080/sisdagro/app/climatologia/confortotermicobovino>>. (a)

O índice de vegetação realça a contribuição das propriedades da vegetação e permitem estabelecer comparações espaciais e temporais da atividade fotossintética. O IVDN (Índice de Vegetação por diferença normalizada) é o índice de vegetação mais comumente utilizado. Proposto inicialmente por Rouse et al., (1973), permite identificar a presença de vegetação verde e caracterizar sua distribuição espacial, como também a evolução no decorrer do tempo. Valores para o índice de vegetação próximos de 1 indicam maiores quantidades de vegetação fotossinteticamente ativa, e uma baixa vegetação caso contrário (próximos de 0). A Gráfico 6 mostra os valores de índice de vegetação para as microrregiões estudadas.

Gráfico 6 - Índice de Vegetação das microrregiões de Traipu-Penedo (A) e Palmeira dos Índios (B).



*Dados de satélite do município de Propiá-SE (A) e de Palmeira dos Índios-AL (B) obtidos através do sistema de satélites do INMET.

Fonte: <<http://sisdagro.inmet.gov.br:8080/sisdagro/app/climatologia/ivdn/>> (b)

Listeria monocytogenes não foi detectada em nenhuma amostra, embora fosse esperado por estar normalmente presente em ambientes de ordenha, por utensílios e equipamentos contaminados, com possibilidade de ser carregada por

trabalhadores e visitantes trazendo material do solo arrastado pelas botas e roupas, mãos com ausência de higienização, água acumulada e os carros de transporte.

A possibilidade de não ter havido condições de crescimento pela alta concentração de outros microrganismos competidores não está descartada. Beloti (2015), ao realizar pesquisa sobre inibição de *E. coli* e ao acompanhar o comportamento dos patógenos frente a diversas concentrações de microbiota, observou que entre os principais resultados está, mais uma vez, a capacidade antagonista das bactérias ácido lácticas de inibir patógenos importantes como *Listeria sp.*, assim como *Staphylococcus aureus*.

4.4.2 Identificação e contagem de contagem de Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* versus variáveis meteorológicas

Para os resultados microbiológicos de Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* auferidos nas amostras pode-se observar também a correlação com as variáveis meteorológicas (precipitação, pressão atmosférica, temperatura máxima), o desconforto térmico bovino e o índice de vegetação e das Regiões em estudo. Na maioria dos casos 3 de 5 amostras (60% das amostras) se relacionaram com estes parâmetros meteorológicos (Gráfico 7).

Gráfico 7 – Matriz avaliando as prováveis variáveis climatológicas que podem influenciar nos indicadores microbiológicos de qualidade Coliformes a 45°C e *E. coli*.



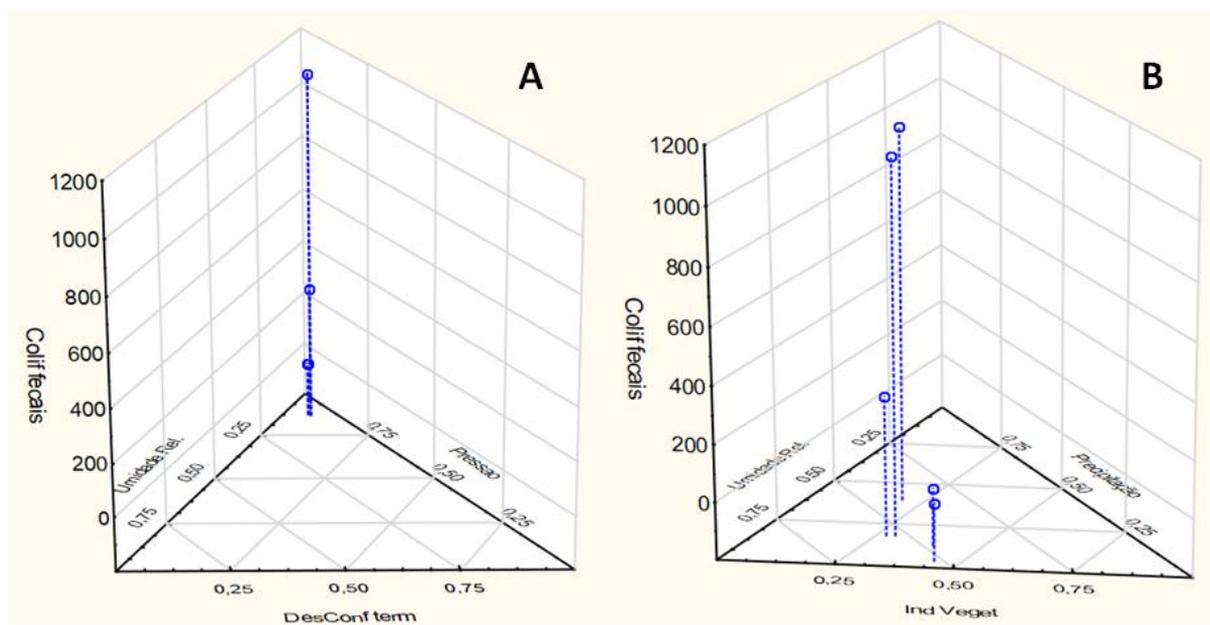
Fonte: Autora (2016).

Evidenciou-se a presença de Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* em relação à temperatura média das regiões (26°C) nos meses de novembro (3ª coleta), janeiro (4ª coleta) e abril (5ª coleta); a temperatura máxima (27°C) e o desconforto térmico bovino realizada no meses entre novembro (3ª coleta) e abril (5ª coleta) também apresentaram-se em paralelo aos dados microbiológicos em evidência (3 de 5 coletas 60%). Citadin et al.(2009), analisou amostras de leite cru em 31 propriedades leiterias no Paraná, diretamente dos tanques de expansão ou de latões, durante os meses de verão e evidenciou que 58,06% das propriedades apresentaram Coliformes a 45°C com valor mínimo de $4,00 \times 10^0$ UFC/ml e máximo de $1,10 \times 10^4$ UFC/mL.

Considerando os meses quentes do ano, Fava; Pinto (2008) discorrem que pode haver um número maior de condenações de leite por acidez elevada, devido à influência que altas temperaturas exercem no crescimento de bactérias mesófilas, que encontram nas temperaturas ambientes dos países de clima tropical condições ótimas ao seu metabolismo, além da dificuldade de manutenção das temperaturas de refrigeração. Na pesquisa entre janeiro de 2008 a abril de 2009, os autores constataram que durante os meses mais quentes do período estudado (novembro a abril) houve a maior incidência de condenação por leite ácido, sendo que a maior quantidade de leite condensado foi no mês de fevereiro do ano de 2009. A contagem de bactérias mesófilas é comumente empregada para indicar a qualidade sanitária dos alimentos, e todas as bactérias patogênicas de origem alimentar são mesófilas (FRANCO; LANGRAF,1996).

Quanto à precipitação de chuvas em seu ponto mais elevado na 2ª coleta (setembro), o estudo demonstrou a presença pouco evidente de Coliformes a 45°C e *Escherichia coli* (1 de 5 amostras) correspondendo a 20% das amostras. Ocorreu uma boa evidência da alta contagem de *E. coli* com a pressão atmosférica e índice de vegetação (2 de 5 amostras) correspondendo a 40%, tal microrganismo comportou-se conexo entre os resultados positivos nas amostras com essas variáveis. Para umidade relativa e a velocidade do vento não verificou-se correspondência (Gráficos 7 e 8).

Gráfico 8 – Ternários em 3D avaliando variáveis meteorológicas principais que podem estar associadas ao aumento no número de Coliformes a 45°C.



Fonte: Autora (2016).

4.4.3 Identificação e contagem de contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva versus variáveis meteorológicas

Os resultados microbiológicos obtidos demonstram um paralelismo com o desconforto térmico bovino, índice de vegetação e as variáveis meteorológicas (precipitação, pressão atmosférica, temperatura máxima, umidade) das Regiões de captação do leite.

Os aspectos epidemiológicos de mastite bovina provocada por *S. aureus*, denotam que o ambiente parece ter influência sobre o aparecimento de casos de mastite, com frequência superior de isolamentos em períodos com elevados índices pluviométricos (ZAFALON et al., apud FERREIRA et al., 2006). Na realização de pesquisa com leite cru colhidos de quartos mamários com mastite clínica e subclínica e de tanques de expansão no período de julho/2005 a dezembro/2006, com temperatura ambiental média de 26,3°C e mínima de 17,4°C, Zafalon et al. (2008) observaram que houve uma prevalência superior a 60% de mastite subclínica nas vacas em lactação com a presença de *S. aureus* (coagulase positiva), após uma maior quantidade de chuvas durante o acompanhamento dos casos da doença, provavelmente devido às condições de umidade e temperaturas favoráveis à sobrevivência e proliferação. Constatou também que, no período em que houve