

Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru produzido no Município de São Pedro do Iguaçu-PR

Laysa Delize Araldi¹ e Laís Dayane Weber²

Resumo: Visando analisar as condições higiênicas do local em que é produzido o leite cru que eventualmente, possa facilitar a presença e multiplicação de microrganismos patogênicos e contaminar o processamento do produto, o presente trabalho teve como objetivo, a avaliação microbiológica do leite cru e análises de superfícies do teto e mãos do ordenhador pelo método swabs que foram realizadas no Município de São Pedro do Iguaçu, no período de agosto a setembro de 2017. As coletas para análise se realizaram em uma propriedade rural, avaliando a presença de Estafilococos Coagulase Positiva, Mesófilos Aeróbicos e Coliformes Totais e Termotolerantes. Por ser um alimento que é consumido pela maioria da população, e este, ser considerado de extrema importância para a garantia de a segurança alimentar e nutricional do consumidor, essa pesquisa se torna fundamental, tendo em vista que o leite avaliado foi considerado de baixa qualidade, tornando-se a mesma, relevante para assegurar a qualidade do produto que será colocado à venda, para produção de embutidos para consumo humano e de derivados lácteos.

Palavras-chave: Patógenos, alimento e higiene.

Evaluation of the microbiological quality of raw milk produced in the Municipality of São Pedro do Iguaçu

Abstract: In order to analyze the hygiene conditions of the place where the milk is produced and possibly to include a presence and multiplication of pathogenic microorganisms and contaminants of the product processing, the present work aimed at a microbiological evaluation of the raw milk and analyzes The collections for analysis are performed in a rural property, evaluating a presence of Positive Coagulase Staphylococci, it is not a matter of Staphylococcus Coagulase Positive, Mesophilic Aerobics and Total and Thermotolerant Coliforms. Being a food that is consumed by the majority of the population, and this, being considered of extreme importance for the guarantee of the food and nutritional security of the consumer, this research is more fundamental, considering the milk evaluated for the considered low quality making is the same, relevant for the safety of products that are offered for sale, for the production of sausages for human consumption and dairy products.

Key words: Pathogens, food and hygiene..

Introdução

¹ Acadêmica de Medicina veterinária do Centro Universitário Assis Gurgacz – PR. laysaraldi@hotmail.com

² Médica veterinária. Mestre em conservação e manejo de recursos naturais (UNIOESTE). Docente do Centro Universitário Assis Gurgacz – PR. laisweber@fag.edu.br

O leite é um alimento consumido em todo o mundo, Segundo a Companhia Nacional De Abastecimento CONAB (2016), no Brasil seu consumo é 35,1 bilhões de litro por ano. Na região do Município de São Pedro do Iguaçu, localizado no estado do Paraná, a produção de leite é uma das principais atividades econômicas e gera de renda para inúmeros pequenos produtores, visto que a maioria das propriedades é de pequeno porte no município e a atividade e manejo com vacas de leite se torna viável na geração da renda familiar.

Segundo Alves et al. (2009), o leite é um fluído biológico de elevado valor nutricional para as espécies mamíferas. Sendo o mesmo, rico em nutrientes e composto por água, proteínas, vitaminas, antioxidantes, gordura, cálcio, lactose e minerais (LANNA, 2000).

Devido à importância nutricional do leite fatores como o estado sanitário do rebanho, a limpeza dos equipamentos e utensílios destinados à sua obtenção, as condições sanitárias do local de ordenha e a qualidade da água utilizada na propriedade podem influenciar na qualidade microbiológica dos produtos lácteos (AMARAL et al., 2003).

Leite com alta diversidade e contagem total bacteriana, incluindo bactérias gram positivas e gram negativas, estão associados a práticas de higiene insatisfatórias que permitem a contaminação do leite por bactérias provenientes de diversas fontes (VERDIERMETZ et al., 2009). Entre os microrganismos que podem ser responsáveis pelas intoxicações alimentares estão a espécie *Estafilococos Coagulase Positiva*, *Mesófilos Aeróbios* e os *Coliformes Termotolerantes e Totais*, que são indicadores de possível contaminação de origem fecal sugerindo a presença de patógenos de origem entéricas (SILVA et al., 2011; MELO et al., 2010).

Segundo Pedrico (2008), a necessidade de adaptabilidade dos produtores de leite e das indústrias com os critérios estabelecidos na IN n°. 51/2002 caracteriza um fato relevante a ser analisado, tendo em vista que o leite é um alimento consumido por todas as faixas etárias, por ser completo quando se fala em nutrientes. Porém devido a sua riqueza nutricional ele se torna susceptível ao desenvolvimento e proliferação de um grande número de microrganismos, que provem do próprio animal, do ambiente, do homem que realiza a ordenha, tanto de forma manual como mecânica e dos utensílios usados, tal como balde, tarô e refrigerador. Sendo o Brasil um dos maiores produtores de leite do mundo, a maior parte deste leite é destinada a produção de derivados como queijo. Assim sendo é indispensável à melhoria de sua qualidade e segurança (ATAÍDE et al., 2008).

A indústria leiteira atravessa um período de transformações e a qualidade do leite representa um ponto importante do setor. Assim sendo, é necessário a prevenção para evitar a contaminação do leite por microrganismos patogênicos que representam um grave problema

econômico para as indústrias, através da adoção de medidas rigorosas de higiene na produção, armazenamento e transporte do leite (GARCIA et al., 2014).

Ao ser extraído da glândula mamária de animais sadios, sob condições assépticas o leite evidencia contagens médias de bactérias de $1,0 \times 10^3$ UFC/mL compreendidas principalmente pela microbiota saprófita. De maneira geral, a carga microbiana do leite depende do número de microrganismos que entram em contato com o leite antes da ordenha ou através de contaminações subsequentes ressaltando se que a multiplicação microbiana depende do tempo e temperatura de estocagem do leite.

Apesar da Legislação Brasileira não autorizar a comercialização do leite cru no país e a Instrução Normativa (IN) nº 51, de 18 de setembro de 2002, do Ministério da Agricultura, Abastecimento e Pecuária (MAPA/2002) ter aprovado a identidade e requisitos mínimos de qualidade para os vários tipos de leites, incluindo em suas disposições o regulamento de identidade e qualidade do leite cru refrigerado, é grande o comércio deste produto e de seus derivados sem passarem pelos serviços de inspeção e fiscalização sanitária do governo colocando em risco a saúde pública. (ALVES et. al. 2009).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite cru, com auxílio de swabs das superfícies do teto e mãos do ordenhador, para identificar pontos de contaminação, a pesquisa foi realizada em uma propriedade no Município de São Pedro do Iguaçu, abordando a presença de *Estafilococos Coagulase Positiva*, *Mesófilos Aeróbicos* e *Coliformes Termotolerantes* e Totais.

Material e Métodos

No período de agosto a setembro de 2017 foram realizadas análises provenientes do leite cru, ordenhados de 12 (doze) vacas, que foi armazenado em um resfriador de 420 litros, que funciona com uma rotina de agitação de 5 em 5 minutos, quando não está no processo de resfriamento, quando está realizando o processo, o leite é agitado continuamente no momento em que sua temperatura chega a 3°C positivos, sendo que o leite é entregue a cada dois dias, com uma média de 180 litros. Segundo o proprietário, no mês de setembro foram entregues aproximadamente 2.000 litros ao laticínio do Município. A propriedade tem a dimensão de 6 alqueires, sendo 4 mecanizados, 1 alqueire de pastagem perene e 1 alqueire de silagem de inverno e está localizada no Município de São Pedro do Iguaçu, com latitude de 24°56'08" S e longitude de 53°51'19"W. A pesquisa também inclui análises dos swabs no teto de quatro

animais aleatórios da propriedade e das mãos do ordenhador, com intuito de avaliar a presença de Estafilococos Coagulase Positiva, Mesófilos Aeróbicos e Coliformes Termotolerantes e Totais.

Para a coleta das amostras de leite cru refrigerado foram coletados aproximadamente 200 mL diretamente dos tanques de expansão, leite este proveniente dos 12 animais, coletados após a agitação programada por cinco minutos. As amostras foram acondicionadas em frascos esterilizados e transportadas em caixa isotérmica com gelo ao laboratório Allabor o qual encaminhava as mesmas a sua sede na cidade de Maringá/PR.

Para análise do swabs foram coletadas cinco amostras no total, sendo a esfregação do teto de quatro animais escolhidos aleatoriamente e higienizados de acordo com as técnicas utilizadas diariamente pelo produtor, para a coleta foi utilizado um swab de pontas flexíveis estéreis, o qual foi mergulhado em um tubo de 10mL contendo água peptonada a 0,1% e friccionado sobre a superfície dos tetos. O swab das mãos do manipulador foi realizado igualmente aos swabs de teto, porém forem friccionados sobre a mão do manipulador que estava responsável pela ordenha no dia da coleta. Após as coletas os swabs eram mantidos em tubos de ensaio com tampa rosqueável contendo água peptonada estéril a 0,1%, conservados sob refrigeração durante o seu transporte ao laboratório para processamento.

As análises microbiológicas para detecção de Estafilococos Coagulase Positiva, Mesófilos Aeróbicos e Coliformes Termotolerantes e Totais, foram realizadas no laboratório Allabor, localizado na cidade de Maringá/PR. Foram seguidos os métodos analíticos proposto para a detecção de Coliformes Termotolerantes, para análise do leite cru, swab de teto e mãos do ordenhador foi utilizado de acordo com a Normativa nº 62/2003, do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento); para a detecção de Coliformes Totais para análise de leite cru, swab de teto e mãos do ordenhador foi utilizado o método analítico proposto pela ISO 4832/2006(*International Standard*); para a detecção de Estafilococos Coagulase Positiva para análise de leite cru, swab de teto e mãos do ordenhador foi utilizado o método analítico proposto pela ISO 6888-1/1999 (*International Standard*); para a detecção de Mesófilos Aeróbicos para análise de leite cru foi utilizado o método analítico proposto pela ISO 4833/2013 (*International Standard*) e para o swab de teto e mãos do ordenhador o método analítico utilizado foi APHA/2001 (*American Public Health Association*).

Os resultados obtidos após as análises, passaram por um tratamento estatístico para obtenção dos resultados médios, no qual foi feita a soma dos resultados obtidos para leite cru

refrigerado, swabs de teto e swabs de mãos do manipulador e divididos por 5, tendo em vista que foi realizado cinco repetições de cada um dos três testes.

Resultados e Discussões

Após as análises obtiveram-se os resultados que serão demonstrados na tabela 1, com as seguintes legendas: Coliformes Termotolerantes (CT), Coliformes Totais (Ct), Estafilococos Coagulase Positiva (ECP) e Mesófilos Aeróbios (MA), ressaltando que os valores identificados são referentes à média derivada de 05 amostras.

Tabela – Teores Médios das Análises de Leite Cru, Swabs de Teto e Mãos do Ordenhador.

Parâmetros	Contagem Média das Análises			
	CT	Ct	ECP	MA
Leite Cru	$4,2 \times 10^3$	$1,0 \times 10^5$	$4,4 \times 10^5$	$9,4 \times 10^6$
Swabs de Teto	$3,2 \times 10^3$	$3,2 \times 10^3$	1×10	$1,8 \times 10^4$
Swabs de Mãos	$4,0 \times 10^3$	$4,0 \times 10^3$	1×10	$7,5 \times 10^4$

Fonte: Arquivo Pessoal (2017)

De acordo com os resultados apresentados na Tabela, houve alteração na média prescrita pela Legislação do Leite Cru Refrigerado, com maior incidência nos Mesófilos Aeróbios, identificado como (MA), a alteração é visivelmente maior tanto para as análises de leite cru como nas análises de swab como demonstrado nos gráficos. Estafilococos Coagulase Positiva, identificado acima como (ECP), observa-se alteração maior nas análises de leite cru refrigerado, porém sua presença em swab é reduzida. Coliformes Totais identificado acima como (Ct) observa-se alteração tanto para leite cru refrigerado quanto para swabs. Não Houve alteração no leite cru para o micro-organismo Coliforme Termotolerante, identificado acima como (CT).

A IN 51/2002 que regula a Legislação do Leite Cru Refrigerado, determina que a contagem padrão em placa (CPP), para Mesófilos Aeróbios seja de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL, levando em consideração os resultados apresentados na análise das médias para Coliformes Totais obteve-se um resultado de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL, para Estafilococos Coagulase Positiva o resultado encontrado foi de $4,4 \times 10^5$, Mesófilos Aeróbios apresentou resultado de $9,4 \times 10^6$ UFC/mL, classificado assim as análises como baixa qualidade microbiológica, que provavelmente teve sua alteração devido ao manejo inadequado do produtor, como falha no manejo pré-ordenha, tendo em vista que a ordenha dessa propriedade é mecânica, segundo

SANTOS; FONSECA, (2007); KLUNGEL et al.; (2000), apud Nero et.al., (2009) a adoção de ordenha mecânica, pode trazer contaminação secundária quando suas tubulações não são higienizadas corretamente. Outro ponto relevante na alteração pode ser constatado pela entrada de leite em temperatura ambiente, visto que a oscilação de temperatura do refrigerador facilita a multiplicação dos agentes microbianos (SILVA et al., 2011).

De acordo com os resultados obtidos para *Estafilococos Coagulase Positiva*, indicados pela Normativa nº 62 e IN 51, não há um padrão exato que defina a qualidade do leite, porém vários autores, entre eles Silva. et al., 2011, consideram para a boa qualidade do leite que a contagem média seja de $1,0 \times 10^4$ UFC/mL. Para tanto o valor médio de $4,4 \times 10^5$ torna-se preocupante devido ao fato de que esses valores são suficientes para a produção de toxinas estafilocócicas que podem vir causar danos à saúde do consumidor e alterações sensoriais da matéria prima (BRASIL, 2011).

Para as alterações observadas nos Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes não existe Legislação que determine o padrão de análise do leite cru refrigerado, no entanto segundo Reinemann et al., (2003), apud Maldaner (2011), a incidência desses microorganismos está ligado diretamente às condições de higiene do ambiente e higienização de teto e equipamentos de ordenha, ainda de acordo com Spexoto, Oliveira e Olival (2005), apud Maldaner (2011), o valor de até $1,0 \times 10^4$ UFC/mL é considerado um valor de boa qualidade do leite, o que ocorreu apenas em uma das amostras analisadas, que podem ser explicados pela quantidade de chuvas que ocorreram nesse período, em que os animais ficavam a maior parte do tempo no local da realização da ordenha e não em pastagens, dificultando a limpeza do local. A ineficiência do *pré-dipping* também pode ser levada em conta, visto que a secagem dos tetos não era efetuada com toalhas higiênicas individuais e sim com material coletivo.

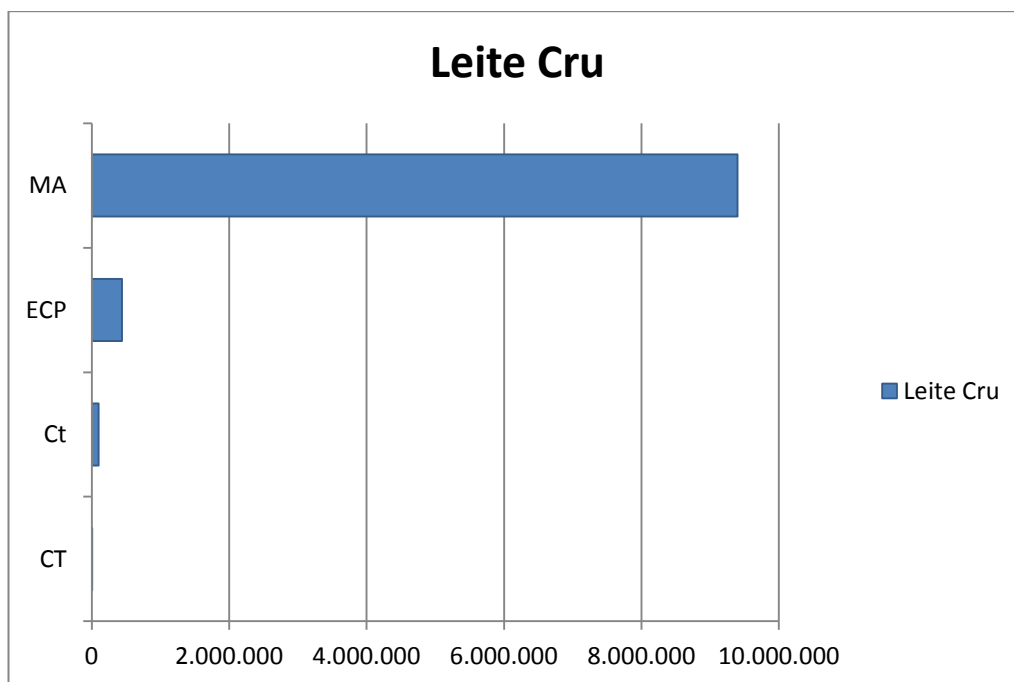
A análise dos swabs de teto e das mãos do ordenhador foi realizada com o intuito de identificar possíveis pontos de contaminação da matéria prima. Após pesquisas, não foram encontradas Legislações que regulem um padrão específico para comparação, no entanto, segundo Silva (2011) o uso coletivo de panos utilizados na secagem do teto após o *pré-dipping* pode aumentar em mais de mil vezes a população de microorganismos Mesófilos Aeróbios nos tetos. A presença de bezerros ao pé foi observada na propriedade e segundo Brito; Brito; Verneque (2000), este fato demonstra um pequeno aumento no grau de contaminação.

Outra observação feita foi a não higienização das mãos do ordenhador durante o processo de ordenha, o que corrobora em um grande aumento na contaminação dos tetos e

consequentemente do leite, o que contribui para que haja um déficit na qualidade microbiológica do leite produzido. Estrutura adequada e mão de obra qualificada, sem a capacitação correta tanto para a higienização pessoal como dos utensílios utilizados durante o processo de obtenção da matéria prima também são fatores observados na propriedade.

Segue abaixo ilustração gráfica e suas respectivas médias:

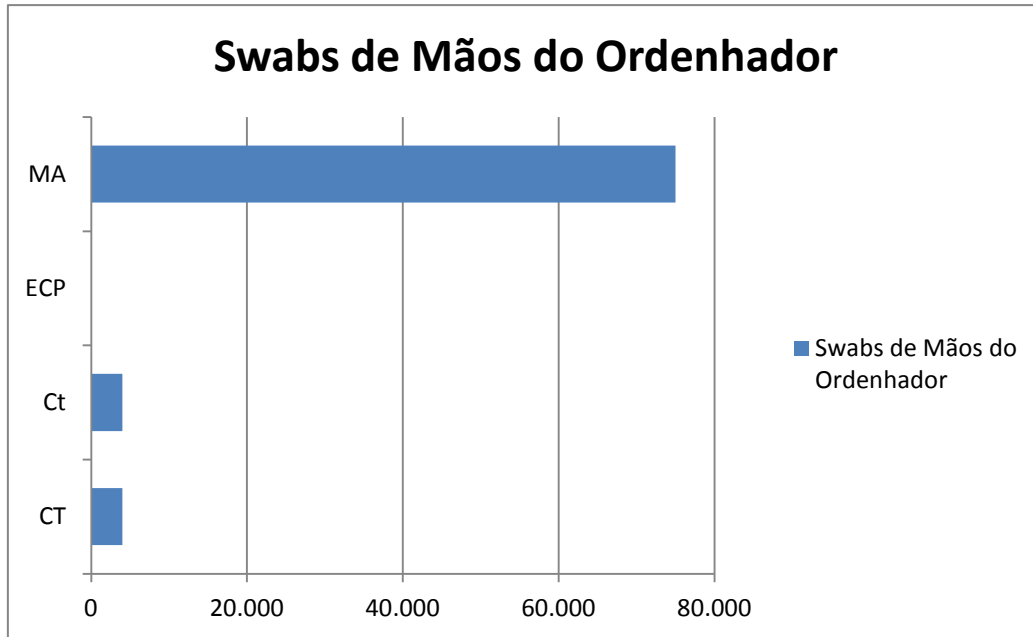
Gráfico 1 – Resultados das Análises de Leite Cru



Fonte: Arquivo (2017)

O gráfico 1 que analisa os Resultados das Análises de Leite Cru demonstra que a maior contaminação presente no Leite Cru se dá pelos microorganismos Mesófilos Aeróbios, seguido pelo Estafilococos Coagulase Positiva, apresentando uma alteração menor nos Coliformes Termotolerantes e Totais.

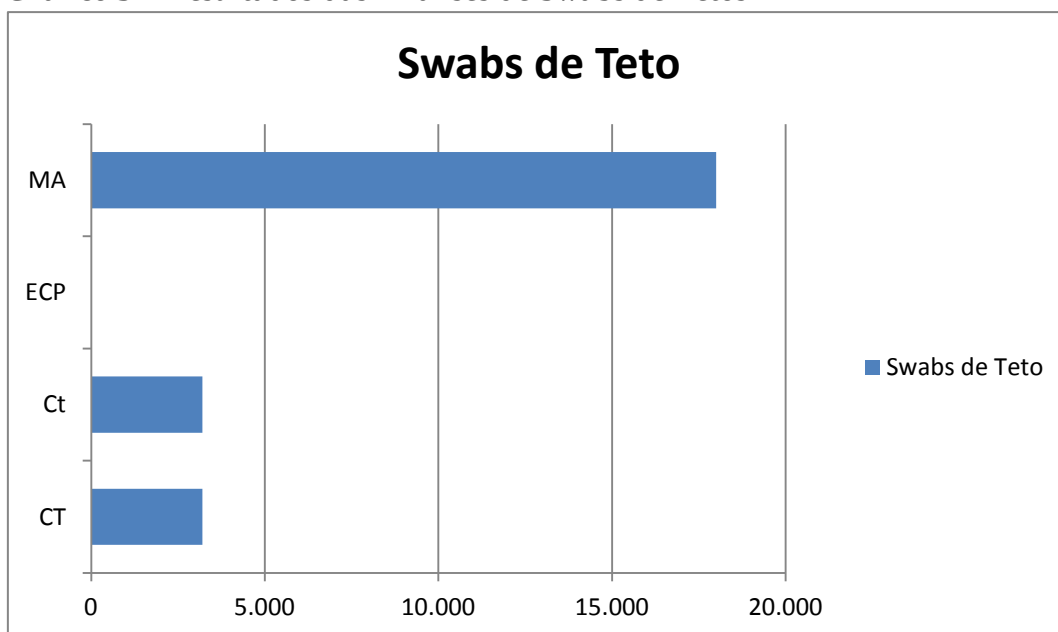
221 **Gráfico 2 – Resultados das Análises de Swabs de Mãos do Ordenhador**



222
223 Fonte: Arquivo (2017)

224
225 O gráfico 2 sobre os Resultados das Análises de Swabs de Mãos do Ordenhador destaca
226 que a maior incidência de contaminação se dá pelos micro-organismos Mesófilos Aeróbios,
227 seguidos dos Coliformes Termotolerantes e Totais e em menor prevalência os Estafilococos
228 Coagulase Positiva.

229
230 **Gráfico 3 – Resultados das Análises de Swabs de Tetos**



231
232 Fonte: Arquivo (2017)

O gráfico 3 sobre os Resultados das Análises de Swabs de Tetos aponta que a maior incidência de contaminação também se dá pelos micro-organismos Mesófilos Aeróbios, seguidos dos Coliformes Termotolerantes e Totais e em menor prevalência os Estafilococos Coagulase Positiva.

Conclusão

Após o encerramento dessa pesquisa, conclui-se que a qualidade microbiológica do leite cru analisado na propriedade em questão, é de baixa qualidade, quando comparado com as legislações em vigor, devida os altos índices microbiológicos apresentados nas amostras coletadas, além disso, os swabs provenientes de teto e mãos do manipulador comprovam a ineficiência da higiene.

Todos esses resultados apontam para um fator de risco de garantia de a segurança alimentar e nutricional do consumidor final dessa matéria prima, gerando também, alteração nos derivados lácteos que são produzidos na indústria para a qual o produto é enviado.

Referências

- ALVES, L. L., et al. **Aceitação sensorial e caracterização de frozenyogurt de leite de cabra com adição de cultura probiótica e prebiótico.** Ciência Rural, Santa Maria, v. 39, n. 9, p. 2595- 2600, dez. 2009.
- AMARAL, L. A. et al. **Ocorrência de *Staphylococcus* sp. em água utilizada em propriedades leiteiras do Estado de São Paulo.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. v. 55; n.5; p. 620-623, 2003.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.** 4. ed. Washington DC. 2001.
- ATAÍDE WS et al. **Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado.** Ver Inst. Adolfo Lutz, 67(1): 73-77, 2008.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Departamento de Inspeção de **Produtos de Origem Animal.** Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002. Aprova e oficializa o regulamento técnico de identidade e qualidade de leite cru refrigerado. Diário Oficial da União, n. 172, p.13- 22, 2002. Seção I.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62 – **Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água.** Brasília. 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro. Instrução Normativa nº 62 – **Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade de Leite Tipo A**. Brasília. 2011.

BRITO, J, R, F.; BRITO, M. A. P.; VERNEQUE, R. S. **Contagem bacteriana da superfície de tetas de vacas submetidas a diferentes processos de higienização, incluindo a ordenha manual com participação do bezerro para a descida do leite**. Ciências Rural, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 847-850, 2000.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Disponível em: http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/16_05_04_17_33_34_leite_abril_2016.pdf. Acesso em: 22/04/2017.

GARCIA, L. G. C. RIBEIRO, J. G. ORSINE, J. V. C. **Condições higiênico-sanitárias da rotina de ordenha de leite bovino**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, Campina Grande, v.16, n.2, p.163-172, 2014 163.

ISO 6888-1: 1999. **Microbiology – Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) – Part I: Technique using Baird-Parker agar medium**.

ISO: International Standard. ISO 4832. **Microbiology of food animal feeding stuffs. Horizontal method for the enumeration of coliforms – Colony – count technique**. 2006.

ISO 4833 – **Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30°C by the pour plate technique**. 2013.

LANNA, D. P. D.; MEDEIROS, S. R. **Manipulação da composição do leite e do metabolismo de nutrientes usando isômeros do ácido linoléico conjugado (ALC)**. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE QUALIDADE DO LEITE, 2, 2002, Curitiba. Anais. Curitiba, 2000. p. 78 – 84.

MALDANER, Nádia Ione. **Avaliação da qualidade microbiológica do leite cru produzido em duas propriedades do Extremo Oeste de Santa Catarina**. São Miguel do Oeste/SC. Outubro, 2011.

MELO, B. A. de. **Aspectos microbiológicos de amostras de leite cru coletadas no município de Major Isidoro – Alagoas**. Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável. v. 5; n.5; p.01-05, 2010.

NERO. Luís Augusto; VIÇOSA, Gabriela Nogueira; PEREIRA, Flávio Evans Vilela. **Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção**. Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, 29(2): p. 386-390, abr.jun. 2009.

PEDRICO, A. **Aspectos higiênico-sanitário na obtenção do leite no assentamento alegre, no município de Araguaiana, TO**. Ciência animal brasileira, v.10, n.2, 2009, p.610-617.

SILVA, M. V. M; NOGUEIRA, J. L. **Mastite: Controle e Profilaxia no Rebanho Bovino**. Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária. v. 08, n. 15; p.1-13, 2010.

- 324 SILVA, Livia Cavaletti Corrêa da; BELOTI, Vanerli; TAMANINI, Ronaldo; OVIDIO,
325 Loredana d'; MATTOS, Marcos Rodrigues de; ARRUDA, Ana Maria Camelo Travassos;
326 PIRES, Edleide Maria Freitas. **Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica**
327 **do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano.**
328 Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 32, n.1, p. 267-276, jan./mar. 2011.
329
330 VERDIER-METZ, I. et al. **Do milking practices influence the bacterial diversity of**
331 **rawmilk?** Food Microbiology. v.26; p.305-310, 2009.