



Análise microbiológica do leite bovino não industrializado comercializado na cidade de Cajazeiras, Paraíba

Microbiological analysis of cattle milk not industrialized marketed in Cajazeiras city, Paraíba

Dandara Dias Cavalcante Abreu^{1}; Renelita da Rocha Moésia²*

Resumo: Entende-se por leite o produto proveniente da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas. É o mais nobre dos produtos de origem animal, caracterizado como sendo um líquido branco e opaco, mais viscoso que a água, de sabor ligeiramente adocicado e odor pouco acentuado. Pelo fato de possuir um alto valor nutritivo, é um alimento largamente consumido pelo homem, principalmente na dieta das crianças. Por ser tão rico em termos nutricionais, torna-se também um excelente meio de crescimento e proliferação de microrganismos. O presente estudo objetivou identificar a presença de bactérias que podem ser encontradas no leite bovino comercializado na cidade de Cajazeiras, Paraíba. Foram analisadas 10 amostras de leite bovino *in natura*. Alçadas das amostras foram inoculadas em Caldo de Infusão Cérebro-Coração e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas. Em seguida foram semeadas em meio de cultura cromogênico, novamente incubadas durante 24 horas. As bactérias crescidas foram identificadas pela aparência das colônias através das colorações e confirmadas através da identificação bioquímica. Identificou-se a presença de *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli*. Concluiu-se, que o leite *in natura* comercializado na cidade de Cajazeiras, Paraíba apresenta elevada carga bacteriana.

Palavras-chave: Infecção; Ordenha; Microrganismos.

Abstract: The term milk product from the complete and uninterrupted milking, hygiene conditions, healthy cows, well fed and rested. Is the noblest products of animal origin, characterized as an opaque white liquid, more viscous than water, slightly sweet taste and odor little sharp. Because of having a high nutritional value, is a food widely consumed by humans, especially in children's diets. Because it is so rich in nutritional terms, it is also an excellent medium for microorganism growth and proliferation. This study aimed to identify the presence of bacteria that can be found in bovine milk sold in the city of Cajazeiras, Paraíba. 10 samples of cow's milk *in natura*. Heave of each sample was inoculated into Brain Heart Infusion broth and incubated in bacteriological incubator at 37 ° C for 24h. They were then plated in culture medium CPS ID Chromogenic (Biomérieux), and again incubated for a further 24h. Bacteria grown were identified by the appearance of colonies through staining and confirmed by biochemical identification. We identified the presence of *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli*. It was concluded therefore that the fresh milk sold in the city of Cajazeiras, Paraíba It has a high bacterial load.

Key words: Infection; Milking; Microorganisms.

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 11/10/2016; aprovado em 05/06/2017

¹ Biomédica, Faculdade Santa Maria, Cajazeiras, Paraíba; dandaradias@hotmail.com

² Enfermeira, Faculdade Santa Maria, Cajazeiras, Paraíba; renelitamoesia@bol.com.br



INTRODUÇÃO

De acordo com a Instrução Normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002, entende-se por leite o produto proveniente da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas (BRASIL, 2002). Do ponto de vista biológico, o leite é o líquido extraído das glândulas mamárias de fêmeas dos mamíferos, cujo objetivo é alimentar o filhote recém-nascido (ORDÓÑEZ, 2005).

O leite é o mais nobre dos produtos de origem animal, caracterizado como sendo um líquido branco e opaco, mais viscoso que a água, de sabor ligeiramente adocicado e odor pouco acentuado. É uma mistura homogênea composta de inúmeras substâncias como a água (em maior quantidade), proteínas (caseínas e proteínas do soro), gordura, lactose (carboidrato do leite), vitaminas (A, D, E, K) e sais minerais (fosfato, citrato, carbonato de sódio, cálcio, potássio e magnésio) (SILVA, 2013).

A qualidade do leite é considerada o fator-chave em se tratando dos problemas da cadeia do leite no Brasil, pois ela interfere de forma negativa tanto na produção como no rendimento dos seus derivados. Entretanto, a produção de leite no Brasil ainda não atende às normas pré-determinadas para garantir a sua qualidade, como por exemplo, cuidados com as condições de higiene da ordenha, limpeza de utensílios e equipamentos, como também armazenamento, conservação e transporte (MATTOS et al., 2010). Esses descuidos podem levar a contaminação do leite usado para consumo, causando a proliferação de microrganismos patogênicos e consequentemente quadros de doenças de origem alimentar (LUZ et al., 2011).

Inúmeros fatores podem influenciar diretamente a contaminação microbiana do leite diminuindo a sua qualidade, dentre eles: a época do ano, a raça, estágio de lactação, pastagem, nutrição dos animais, qualidade das águas nos estábulos, saúde da glândula mamária e doenças intercorrentes (LUZ et al., 2011).

Pelo fato de possuir um alto valor nutritivo, é um alimento largamente consumido pelo homem, sendo considerado um dos principais alimentos da dieta das crianças. Porém, em virtude de ser tão rico em termos nutricionais, torna-se também um excelente meio de crescimento e proliferação de microrganismos (BRICIO et al., 2005).

Apesar de muitos microrganismos poderem acometer a região intramamária e causar infecções, o *Staphylococcus aureus* é o principal agente patológico responsável pela mastite bovina crônica. Todavia, outros microrganismos como os bacilos Gram-positivos, especialmente aqueles pertencentes ao gênero *Bacillus* spp., amplamente distribuídos no ar, no solo, na água, nas fezes e nos ambientes de ordenha, também são encontrados como contaminantes do leite. O *Bacillus cereus* e o *Bacillus subtilis* podem ser isolados em culturas puras ou associados a outros agentes patogênicos causadores de mamites (MARQUES, 2006). A mastite bovina é uma doença inflamatória e infecciosa da glândula mamária comum entre o gado leiteiro, que ocasiona o decréscimo da produção láctea podendo levar a uma perda total desta capacidade. Além do prejuízo econômico motivado pela mastite bovina, ainda existe a preocupação com relação à transmissão aos seres humanos, o aparecimento de reações alérgicas e os efeitos tóxicos que podem ocorrer a partir do

uso de antibióticos a fim de controlar a infecção, uma vez que constituem um risco potencial à saúde dos consumidores (BANDOCH; MELO, 2011).

Microrganismos são seres unicelulares microscópicos e existentes há cerca de 3,8 bilhões de anos. Dentre eles encontram-se as bactérias, arqueas, fungos, protozoários e vírus. São agrupados de acordo com a sua capacidade de causar patologias, formando assim os grupos patogênicos e não-patogênicos que habitam a microbiota normal (BYARUGABA, 2009).

A presença e consequente proliferação de microrganismos em alimentos podem ocorrer por diversas variantes, entre elas: temperatura em que o alimento é submetido e enzimas alimentares, bem como, a partir de contaminação por bactérias, fungos, parasitas e insetos. As principais bactérias são os grupos dos coliformes (família *Enterobacteriaceae* que indicam contaminação fecal) e *Staphylococcus* (resistentes a processos térmicos levando o consumidor à intoxicação alimentar) (FERRAZ, 2009).

Os principais gêneros envolvidos na alteração do leite são *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes*, *Micrococcus*, *Yersinia*, *Staphylococcus* e *Listeria*, com destaque para *Pseudomonas* e *Bacillus* (SHIRAI, 2010). O consumo do leite sem o correto tratamento pode comprometer a saúde da população, podendo acometer os consumidores algumas patologias, como a brucelose, tuberculose, listeriose, clostridiose, rickettsioses, intoxicações alimentares por *Staphylococcus*, salmonelose, febre tifoide e paratifoide, além de intoxicações estreptocócicas (OLIVAL; SPEXOTO, 2004).

A presente pesquisa objetivou verificar a qualidade do leite bovino “*in natura*”, não industrializado, produzido e comercializado de maneira informal na cidade de Cajazeiras, estado da Paraíba, a partir da identificação da possível presença ou ausência de espécies bacterianas nas amostras colhidas.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia da Faculdade Santa Maria (FSM), localizado na cidade de Cajazeiras, Paraíba. Para a análise da qualidade microbiológica, foram empregadas amostras de leite cru (*in natura*) não industrializado e comercializado em estabelecimentos privados ou de entrega em domicílio.

A coleta foi realizada a partir da compra em comércio formal (supermercados) e informal (vendedores de porta com entrega em domicílio) de um total de 10 amostras de leite que estavam à disposição do consumidor, e obtido um volume de 500ml de cada estabelecimento privado ou vendedor informal, totalizando 5 litros de leite bovino. Encontravam-se antes da compra em baldes de grande volume, não refrigeradas e expostas a interferentes ambientais como vento e radiação solar. As amostras foram adquiridas no próprio recipiente em que são comercializadas (sacos plásticos ou garrafas pet) e acondicionadas em caixa térmica contendo Gelo Reutilizável Rígido, onde permaneceram por aproximadamente 30 minutos, até o momento em que foram transferidas para o laboratório de microbiologia da Faculdade Santa Maria para realização das análises laboratoriais.

Foram colhidas de três a quatro alças das amostras de leite e inoculadas no meio de enriquecimento Brain Heart Infusion (ágar BHI), que foram incubados a 37°C em estufa

para cultura microbiológica por um período de 24 horas. Após esse tempo, com o auxílio das alças de platina, a amostra foi transferida do BHI e realizado o semeio nas placas com meio de cultura Cromogênico CPS ID (Biomérieux), e novamente incubadas por mais 24 horas. O meio de cultura BHI utilizado foi fornecido em tubo e conservado em geladeira pronto para o uso.

Os meios de cultura CPS encontravam-se distribuídos em placas e também disponibilizados pelo fabricante já prontos para o uso. Neste meio, é possível identificar uma gama de bactérias, entre elas: *Escherichia coli*, *Proteus* sp., *Enterococos*, KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*), *Staphylococcus saprophyticus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans* e *Citrobacter freundii*.

Inicialmente, as bactérias foram identificadas pela aparência das colônias desenvolvidas no meio através das colorações características de cada espécie e do padrão disponibilizado pelo fabricante, posteriormente separadas para confirmação. Observou-se inicialmente as características morfológicas como cor, formato, tamanho, bordas, textura e elevação. Posteriormente, foi realizada a coloração de gram para visualização de forma e arranjos.

Em seguida, foi executado o teste de fermentação da glicose (TSI - Tríplice Açúcar Ferro Ágar), que revelou a presença de espécies fermentadoras a partir da coloração do meio. Logo após, foram realizadas as provas de motilidade em ágar SIM (Sulfeto, Indol, Motilidade) e citrato (para determinação da capacidade de o microrganismo utilizar o citrato como fonte de carbono para o seu crescimento com consequente alcalinização do meio e mudança de coloração).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As discussões a respeito da qualidade do leite bovino não industrializado são frequentes nas cidades com comércio de leite destinado ao consumo humano. A partir da análise bacteriológica realizada em 10 amostras de leite bovino na

cidade de Cajazeiras, verificou-se crescimento bacteriano em todas as amostras (100%) dos diferentes estabelecimentos.

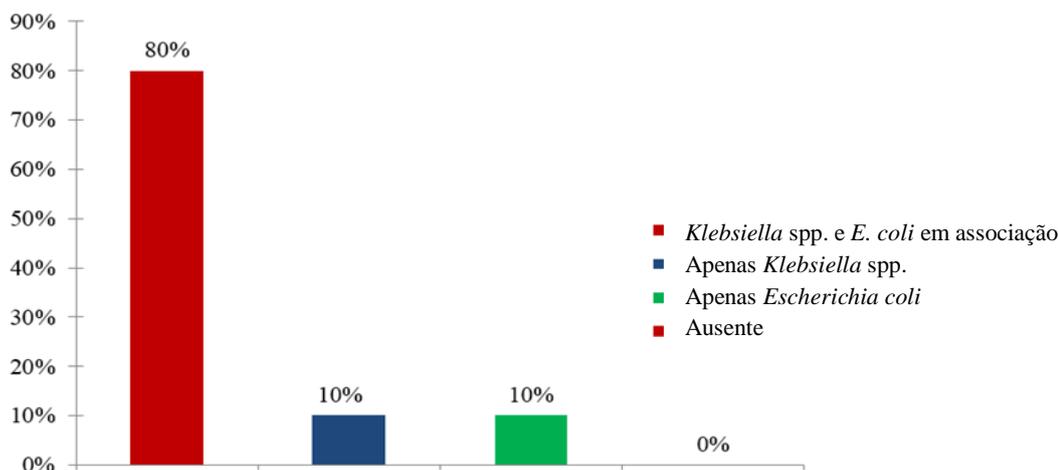
Os resultados das análises microbiológicas revelaram a presença de mais de um microrganismo, sendo estes *Klebsiella* spp. e *Escherichia coli*. Na Figura 1 observa-se os principais microrganismos identificados: 1 amostra apresentou apenas *Klebsiella* spp. (10%); 1 amostra apresentou apenas *Escherichia coli* (10%); e 8 amostras (80%) apresentaram as duas espécies em associação.

A prática de fervura doméstica compara-se à pasteurização, com o objetivo principal de eliminar os possíveis microrganismos patogênicos contaminantes do leite, sendo capaz de eliminar apenas as formas vegetativas de microrganismos, não sendo eficaz contra formas esporuladas altamente resistentes ao calor. Não foram realizados semeios com as amostras de leite após fervura. Segundo Mendes, (2014) apesar da fervura reduzir cerca de 30% das bactérias nas amostras, a prática dela é apenas parcialmente eficaz.

Arcuri et al., (2008), estudando a quantidade, isolamento e caracterização de bactérias psicrotólicas contaminantes de leite cru refrigerado na cidade de Santa Maria, verificaram predominância de bactérias psicrotólicas gram-negativas (81,2%) nos gêneros: *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Burkholderia*, *Chryseomonas*, *Enterobacter*, *Ewingella*, *Klebsiella*, *Hafnia*, *Methylobacterium*, *Moraxella*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Sphingomonas* e *Yersinia*. As bactérias gram-positivas identificadas foram: *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Cellum/Microbacterium*, *Kurthia* e *Staphylococcus*. O gênero *Pseudomonas* foi o mais isolado tendo a espécie *P. fluorescens* como a mais predominante.

É de extrema importância incorporar práticas de prevenção de contaminação do crescimento bacteriano na cadeia produtiva do leite, como a higienização das glândulas mamárias dos animais e das mãos dos ordenhadores, o cuidado com o armazenamento e com o transporte deste alimento, contribuindo assim para a melhoria da qualidade do leite comercializado na cidade.

Figura 1. Principais microrganismos identificados nas amostras *in natura* do leite bovino comercializado na cidade de Cajazeiras, Paraíba.



Barreto et al., (2012) analisando a qualidade microbiológica e a susceptibilidade antimicrobiana do leite *in natura* comercializado em Cruz das Almas na Bahia, também observou elevada contagem microbiana em todas as amostras

analisadas, independente do estabelecimento obtido. Foi encontrado *Escherichia coli* em 76% (19/25) das amostras de leite, corroborando com o presente estudo que teve a bactéria em 90% (9/10) das amostras de leite analisadas. Apesar da

E. coli não patogênica pertencer à flora intestinal de bovinos, sua presença no leite indica contaminação proveniente do material fecal do animal, alterando a qualidade do produto e colocando em risco à saúde dos consumidores, podendo causar, por exemplo, quadros de intoxicações alimentares (LACERDA et al., 2009).

Da mesma forma, Aaku et al., (2004) também observou a presença de bactérias das espécies *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Bacillus* spp., e *Escherichia coli* no leite *in natura* mantidos sob refrigeração antes de todo e qualquer procedimento térmico.

Pinto et al. (2006) e Begotti et al., (2013) em sua pesquisa que avaliou a qualidade microbiológica de leite cru proveniente de tanques de refrigeração individual, coletivos e do silo de uma indústria processadora de leite, a partir de amostras coletadas em uma indústria de laticínios localizada na Zona da Mata Mineira, não encontraram em nenhuma amostra a presença de *Salmonella* spp., apesar de ter sido identificado outras bactérias consideradas patogênicas aos consumidores, constatando os resultados encontrados nesta pesquisa.

Na cidade de Juazeiro do Norte no Ceará Mendes (2014) em análise bacteriológica do leite comercializado na cidade, com as amostras adquiridas a partir de leiteiros ambulantes, feiras livres e verduras, foi identificado contaminação do leite por microrganismos da família *Enterobacteriaceae*, com destaque para *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. e *Citrobacter* spp. As espécies são provenientes das fezes de humanos e animais, da água ou do armazenamento incorreto destes alimentos (TEBALDI et al., 2008).

A *Bacillus* spp. não foi identificada nas análises, contrastando com o estudo realizado por Barbalho e Mota (2001) que isolando microrganismos envolvidos em mastite subclínica bovina no estado de Pernambuco observaram uma frequência de 10,85% de *Bacillus* spp. em um total de 129 amostras. Essa ausência revela que, nas amostras coletadas na cidade de Cajazeiras, não houve contaminação do leite por microrganismos causadores de infecções como a mastite, o que é um dado importante uma vez que o gênero *Bacillus* formam esporos que são resistentes ao calor (COSENTINO et al., 1997).

CONCLUSÕES

O leite *in natura* comercializado na cidade de Cajazeiras, Paraíba apresenta contaminação por bactérias de diferentes espécies, podendo servir de veículo para surtos de intoxicações alimentares. Trata-se de um produto de qualidade insatisfatória ao consumo da forma que é comercializado, bem como, que os princípios básicos da higienização envolvidos no manejo desde a coleta do leite até o consumo ainda são escassos.

REFERÊNCIAS

- AAKU, E. N.; COLLISON, E. K.; GASHE, B. A.; MPUCHANE, S. Microbiological quality of milk from two processing plants in Gaborone Botswana. *Food Control*, Guildford, v. 15, 2004.
- ARCURI, E. F.; SILVA, P. D. L.; BRITO, M. A. V. P.; Brito, J. R. F.; LangeI, C. C.; Magalhães, M. M. A. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotóxicas contaminantes de leite cru refrigerado. *Ciência Rural*, v.38, n.8, nov, 2008.
- BANDOCH, M.; MELO, L. S. Prevalência de mastite bovina por *Staphylococcus aureus*: uma revisão bibliográfica. *Biol. Health Sci.*, Ponta Grossa, v.17, n.1, p. 47-51, jan./jun. 2011.
- BARBALHO, T. C. F.; MOTA, R. A. Isolamento de agentes bacterianos envolvidos em mastite subclínica bovina no Estado de Pernambuco. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, v. 2, n. 2, 2005.
- BARRETO, N. S. E.; SANTOS, G. C. F.; CREPALDI, A. L.; SANTOS, R. A. R. Qualidade microbiológica e suscetibilidade antimicrobiana do leite *in natura* comercializado em Cruz das Almas, Bahia. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 6, 2012.
- BEGOTTI I. L.; MORAES F. F.; MARA FERNANDES DA CUNHA M. F.; LUIZ SÉRGIO MERLINI L. S. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado comercializado na região noroeste do estado do Paraná – Brasil. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.9, n.16, 2013.
- BRASIL. Ministério de Estado da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa 51, 18 de setembro de 2002, Revoga Portaria n.146, de 7 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de produtos lácteos. *Diário Oficial da União*, Brasília, 2002.
- BRICIO, S. M. L.; SILVA, C. G.; FINGER, R. M.; Qualidade bacteriológica do leite pasteurizado tipo C produzido no estado do Rio de Janeiro. *Revista brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 12, n. 1/3, p. 124-126, 2005.
- BYARUGABA, D. K. Mecanismos de resistência aos antimicrobianos. Departamento de Microbiologia Veterinária e Parasitologia, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Makerere, Kampala, Uganda, 2009.
- COSENTINO, S.; MULARGIA, A. F.; PISANO, B.; TUVERI, P.; PALMAS, F. Incidence and biochemical characteristics of *Bacillus* flora in Sardinian dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, v.38, 1997.
- FERRAZ, M. A. Monitoramento de *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus* spp. na linha de produção de leite em pó de uma indústria de laticínios de Minas Gerais utilizando metodologias tradicional e rápida. [Dissertação]. Belo Horizonte, MG: Universidade Federal de Minas Gerais; 2009.
- LACERDA, L. M.; MOTA, R. A.; SENA, M. J. Qualidade microbiológica da água utilizada em fazendas leiteiras para limpeza das tetas de vacas e equipamentos leiteiros em três municípios do Estado do Maranhão. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v. 76, n. 4, 2009.
- LUZ, D. F.; BICALHO, F. A.; OLIVEIRA, M. V. M.; SIMÕES, A. R. P.; Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense. *Revista Agrarian*. v.4, n.14, p.367-374, 2011.

- MATTOS, M. R. D.; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; MAGNANI, D. F.; NERO, L. A.; BARROS, M. de A. F.; PIRES, E. M. F.; PAQUEREAU, B. Qualidade do leite cru produzido na região Agreste de Pernambuco. *Semina: Ciências Agrárias*. v. 81, 2010.
- MENDES, C. F. C. Análise bacteriológica do leite bovino comercializado na cidade de Juazeiro do Norte, Ceará. 2014. 16f. Monografia – Faculdade Leão Sampaio, 2014.
- OLIVAL, A. A.; SPEXOTO, A. A. Leite informal no Brasil: aspectos sanitários e educativos. *Higiene Alimentar*. v. 18, n. 119, 2004.
- ORDÓÑEZ, J. A. Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artimed, 2005.
- PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e solamento de bactérias psicotróficas proteolíticas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, n. 3, 2006.
- SHIRAI, M. A. Conservação do leite cru pela aplicação de dióxido de carbono. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, 2010.
- SILVA, J. G. Análises físico-químicas do leite bovino cru e do leite pasteurizado integral beneficiado em um laticínio no município de Angicos-RN. 2013. 53 f. Monografia – Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2013.
- TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C. D.; BOARI, C. A.; PICCOLI, R. H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 3, 2008.