

ASPECTOS MICROBIOLÓGICOS DE AMOSTRAS DE LEITE CRU COLETADAS NO MUNICÍPIO DE MAJOR ISIDORO – ALAGOAS

Breno Araújo de Melo

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Zootecnia, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: brenozoo13@hotmail.com

Tania Marta Carvalho dos Santos

Profª. Drª. CECA, UFAL Universidade Federal de Alagoas BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: tmcsc@ceca.ufal.br

Yana Rouse da Silva Barbosa

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Zootecnia, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: anaymaceio@hotmail.com

Cláudia Thaysa Reis de Moura

Universidade Federal de Alagoas Estudante de Zootecnia, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: kalzootec@hotmail.com

Yamina Coentro Montaldo

Universidade Federal de Alagoas Zootecnista, CECA, UFAL BR 104 NORTE 85 – MATA DO ROLO – 57100 – 000 – Rio Largo, AL – Brasil E – mail: yaminacm@hotmail.com

Resumo --- O presente trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica de leite cru coletados em quatro fazendas no município de Major Isidoro –Alagoas. As amostras foram submetidas a contagens de microrganismos mesófilos, determinação do número mais provável de coliformes (NMP), seguindo metodologia descrita no “ Compendium of Methods for the Microbiological examination of Foods” da Associação Americana de Saúde Pública e no Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos. Os padrões microbiológicos do leite foram baseados no DIPOA(BRASIL, 2002) e ANVISA (BRASIL, 2001), as quais estão em vigor .oa padrões microbiológicos para leite estabelecidos pelo Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal (DIPOA) encontram-se na Instrução Normativa N° 51 de 18/09/02 (BRASIL, 2002) e os da Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA, na Resolução RDC N °12 de 02/01/01 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2001). O número de microrganismos mesófilos variou de $1,8 \times 10^5$ UFC/ml⁻¹ a $2,2 \times 10^6$ UFC/ml⁻¹. Em relação a coliformes totais, amostras de duas fazendas apresentaram valores de até $2,3 \times 10$ NMP/ml⁻¹.

Palavras-chave: leite cru, microrganismos mesófilos, coliformes.

ASPECTOS DE MICROBIOLOGÍA DE MUESTRAS DE LECHE CRUDA RECOGIDA EN EL MUNICIPIO DE MAJOR ISIDORO - ALAGOAS

Resumen --- Este estudio tuvo como objetivo verificar la calidad microbiológica de la leche cruda de cuatro fincas en el municipio de la Major Isidoro-Alagoas. Las muestras fueron sometidas a los recuentos de mesófilos, determinando el número más probable de coliformes (NMP), siguiendo el método descrito en el "compendio Microbiológico de métodos para el examen de los Alimentos" de la Asociación Americana de Salud Pública y el Manual de Métodos para el análisis microbiológico Alimentos. La calidad microbiológica de la leche se basan en DIPOA (Brasil, 2002) y ANVISA (Brasil, 2001), que están en vigor. Oa normas microbiológicas para la leche fijado por el Departamento de Inspección de Productos Animales (DIPOA) se encuentran en Instrucción N ° 51 del 09/18/2002 (Brasil, 2002) y la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de la Resolución-RDC ANVISA N ° 12 de 02.01.2001 del Ministerio de Salud (Brasil, 2001). El número de mesófilos osciló entre 1,8 a $2,2 \times 10^5$ UFC/ml-1 $\times 10^6$ UFC/ml-1. Para coliformes totales, las muestras procedentes de dos fincas tenían valores de hasta $2,3 \times 10$ NMP/ml-1

Palabras clave: leche cruda, mesófilos y coliformes.

MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF SAMPLES OF RAW MILK COLLECTED IN THE CITY OF MAJOR ISIDORO – ALAGOAS

Abstract --- This study aimed to verify the microbiological quality of raw milk collected from four farms in the City of Major Isidoro-Alagoas. The samples were subjected to mesophilic counts, determining the most probable number of coliforms (NMP), following the method described in "Compendium Microbiological of methods for the examination of Foods" of the American Association of Public Health and the Manual of Methods for Microbiological Analysis Food. The microbiological quality of milk were based on DIPOA (BRAZIL, 2002) and ANVISA (BRAZIL, 2001), which are in force. Oa microbiological standards for milk established by the Department of Inspection of Animal Products (DIPOA) are in Instruction No. 51 of 18.09.2002 (BRAZIL, 2002) and the National Agency of Sanitary Surveillance-ANVISA Resolution RDC No. 12 of 02.01.2001 of the Ministry of Health (BRAZIL, 2001). The number of mesophilic ranged from 1.8 to 2.2 x10⁵ UFC/ml⁻¹ x10⁶UFC/ml⁻¹. For total coliforms, samples from two farms had values of up to 2.3 x10⁵ NMP/ml⁻¹

Key words: raw milk, mesophilic, coliform.

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento com excepcional valor nutritivo e amplamente consumido pela população mundial, entretanto, é, também, um bom meio de cultura para muitos microrganismos, logo, a existência de problemas relacionados a condições higiênicas deficientes durante os processos de obtenção, manipulação e conservação vem sendo considerada como uma das principais razões para a perda de qualidade do leite (BONFOH, et. al, 2003).

Os alimentos são passíveis de contaminação por diferentes agentes etiológicos, podendo levar a doenças, manifestadas por ação de microrganismos patogênicos ou por suas toxinas. Todos os alimentos deveriam ser objeto de exames microbiológicos, que refletiriam as condições higiênicas relacionadas com a produção, armazenamento, transporte e manuseio, a fim de elucidar a ocorrência de enfermidades transmitidas por meio dos alimentos. O leite, independente de sua origem, deve garantir qualidade e inocuidade ao consumidor, devido à sua composição nutricional rica em proteínas e outros componentes (SENA, 2000).

Falhas ocorridas durante a ordenha e o processamento, aliadas a temperaturas inadequadas de conservação no comércio varejista, são fatores que tem contribuído para a comercialização dos produtos lácteos com características microbiológicas fora dos padrões regulamentares (GOMES & GALLO, 1995).

Muitas intoxicações alimentares têm etiologia conhecida, podendo ocorrer nos países em desenvolvimento e nos desenvolvidos. Entretanto, os surtos associados a alimentos industrializados têm recebido grande difusão e atenção do público, ao passo que os casos individuais ocorridos em lares, bares e restaurantes são menos relatados ao público devido à falta de notificação ao poder público pela população em geral (GELLI et al., 1999).

Daí a qualidade do leite ser 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 (LEITE JR; TORRANO; GELLI, 2000; TIMM et al., 2003).

Dois grupos de microrganismos podem ser destacados: (1) os não patogênicos, mas que alteram as propriedades do leite pela elevada acidez ou pela produção de enzimas termotolerantes, e (2) são aqueles responsáveis por toxinfecção alimentares, que podem estar presentes no leite cru (SILVEIRA et al., 1989).

O *S. aureus* é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsáveis por surtos de intoxicação alimentar. As peculiaridades do seu habitat tornam sua presença largamente distribuída na natureza, sendo transmissíveis aos alimentos por manipuladores, na maioria, portadores assintomáticos, e pelos animais, principalmente o gado leiteiro com mastite.

A microbiota predominante no leite cru geralmente 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 presentes no leite cru incluem *Bacillus*, *Clostridium*, *Listeria* spp. e enterobactérias. Há também muitas espécies como *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium* e *Aeromonas*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Brevibacterium* e *Propionibacterium* (LAFARGE et al., 2004).

As condições sanitária e a qualidade do leite podem ser avaliadas pelo número de bactérias presentes. A presença de microrganismos indesejáveis no leite e seus derivados não tem somente importância em saúde pública, mais também compromete a qualidade do alimento, em face das inúmeras alterações no gosto, aroma e aspecto do produto (MENEZES, 2007).

A quantidade de microrganismos no leite influencia no tempo de prateleira e mesmo no tipo de produto para o qual o leite poderá ser utilizado (AVILA & GALLO, 1996). Assim, as condições higiênico-sanitárias devem ser monitoradas para garantir um produto seguro e de qualidade, sendo uma ferramenta para determinação

dos pontos do processamento que podem ser melhorados (SILVA & JUNQUEIRA, 1997).

Pensando em segurança, vários países elaboraram e introduziram regulamentações para garantir a segurança do alimento em diferentes estágios na cadeia de produção (VALEEVA et al., 2005). Assim, no Brasil, entrou em vigor a Instrução Normativa nº 51 na qual, detém vários fatores a serem adotados para a obtenção de leite de boa qualidade e seguro. E neste contexto de segurança alimentar e qualidade, cresce a importância da instrução normativa nº 51, a qual determina que o leite de cada propriedade rural seja acompanhado através de análises laboratoriais para que se identifiquem os problemas na sua origem, evitando que produtos lácteos com qualidade indesejável cheguem ao consumidor (MARTINS; ALENCAR & BRESSAN, 2001).

A versão definitiva das novas normas de produção leiteira foi publicada na Instrução Normativa nº 51 (IN51), de 18 de setembro de 2002, que determina novas normas na produção, identidade e qualidade de leites tipos A, B, C, pasteurizado e cru refrigerado, além de regulamentar a coleta de leite cru refrigerado e seu transporte a granel (BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002). Outro incentivo à modernização da produção leiteira no Brasil ocorreu em 2003, pela Resolução nº 3088 (BRASIL, Resolução nº 3.088, de 25 de junho de 2003), que aprovou financiamento de equipamentos de resfriamento e coleta a granel para produtores de leite.

Entretanto, uma das principais alterações diz respeito ao leite tipo C; até então, o leite cru destinado ao beneficiamento desse tipo de leite pasteurizado não possuía parâmetros microbiológicos específicos. De acordo com as novas normas, esse leite deve ser refrigerado já na propriedade e possuir uma contagem de aeróbios mesófilos máxima de 10^6 UFC/mL, objetivo a ser atingido em diferentes prazos de acordo com a localização geográfica da região produtora (NERO et al., 2004).

Tendo em vista a importância que o leite assume na alimentação humana, e no desenvolvimento econômico da região, realizou-se o presente trabalho com o objetivo de conhecer o aspecto microbiológico do leite cru produzido e comercializado no Município de Major Isidoro-AL.

MATERIAL E MÉTODOS

A análise das amostras foi realizada na Universidade Federal de Alagoas, no Laboratório de Microbiologia agrícola do Centro de Ciências Agrárias.

Foram coletadas 8 amostras das quais 2 foram coletadas diretamente de tanques de resfriamento e as demais a partir de tambores de 50 litros de quarto propriedades localizadas no Município de Major Isidoro, Estado de Alagoas. Foram utilizadas pipetas graduadas e recipientes de vidro estéreis, após coleta as amostras foram devidamente identificadas, vedadas e armazenadas em caixas térmicas e encaminhadas ao laboratório.

As amostras foram submetidas a contagem de microrganismos mesófilos, determinação do número mais provável de coliformes (NMP), seguindo a metodologia descrita no “Compendium of Methods for the Microbiological examination of Foods” da Associação Americana de Saúde Pública e no Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos. Inoculou-se inicialmente 25 ml da amostra de leite em caldo lactosado e após agitação por trinta minutos, seguiram-se as diluições em série até 1/10000, foram transferidas alíquotas de 1.0 ml para tubos de ensaio contendo 10 ml de LST para a determinação do NMP e após 48 horas a 38°C em estufa foi realizado o teste confirmativo com tubos de ensaio contendo 10 ml de caldo verde brilhante a uma temperatura de 38°C por 24 horas e alíquotas de 0.1 ml transferidas para placas de petri contendo meio BDA e PCA e incubadas na sala de câmara de fluxo a 38°C por 5 dias para a contagem de microrganismos mesófilos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

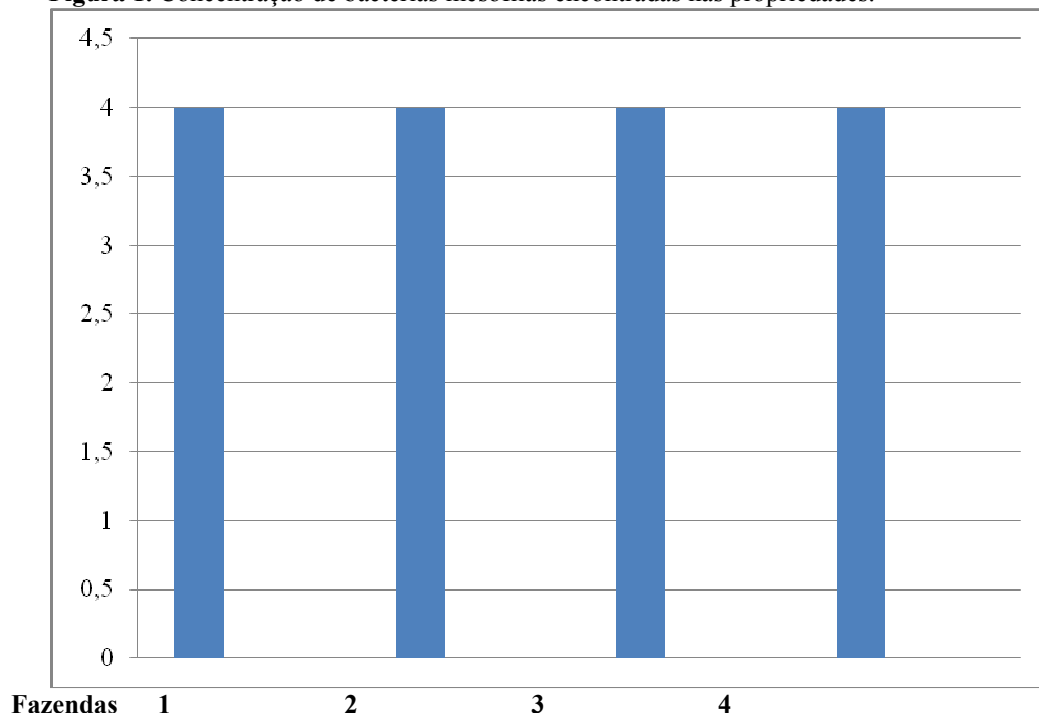
Dos resultados obtidos observa-se que em relação a coliformes fecais, as amostras de duas fazendas apresentaram valores de até $2,3 \times 10^6$ NMPml⁻¹.

De acordo com as análises, as amostras de leite apresentaram uma contagem de microrganismos mesófilos acima de 180.000 UFCml⁻¹, esses valores variou entre $1,8 \times 10^5$ UFC/ml⁻¹ a $2,2 \times 10^6$ UFCml⁻¹ onde o limite máximo permitido pelos padrões do Ministério da Saúde é de $1,0 \times 10^6$ UFCml⁻¹.

Segundo BRASIL (1997), observou-se que o leite *in natura* apresentou a maior diversidade de espécies do gênero: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. welshimeri* e *L. grayi*.

Resultados encontrados por AVILA & GALLO (1996), apresentaram algumas bactérias indicadoras de contaminação fecal e outros gêneros bacterianos que também englobam espécies patogênicas. Um alerta deve ser feito à população que está consumindo estes produtos, exposta a riscos de infecções.

Figura 1. Concentração de bactérias mesófilas encontradas nas propriedades.



De um modo geral, no Brasil, a contaminação de leite pasteurizado por altas contagens de microrganismos deterioradores e/ou patogênicos, tem sido atribuída a deficiências no manejo e higiene durante a ordenha, a elevados índices de mastites, a descuidos com a correta desinfecção e manutenção de equipamentos e à falta de treinamento para os colaboradores (PADILHA; FERNANDES, 1999; FRANCO et al., 2000; GUIMARÃES, 2002; CARDOSO; ARAÚJO, 2003).

A qualidade microbiológica deficiente do produto indica que este monitoramento é uma etapa importante, concomitantemente à implantação de ações corretivas. A implantação de programas de boas práticas de fabricação e análise de perigos e pontos críticos de controle irá permitir que seja assegurada a inocuidade do produto (SILVA et al., 2007).

CONCLUSÃO

A qualidade microbiológica do leite produzido na região leiteira de Major Isidoro apresentou aspecto duvidoso onde obtiveram quantidades de coliformes e bactérias mesófilas acima do permitido pelas normas vigentes. Tais resultados evidenciam que os procedimentos de obtenção do leite é realizado sob condições insatisfatórias.

Há, portanto, necessidade de rever os procedimentos de ordenha e higienização de equipamentos, assim como a utilização de tanques de

resfriamentos, manejo adequado os quais proporcionaram melhorias na qualidade do leite.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ÁVILA C.R. & GALLO C.R., 1996. Pesquisa de *salmonella* ssp. Em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “Minas “Frescal” comercializado no Município de Piracicaba-SP. *Scientia agrícola*. 53:150-163.

SILVA N., JUNQUEIRA V.C.A & SILVEIRA N.F.A. 1997. Manual de métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos. SP:varela, 317p.

Silveira N.V.V., SAKUMA H., M.A.B, SARUWTARI J.H. & CHICOURAL E.L. 1989. Avaliacoes da características físico-químicas e microbiológica do leite pasteurizado consumido na cidade de São Paulo. *Revista do instituto Ado Fo Luiz*. 49: 19-25.

BONFOH, B.; WASEM, A.; TRAORE, A. N.; FANE, A.; SPILLMANN, H.; SIMBE, C. F.; ALFAROUKH, I. O.; NICOLET, J.; FARAH, Z.; ZINSSTAG, J. Microbiological quality of cows' milk taken at different intervals from udder to the selling point in Bamako-Mali. *Food Control*, v. 14, n. 7, p. 495-500, 2003.

- BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, **Portaria nº 368** - Diário Oficial da União nº 172, Seção 1 -Anexo I, setembro, p. 28-30, 1997.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 51, de 20 de setembro de 2002. Aprova os regulamentos técnicos de produção, identidade e qualidade do leite tipo... Diário Oficial da União, Brasília, p.13, 21 set. 2002. Seção 1.
- BRASIL, Resolução nº 3.088, de 25 de junho de 2003. Dispõe sobre o programa de incentivo à mecanização, ao resfriamento e ao transporte granelizado... Diário Oficial da União, Brasília, 26 jun 2003
- BRASIL. Decreto-Lei nº 30.691, de 29 de março de 1952. Aprova o novo Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Diário Oficial da União, Rio de Janeiro, p.10.785, 07 jul. 1952.
- GELLI, D.S.; JACABI, M.; SAKUMA, H.; RAMALHO, A.M.; RISTORI, C.A. *et al.* Surto de enfermidades transmitidas por alimentos (ETAs) investigados pelos laboratórios de saúde pública do Estado de São Paulo, no período de 1994 a 1998. **XX Congresso Brasileiro de Microbiologia**, Salvador (BA), 1999.
- LAFARGE, V. et al. Raw Cow Milk Bacterial Population Shifts Attributable to Refrigeration. *Applied Environmental Microbiology*, v. 70, n. 9, p. 5644-5650, 2004
- LEITE JR, A. F. S.; TORRANO, A. D. M.; GELLI, D. S. Qualidade microbiológica do leite tipo C pasteurizado, comercializado em João Pessoa, Paraíba. *Revista Higiene Alimentar*, São Paulo, v. 14, n. 74, p. 45-49, 2000.
- MARTINS, C. E.; ALENCAR, C. A. B.; BRESSAN, M. **Sustentabilidade na Produção de Leite no Oeste Mineiro**, Editora Templo, Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, p. 171-173, 182-192, 2001.
- MENEZES, S.F. Aspectos higiênicos-sanitários de queijo de coalho comercializado no Município de Água Branca – Alagoas e perfil de seus fornecedores e consumidores. Monografia. Universidade Federal de Alagoas (UFAL), 2007.
- NERO et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: **perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51**. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* vol.25 no.1 Campinas Jan./Mar. 2005
- SENA, M.J. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus sp.* isolados de queijos coalho comercializados em Recife (PE). 1997 75 p. Tese de doutorado. Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 2000.
- SILVA et al. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas
- SILVEIRA, N. V. V.; SAKUMA, H.; DUARTE, E. L. Avaliação das condições físico-químicas e microbiológicas do leite pasteurizado consumido na cidade de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.49, p.19-25, 1989.
- TIMM, C. D. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado integral, produzido em micro-usinas da região sul do Rio Grande do Sul. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 106, p. 100-104, 2003.
- VALEEVA, J. G. et al. Improving Food Safety Within the Dairy Chain: An Application of Conjoint Analysis. **Journal Dairy Science**, v. 88, n. 4, p. 1601-1612, 2005

Recebido em 22/02/2010

Aceito em 22/08/2010