

## ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE LEITE PASTEURIZADO TIPO “C” COMERCIALIZADO NA CIDADE DE PELOTAS, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

JULIANA ZAFFALON RODRIGUES<sup>1</sup>; CRISTIANE DA SILVA MEYER<sup>2</sup>; SUZANE  
OLACHEA ALLEND<sup>2</sup>; GLADIS AVER RIBEIRO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – [juliana.zaffalon@gmail.com](mailto:juliana.zaffalon@gmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – [crismeyersls@hotmail.com](mailto:crismeyersls@hotmail.com)

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas - [suzane\\_olachea@yahoo.com.br](mailto:suzane_olachea@yahoo.com.br)

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – [gladisaver@hotmail.com](mailto:gladisaver@hotmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Segundo o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA, artigo 475, “entende-se por leite, sem outra especificação, o produto oriundo da ordenha completa, ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas” (BRASIL, 1997).

O leite destinado ao consumo nunca é isento, totalmente, de micro-organismos, havendo limites tolerados do número máximo permitido de bactérias não patogênicas, por mililitro do produto. O beneficiamento do leite, através da pasteurização, requer o emprego correto do par tempo-temperatura de aquecimento mínimo necessário, para lesar a flora microbiana patogênica. O processo de pasteurização do leite objetiva a higienização do mesmo (BARUFFALDI, 1984).

Entretanto as mesmas propriedades que o tornam um alimento importante, favorecem o crescimento de microrganismos, tanto saprófitas deterioradores como patogênicos potenciais, a exemplo das bactérias do gênero *Salmonella*. Os primeiros, além de promoverem prejuízos econômicos às indústrias, utilizando a matéria-prima, reduzem a qualidade de seus derivados, enquanto que os últimos põem em risco a saúde do consumidor (MARTH, 1969).

As bactérias do gênero *Salmonella* spp. são bastonetes gram-negativos, anaeróbicos facultativos e não formadores de esporos. Seu habitat normal é o trato intestinal dos seres humanos e de muitos animais. Todas as salmonelas são consideradas patogênicas em algum grau, causando salmonelose, ou gastroenterite por *Salmonella* spp. (TORTORA; BERDELL; CHRISTINE, 2005).

Em geral, a manipulação inadequada durante o preparo de alimentos é um fator importante de contaminação cruzada (Téo, 2002). A viabilidade intracelular do micro-organismo, a presença de endotoxinas e a resistência aos antimicrobianos convencionais, figuram dentre os principais fatores de virulência associados às infecções pelos diferentes sorotipos de *Salmonella* spp. em animais (QUINN et al. 2005; FERREIRA & CAMPOS, 2008).

*Escherichia coli* é comumente encontrada na microbiota intestinal de animais. Estudos relatam que grande parte dos sorotipos deste micro-organismo não apresentam fatores de virulência, porém determinadas cepas adquiriram conjuntos diferentes de genes que lhe ofereceram a capacidade de provocar a doença (CHERNAKI-LEFFER et al., 2002). *E. coli* é um dos agentes etiológicos mais frequentemente isolados em casos de diarreia no homem e em diferentes espécies animais (HOLAND, 1990; NATARO; KAPER, 1998).

A detecção de coliformes, especialmente *E. coli*, em alimentos processados é uma indicação de contaminação fecal. Também evidencia o controle inadequado do material cru, a contaminação do manipulador envolvido no

processo de produção, e a pobre qualidade do produto final (CÂMARA et al., 2002).

A ANVISA determina que a tolerância de amostra indicativa para *E. coli* é quatro (4) coliformes por mL, enquanto que para *Salmonella* spp. não há tolerância.

As análises do leite são importantes para estabelecer um monitoramento constante e para assegurar a qualidade do produto que vai ser consumido pela população, portanto, o presente trabalho pretende estudar as condições higiênico-sanitárias do leite pasteurizado tipo "C" comercializado na cidade de Pelotas, através da pesquisa de *Salmonella* spp. e de *E. coli* no período de agosto a setembro de 2013.

## 2. METODOLOGIA

As amostras de leite foram coletadas em supermercados e em padarias da cidade de Pelotas, RS, e conduzidas em sua própria embalagem, dentro de uma caixa isotérmica até o Laboratório de Bacteriologia, pertencente ao Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Instituto de Biologia, onde foram realizadas as análises microbiológicas. Os estabelecimentos e as marcas de leite foram escolhidos aleatoriamente. Foram analisadas 10 amostras de marcas diferentes, entre agosto e setembro de 2013.

Para isolamento e identificação de *E. coli*, foi utilizada a metodologia segundo (SILVA, N; JUNQUEIRA, A.C.V; SILVEIRA, A.F., 1997) onde a realização do teste presuntivo de coliformes, foi homogeneizado 25mL da amostra em 225mL de água peptonada, posteriormente foram feitas as diluições decimais e transferidos 1 mL de cada diluição para tubos contendo 10 mL de Caldo Lactosado com tubo de fermentação invertido. Esses tubos foram encubados em estufa a 37°C por 48 horas, após este período foi verificada a presença de bolha e turbidez e os tubos que apresentaram estas duas características foram registrados como presuntivamente positivos e transferidos uma alçada para tubos contendo 8 mL de caldo EC e tubo de Durham invertido e foram mantidos em banho-maria a 45°C por 48 horas. Após este período, verificou-se a presença de gás nos tubos, por fim, utilizando a tabela de NMP, calculou-se o NMP de coliformes termotolerante da amostra baseado na distribuição de tubos positivos no caldo EC.

Para o isolamento e confirmação de *Salmonella*, foi utilizada a metodologia segundo (SILVA, N; JUNQUEIRA, A.C.V; SILVEIRA, A.F., 1997) e estão descritos a seguir. Primeiramente foram homogeneizados 25 mL de leite pasteurizado tipo "C" com 225 mL de caldo lactosado, ajustou-se o pH e esta mistura foi encubada a 35°C/24h. Após a incubação foram transferidos 0,1 mL para 10 mL de Caldo Rappaport (RR) e 1 mL para Caldo Tetrionato (TT), no qual foi adicionado 0,2 mL de Solução de Iodo e 0,1 mL de verde malaquita, os tubos foram encubados a 37°C/24h e após este período foi semeado em placas de Agar XLD e HE, pela técnica de isolamento, e as placas incubadas a 37°C/24h. Após este período as placas foram examinadas e duas colônias suspeitas em XLD e em HE foram inoculadas em TSI, LIA e URÉIA, sendo incubados a 37°C/24h.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nestas dez amostras de leite pasteurizado analisadas até o momento, não houve confirmação de *Escherichia coli* ou *Salmonella* spp.

JÚNIOR *et al.* (2000), analisando duas marcas de leite tipo “C”, na cidade de João Pessoa, PB, encontraram índices de 34,4% e 6,3% fora dos padrões para coliformes fecais, enquanto que no nosso trabalho, das dez amostras analisadas até o momento, não houve confirmação de *Escherichia coli* ou *Salmonella* spp.

Porém, ZOCHE, F. *et al.* (2002) citam que microbiologicamente pode-se afirmar que o leite por eles analisado, apresentou resultados satisfatórios, o que pode estar relacionado ao alto percentual de superaquecimento durante o processo de pasteurização do leite, condizendo aos nossos resultados.

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos até o presente momento demonstraram que, das dez amostras realizadas, todas estão dentro dos padrões microbiológicos vigentes, estando então, aptos para o consumo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RESOLUÇÃO – RDC Nº 12, DE 02 DE JANEIRO DE 2001**. Brasília - DF, 2001.

BARUFFALDI, R. *et al.* Condições higiênico-sanitárias do leite tipo "B" vendido na cidade de São Paulo, SP (Brasil), no período de fevereiro a agosto de 1982. **Revista Saúde pública**, São Paulo, v. 18 n. 367 p. 74, 1984

BRASIL, Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal – R.I.I.S.P.O.A.** Aprovado pelo decreto n 30691 de 29 de março de 1952, alterado pelo Decreto 1255 de 25 de junho de 1962. Alterado pelo Decreto 2244 de 04/06/1997. Brasília-DF. 1997.

CÂMARA, S.A.V.; AMARAL, G.B.; MULLER, M.T. Avaliação microbiológica de queijos tipo minas frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. **Higiene Alimentar**, v.16, p.32-36, 2002.

CHERNAKI-LEFFER, M.; BIESDORF, M.; ALMEIDA, M.; LEFFER, B.; VIGNE, F. Isolamento de enterobactérias em *Alphitobius diaperinus* e na cama de aviários no oeste do estado do Paraná. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v.4, n.3, p.243-247, 2002.

FRAZIER, W. C.; WESTHOFF, P. C. Microbiologia de los alimentos. 4 ed., **Zaragoza: Editorial Acribia S.A.**, 1993. 229p.

HOLAND, R.E. Some infectious causes of diarrhea in young farm animals. **Clinical Microbiology Reviews** v.3, p.345-375, 1990.

JÚNIOR, A.F.S.L.; TORRANO, A.D.M.; GELLI, D.S. Qualidade Microbiológica do Leite tipo “C” Pasteurizado, Comercializado em João Pessoa, Paraíba. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.74, p.45-49, 2000.

MARTH, E.H. *Salmonellae* and salmonellosis associated with milk and milk products: a review. **Journal of Dairy Science**, v.52, n.3, p.283-315, Mar. 1969.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.; CARTER, M.E. DONNELLY, W.J. & LEONARD, F.C. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. **Artmed**, Porto Alegre, p.115-130, 2005.

SILVA, N; JUNQUEIRA, A.C.V; SILVEIRA, A.F. **Detecção da Salmonella**. In: SILVA, N; JUNQUEIRA, A.C.V; SILVEIRA, A.F. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Livraria Valera, 1997. n.5, p. 41-52.

SILVA, N; JUNQUEIRA, A.C.V; SILVEIRA, A.F. **Contagem de coliformes totais, coliformes fecais e Escherichia coli**. In: SILVA, N; JUNQUEIRA, A.C.V; SILVEIRA, A.F. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. São Paulo: Livraria Valera, 1997. n.4, p. 31-39.

TÉO, C. R.P.A., **Avaliação epidemiológica dos surtos de salmonelose ocorridos no paraná entre janeiro de 1999 e junho de 2001**. 2002. 101f. Dissertao (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

TORTORA, Gerard J., BERDELL, R. Funke, CHRISTINE, L. Case. **Microbiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 8 ed.

ZOCHE F.; BERSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C.; PARANHOS, J.K.; ROSA, S.T.M.; RAYMUNDO, N.K. Microbiological and physicalchemistry quality of pasteurized milks produced in the west region, Parana. **Archives of Veterinary Science** v.7, n.2, p.59-67, 2002.