

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**Avaliação da qualidade microbiológica do leite produzido em Parintins/AM**

Bolsista: Noédson de Jesus Beltrão Machado, CNPq

PARINTINS  
2011

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

**RELATÓRIO FINAL  
PIB - A - 0045/2010  
Avaliação da qualidade microbiológica do leite produzido em  
Parintins/AM.**

Bolsista: Noédson de Jesus Beltrão Machado  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Monyka Marianna Massolini Laureano Hoshiba

PARINTINS  
2011

## Resumo

Devido a sua composição, o leite torna-se um excelente meio de cultura para diversos microorganismos causadores de doenças entéricas e patologias graves. Em Parintins, parte do leite produzido é comercializado *in natura* e de forma artesanal, sem passar por qualquer tratamento térmico ou fiscalização quanto a sua qualidade. Devido a este fato e a ausência de informações sobre a microbiológica deste leite, o projeto teve por objetivo analisar microbiologicamente o leite produzido em Parintins/AM para detectar e quantificar possíveis contaminações. De um total de 26 amostras analisadas, apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes e totais 88,89% (NMP/mL) e 96,3% (NMP/mL), respectivamente. Em relação à contaminação por fungos, pouco mais da metade das amostras estava contaminada por fungos filamentosos (51,85%) e todas apresentavam contaminação por levedura. Em relação à contaminação por *Salmonella sp.* 7,41% das amostras apresentaram resultado positivo. De acordo com os resultados obtidos, todas as amostras de leite produzido e comercializado em Parintins apresentaram contaminação, principalmente por coliformes termotolerantes e totais, sendo a contaminação por fungos e *Salmonella* menos expressiva. Assim, a ingestão e comercialização desse produto *in natura* não são recomendadas.

**Palavras-chave:** Coliformes, Fungos, Leveduras, Salmonella.

### **Abstract**

Due to her composition, the milk becomes an excellent middle of culture for several microorganisms causes of diseases stomach and serious pathologies. In Parintins, it leaves of the produced milk in natura is marketed and in a craft way, without passing for any thermal treatment or fiscalization as for his/her quality. Due to this fact and the absence of information on the microbiologic of this milk, the project had for objective to analyze microbiologicamente the milk produced in Parintins/AM to detect and to quantify possible contaminations. Of a total of <sup>26</sup> analyzed samples, all presented contamination for coliformes termotolerantes and total, 88,89% (NMP/mL) e 96,3% (NMP/mL), respectively. Half of the samples was polluted for filamentous mushrooms (51,85%) and all presented contamination for yeasts. Two samples presented contamination for Salmonella sp. According to the results, all samples of milk produced and marketed in Parintins were contaminated, mainly by fecal coliform and total, and the Salmonella contamination by fungi and less significant. Thus, ingestion and marketing of fresh products are not recommended.

**Keywords:** Coliformes, Mushrooms, Yeasts, Salmonella.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vista do município de Parintins /AM.....	12
Figura 2 – Fluxograma da análise de detecção de coliformes.....	14
Figura 3 – Fluxograma da detecção de fungos e leveduras.....	14
Figura 4 - Fluxograma da detecção de <i>Salmonella sp.</i> .....	15

## SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO .....	07
2 – DESENVOLVIMENTO .....	09
2.1 - Fundamentação teórica .....	09
2.2 - Metodologia .....	12
3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
4 – CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES .....	21
5 – REFERÊNCIAS .....	22

## 1. Introdução

O leite é um alimento altamente nutritivo composto por proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas e sais minerais. Por apresentar estas características nutricionais, constitui em um excelente substrato para o desenvolvimento de uma grande diversidade de microorganismos, inclusive os patogênicos, podendo estar relacionado a surtos de doenças de origem alimentar (SILVA et al., 2008). Dessa forma, a qualidade do leite tem sido amplamente discutida dentro do cenário nacional de produção leiteira.

A atividade leiteira, independentemente do seu grau de tecnologia e especialização, deve objetivar a produção de um alimento com qualidade que não traga prejuízos à população. A cidade de Parintins está inserida em um cenário de produção leiteira que abriga pequenas propriedades que empregam baixa tecnologia na exploração dessa atividade e, além disso, comercializam esse produto de forma artesanal. Assim, o estudo da qualidade desse produto que é consumido na forma *in natura* (ou cru) se torna indispensável, uma vez que a contaminação do leite pode levar à disseminação de doenças entéricas, intoxicação alimentar e, em casos mais extremos, leptospirose, tuberculose, brucelose e infecções estreptocócicas.

A Instrução Normativa 51(18/12/2002) (BRASIL, 2002) estabelece as condições higiênico-sanitárias que devem ser seguidas para a correta obtenção do leite para, posteriormente, ser consumido e/ou processado, e estabelece os conteúdos mínimos e máximos de microorganismos que este produto pode conter. A obtenção higiênica do leite cru é essencial na manutenção da boa qualidade microbiológica e nutricional desse produto, e geralmente está associada, de forma mais específica, à higiene empregada no manejo de ordenha e desinfecção dos equipamentos e utensílios utilizados durante a ordenha, assim como, no armazenamento, resfriamento e transporte do leite (SOUZA et al., 1995). Algumas das fontes de contaminação relacionadas ao manejo de ordenha são: partículas de esterco,

terra e pêlos contendo microorganismos que podem entrar em contato com o leite, utilização de baldes sem alça para o armazenamento do leite durante a ordenha, pois ao utilizarem estes vasilhames os trabalhadores rurais o manejam pelos fundos que normalmente estão sujos, e ainda, a contaminação do leite pelo próprio trabalhador rural, uma vez que estes podem negligenciar o hábito básico de lavar as mãos, tornando-se o principal veículo de contaminação do produto (VIEIRA et al., 2004).

Dentre os principais grupos de microorganismos indicadores da qualidade do leite estão os coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella*, fungos filamentosos e leveduras. Quando presentes, esses microorganismos fornecem informações sobre as condições sanitárias da produção, do processamento, ou armazenamento, assim como a possível presença de patógenos e estimativa da vida de prateleira do produto (TAMANINI et al., 2007). A contaminação do leite por estes microrganismos indesejáveis pode causar alterações físico-químicas, prejudicando as propriedades organolépticas desse produto, o que limita sua durabilidade e de seus derivados, além de determinar problemas econômicos e de saúde pública.

A cidade de Parintins apresenta uma produção de leite significativa na região do Baixo Amazonas, de acordo com o Desenvolvimento Agropecuário do Estado do Amazonas (IDAM), sendo sua produção em torno de 5.600 litro/dia. A grande parte deste leite produzido é utilizado para fabricação de queijos e outra para comercialização *in natura*, realizada diretamente para a população, já que o município não apresenta cooperativas ou indústrias responsáveis pelo tratamento térmico e/ou processamento. Entretanto não existem trabalhos ou informações que disponibilizem dados sobre a microbiologia do leite comercializado e consumido, deixando uma incógnita na população quanto à qualidade desse produto.

Nesse contexto, verifica-se a importância da análise microbiológica do leite no município de Parintins, uma vez que a comercialização desse produto se dá na forma *in*

*natura*, ou seja, sem passar por qualquer tratamento térmico o que poderia minimizar a contaminação por microorganismos causadores de doença. Esses resultados servirão de base para estudos futuros que visem o emprego de estratégias para a redução da contaminação do leite, identificação mais detalhada de outros tipos de microorganismos presentes no leite, assim como fornecer subsídios para complementar diagnósticos sobre a situação da cadeia produtiva leiteira no município de Parintins.

Assim, o presente trabalho tem como objetivo avaliar as características microbiológicas do leite cru produzido em Parintins/AM e compará-las com os padrões estabelecidos pela legislação em vigor, visando à implantação de futuros programas de qualidade e segurança alimentar.

## **2. Desenvolvimento**

### **2.1. *Fundamentação teórica***

O universo dos microorganismos responsáveis pela contaminação dos alimentos é compreendido pelas bactérias, leveduras, fungos e vírus, e quando presentes, podem provocar significativas alterações nas propriedades organolépticas dos alimentos, prejudicando sua qualidade, como ocorre em contaminações do leite. (TRONCO, 2008).

A verificação e manutenção da qualidade do leite podem ser feitas por meio do controle microbiológico deste produto. Este procedimento é realizado em amostras de leite, principalmente, através da pesquisa de grupos de microorganismos indicadores, como os coliformes totais e termotolerantes, *Salmonella*, fungos filamentosos e leveduras.

O grupo dos coliformes totais pode ser representado pelos microorganismos pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. Dentre as bactérias desta família, aquelas pertencentes aos gêneros *Eschechia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Salmonella* e *Shigella* sp., merecem maior cuidado, e podem ser mensuradas facilmente.

O gênero *Escherichia* é composto de várias espécies (HIRSH & ZEE, 2003), entretanto a espécie de maior importância prática é a *Escherichia coli* (TRABULSI et al.,1999), também conhecidas como coliformes fecais ou termotolerantes pelo fato de comporem a flora normal do trato gastrointestinal. A presença desses microorganismos indica o nível de contaminação por fezes do alimento, e se ingeridas juntamente com o alimento contaminado, podem causar doenças septicêmicas (HIRSH & ZEE, 2003). As bactérias definidas como coliformes são do tipo bastonetes gram-negativas aeróbicos ou anaeróbicos facultativos, não formadores de endósporos, que têm a capacidade de fermentar lactose a temperaturas de 35-37 °C, produzindo gases no período de 48 horas (TORTORA et. al., 2005). Assim, por apresentarem sensibilidade à temperatura de pasteurização, a sua presença em produtos tratados termicamente indica contaminação após o processo. As bactérias que correspondem aos coliformes termotolerantes continuam fermentando a lactose quando incubados a 44° C. A presença desses coliformes também indica uma contaminação de origem fecal, assim como eventual ocorrência de enteropatógenos (FRANCO & LANGRAF, 1996). De modo geral, as enterobactérias além de serem importantes sob o ponto de vista higiênico, como já destacado, pelo fato de fermentarem açúcares e ácidos presentes no leite, alteram a qualidade nutricional do alimento interferindo no seu rendimento e tempo de prateleira quando processado (TRONCO, 2008).

A *Salmonella*, também está inserida na família *Enterobacteriaceae*, assim como os coliformes totais, entretanto sua presença é determinada em uma análise específica. A presença dessa bactéria além de indicar contaminação de origem fecal, relacionada, principalmente, à higiene do trabalhador rural que executa a ordenha, pode estar associada à ocorrência de mastite no rebanho. A ingestão do leite contaminado por este microorganismo pode causar infecções do sistema digestivo ou intoxicações alimentares, de maior ou menor intensidade, em virtude da patogenicidade apresentada pelas diferentes espécies de

*Salmonella*. A classificação deste gênero é baseada em características bioquímicas, que dividem o gênero *Salmonella* em duas espécies: *Salmonella entérica*, que é subdividida em seis subespécies, e *Salmonella bongori* (TRABULSI et. al. 1999).

O leite, assim como qualquer outro alimento também pode ser contaminado por fungos, sejam esses filamentosos ou leveduras. De acordo com Tronco (2008) o gênero mais expressivo de leveduras em leites é a *Candida*, onde as espécies *Kluveromyces fragilis* e *Kluveromyces lactis* são capazes de fermentar lactose com produção de álcool, particularidade utilizada na análise de presença deste microorganismo. Uma patogenicidade do gênero *Candida* são infecções na pele e nas membranas mucosas (TORTORA et. al, 2005). Em geral, as leveduras não ocasionam modificações significativas na composição do leite.

Os fungos cujos gêneros são mais expressivos no leite são: *Penicillium roquefortii*, *Penicillium casei*, *Penicillium camemberti*, *Penicillium caseicolum*, *Penicillium alburn*, *Geotrichum candidum* (TRONCO, 2008). Dentre todos os gêneros observa-se a predominância do *Penicillium*, onde sua importância está expressa em produtos derivados do leite, como queijos por exemplos, principalmente no âmbito industrial. Este fungo está presente no ar e no solo, e, geralmente, a sua presença no leite está associada às contaminações no armazenamento deste produto. As principais patologias fúngicas estão associadas a alergias pelo corpo. De acordo com MELVILLE et al. (2006), a presença de fungos filamentosos e leveduras no leite pode estar associada à ocorrência de casos de mastite no rebanho, ou pode estar relacionada ao nível de higiene da ordenha, do ambiente, ou ainda a problemas no processo de armazenamento do leite.

Em vista dos argumentos apresentados, observa-se que a presença e o tipo de microorganismo no leite é que determinam a qualidade deste produto, e a qualidade influencia as propriedades nutricionais deste alimento alterando os produtos lácteos processados. Além disso, a presença de microorganismos pode ser o principal causador de doenças na

população, principalmente quando este alimento é consumido na forma *in natura*, sem passar por qualquer tratamento térmico, como é o caso de Parintins. Assim, pesquisas que avaliam a qualidade microbiológica do leite permitem, além da quantificação dos microorganismos, a inferência de possíveis causas de contaminação com base nos resultados e observações feitas *in loco* nas propriedades, que podem ser utilizados com argumentos para a implementação de políticas de conscientização e adequação da produção do leite à legislação vigente.

## 2.2. Metodologia

As amostras de leite foram coletadas no período de outubro a dezembro, diretamente nas propriedades, pertencentes ao município de Parintins/AM, que trabalham com a produção de leite bovino.



Figura 1 - Vista do município de Parintins /AM.

**Fonte:** PRO VÁRZEA

Aproximadamente 100 mL de leite, foram coletados dos latões após o término da ordenha em recipientes autoclavados e, posteriormente, estas amostras foram armazenadas em caixas térmicas contendo gelo a fim de se manter a temperatura do leite em torno de 4° C. Em seguida, as amostras foram levadas ao Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Sociais, Educação e Zootecnia/ICSEZ para as análises de detecção de coliformes totais e fecais, fungos filamentosos e *Salmonella*.

Para determinação de coliformes totais e termotolerantes foi utilizada a técnica de fermentação em tubos múltiplos, com cálculo do número mais provável de unidades formadoras de colônia segundo o que preconiza a legislação em vigor (BRASIL, 2003).

Inicialmente foram aliqüotados 25 mL de leite da amostra refrigerada e adicionados 225 mL de solução salina peptonada (NaCl 0,9%, Peptona 1,0%). A partir desta suspensão, diluída na proporção 1:10, foram preparadas diluições seriadas nas proporções 1:100 (ou  $10^{-2}$ ) e 1:1000 (ou  $10^{-3}$ ).

Nos testes presuntivos, foram pipetados 1 mL da solução preparada de suas séries e inoculados em cada diluição seriada, contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose, que foram incubados a 36° C por um período de 24 a 48 horas.

Os testes positivos foram observados por meio da formação de gás nos tubos de *Durhan* ou efervescência quando agitado gentilmente.

Com o resultado positivo, seguiu-se para os testes confirmativos, no qual foi retirado 1mL de cada diluição seriada contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose e inoculados em diluição seriada contendo caldo EC (*Escherichia coli*). Esses tubos foram levados para estufa a 44° C por um período de 24 a 48 horas. Em seguida realizou-se o mesmo processo, porém inoculando em Caldo Bile Verde Brilhante 2% (CBVB), seguindo à incubação por 36° C pelo mesmo período de tempo (Figura 2)

Os testes foram considerados positivos quando houve formação de gás nos tubos de *Durhan* ou efervescência quando agitado gentilmente. A formação de gás nos tubos contendo caldo EC resultaram em testes positivos para coliformes termotolerante, e a formação de gás nos tubos contendo CBVB confirmaram a presença de para coliformes totais. A partir desses resultados a quantidade de tubos dados como positivos foram comparados com os valores preconizados pela IN 62 (26/08/2003), e quantificados o número mais provável de colônias por mL da amostra (NMP/ml).

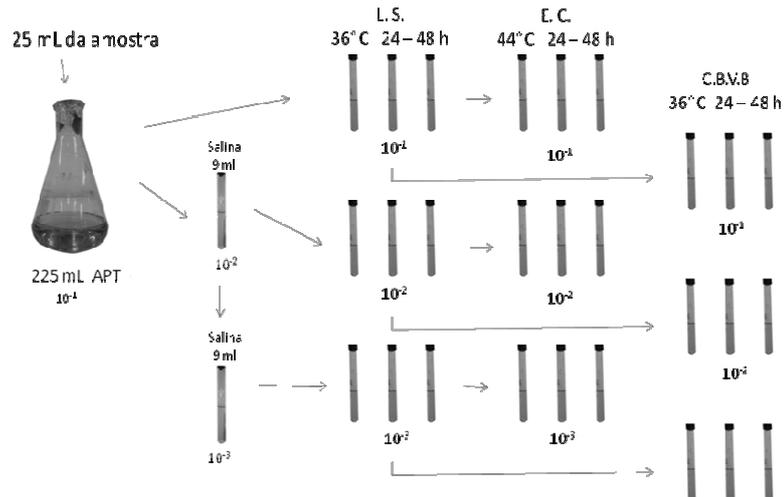


Figura 2 - Fluxograma da análise de detecção de Coliformes

Para a detecção de fungos filamentosos utilizou-se o meio seletivo Agar Batata Dextrose (BDA) com 2% de glicose, acidificado com ácido tartárico. Foram inoculados 100  $\mu\text{L}$  da diluição  $10^{-2}$  (1:100) por placa, espalhados com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a  $25 \pm 1$   $^{\circ}\text{C}$  por um período de 5 a 7 dias. A contagem de colônias foi efetuada segundo o que preconiza a legislação (BRASIL, 2003), sendo determinado o número de UFC/mL da amostra (Figura 3).

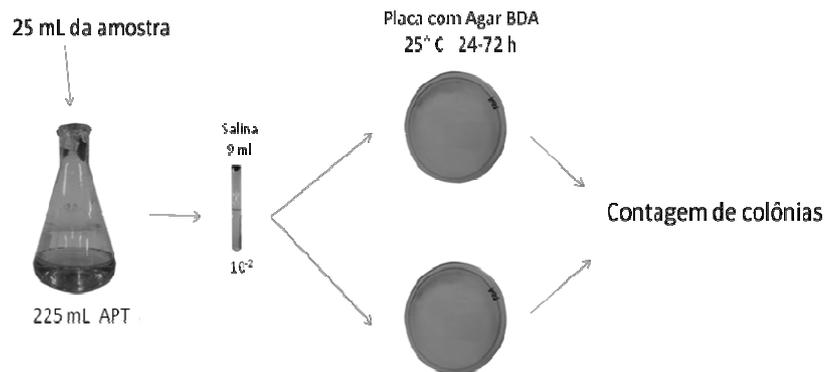


Figura 3 - Fluxograma da detecção de Fungos e Leveduras

Para detecção de *Salmonella sp* foi utilizada a metodologia descrita na Instrução Normativa 62 (26/08/2003). Primeiramente foi realizado um pré-enriquecimento onde foram

adicionados 25 mL da amostra de leite em 225 mL de água peptonada tamponada, a qual foi agitada por um minuto e deixada por uma hora em temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram incubadas a temperatura de 36 °C por 16 a 20 horas. Posteriormente, realizou-se um enriquecimento com 1,0 mL dessa suspensão inoculada em tubos contendo 9,0 mL dos meios seletivos Caldo Selenito-Cistina (SC) e Caldo Rappaport- Vassiliadis (RV). Os tubos foram incubados por 24 a 30 horas em temperaturas de 41 °C. Uma alíquota de 100 µL de caldo (SC) e 1mL de caldo (RV) foi semeada em placas contendo Agar Xilose-Lisina Desoxicolato e Agar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose, em placas distintas, e incubados à 37 °C por 24 horas. A formação de colônias típicas de *Salmonella sp.* foi avaliada a cada 24 horas.

As colônias típicas foram semeadas em meios confirmativos, onde retirou-se essas colônias inoculando-as em meios confirmativos ágar lisina ferro (LIA) ágar três açúcares ferro (TSI) ágar SIM e ágar uréia seguindo incubação a 36 °C por um período de 24 horas. As mudanças de cor confirmaram o teste como positivos. Uma última etapa realizada foi a confirmação em teste sorológico (Figura 4).

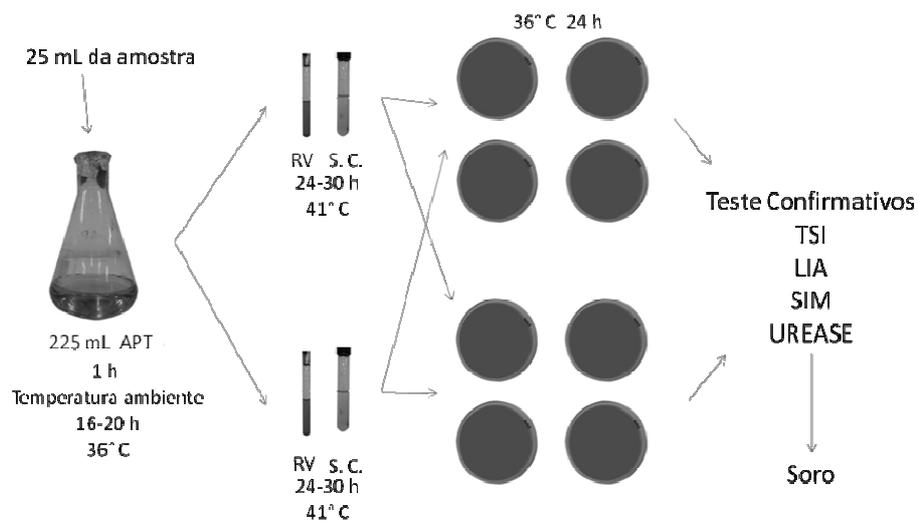


Figura 4 - Fluxograma da detecção de *Salmonella sp.*

### 3. Resultados e Discussões

Foram analisados um total de 26 amostras oriundas de diferentes propriedades, nas quais foram realizados os testes de detecção de coliformes fecais, coliformes totais, fungos filamentosos e *Salmonella*.

Os resultados encontrados das análises de coliformes termotolerantes e totais, fungos e *Salmonella* estão descritos na Tabela 1.

<b>Amostras</b>	<b>Coliforme termotolerante (%)</b>	<b>Coliforme Total (%)</b>	<b>Fungos filamentosos (%)</b>	<b>Fungos leveduróide (%)</b>	<b>Salmonela (%)</b>
Contaminadas	88,89	96,3	51,85	100	7,41
Ausência de contaminação	11,11	3,7	48,15	0	92,59

Tabela 1 – Resultados de coliformes, fungos e salmonela encontrados nas amostras de leite.

Fonte - O autor

Observa-se a presença de contaminação por coliformes termotolerantes e totais em todas as amostras analisadas. As amostras contaminadas apresentaram porcentagem de NMP/ml igual a 88,89, com mínimo de 23,0 NMP/ml e máximo acima de 1100 NMP/ml para coliformes termotolerantes, e média de 96,3% com mínimo de 9,20 NMP/ml e máximo acima de 1100 NMP/ml para coliformes totais. De acordo com MACIEL (2008), a contagem de coliformes acima de 103 NMP/ml indica deficiência de higiene no processo de obtenção do leite. Em contra partida as amostras não contaminadas apresentaram porcentagem de 11,11 e 3,7 NMP/mL, respectivamente, para coliformes termotolerantes e totais.

A IN 51 (18/12/2002) versa somente sobre a microbiologia do leite cru tipo “C” refrigerado, ou seja, não há uma normatização sobre a quantidade permitida de microorganismos no leite cru, uma vez que o mesmo é proibido para ser comercializado. Mesmo não existindo uma legislação específica para a microbiologia do leite comercializado na forma *in natura*, se compararmos os valores obtidos com aqueles preconizados pela IN

51, sobre o leite refrigerado, observa-se superioridade do número de microorganismos presentes por mL da amostra no leite cru, denotando maior contaminação deste produto. Este fato pode estar relacionado a refrigeração do produto, que impede que alguns microorganismos se proliferem, sendo esta uma prática interessante do ponto de vista de qualidade.

Quantidade elevada de coliformes termotolerantes também foram encontradas por POLEGATO E RUDGE (2003) na região de Marília em São Paulo, onde a contaminação por esses microorganismos foi de 93%. Já SILVA et. al. (2008), em Alagoas, encontraram valores de 52,3% e 55,7% de amostras contaminadas, respectivamente, para coliformes termotolerantes e totais. A contaminação do leite por coliformes totais também foi observada em outros trabalhos (MESQUITA et. al., 1988; GONZALEZ et. al., 2004),

A presença de coliformes termotolerantes representam uma preocupação de saúde quanto à doenças entéricas. Mesmo que a *E. coli* normalmente seja inofensiva (TORTORA, 2005), existem outros gêneros patogênicos que causam distúrbios no trato gastrointestinal, onde os mesmos residem (HIRSH & ZEE, 2003). A preocupação quanto à saúde é em virtude da presença destas bactérias serem um indicativo da qualidade sanitária, pois são estritamente fecais, assim pode-se dizer que o leite foi contaminado pela presença de fezes no ambiente ao qual se realizou a ordenha. Quanto aos coliformes totais, sua contaminação também pode estar associada a doenças entéricas, entretanto, dentre os grupos de coliformes totais, a maior preocupação estar em torno do gênero *Klebsiella*, pois os mesmos provocam a *Klebsiella pneumoniae* (TRABULSI, 1999).

A contaminação do leite analisado pode ter ocorrido de diversas maneiras, principalmente pelos fatores externos ou ambientais, que estão relacionados à higiene na ordenha. Todas as propriedades realizam a ordenha de forma manual e falhas nos procedimentos de higiene e limpeza, tanto do úbere do animal, quanto dos equipamentos,

foram observados, sendo prováveis fontes de contaminação. Além disso, pode se observar que, em geral, as propriedades que produzem leite não apresentam as condições mínimas para a realização desta atividade. Resultados semelhantes foram encontrados por Guerreiro et. al. (2005), sendo que estes autores identificaram problemas semelhantes como os possíveis causadores da contaminação de leite avaliado por eles.

Na maioria das propriedades em que foram coletadas as amostras, não há salas de ordenha, ou seja, os animais são ordenhados diretamente no curral onde ficam em contato direto com fezes e urina, pois estes não são cimentados, e a limpeza do terreno é difícil. Outros fatores que podem estar relacionados com a alta contaminação do leite analisado são a ausência da lavagem dos tetos e das mãos do ordenhador com água clorada antes da realização da ordenha, ou pelo menos água potável; falta de filtros nos recipientes de armazenamento do leite, que são substituídos por panos que impermeiam as partículas mais grosseiras de sujeira, mais não os microorganismos, o que pode acarretar em aumento de contaminação, já que não se sabe se há higienização deste pano antes da coleta do leite. Além disso, em algumas propriedades foi observado que os latões de armazenamento do leite ficavam sobre as cercas do curral e embaixo de árvores.

Em três amostras de leite analisadas foram encontrados números de coliformes termotolerantes acima de 1100 NMP/mL, e em duas amostras números acima de 1100 NMP/mL para coliformes totais. Nessas propriedades foram observados todos os quesitos descritos acima quanto à higienização na ordenha, além de ter sido observado que o leite era transportado em garrafões de água sem higienização até chegar ao atravessador, onde este era repassado para vasilhames apropriados.

Por outro lado, o número mínimo de microorganismo foi encontrado em uma propriedade onde a preocupação com a higiene já é mais eminente, pois há sala de ordenha, pisos cimentados que são diariamente lavados, os utensílios específicos para esta atividade

são devidamente higienizados, e os filtros são utilizados antes do leite ser armazenado. Os pontos negativos observados nessas propriedades são em relação à higiene do ordenhador. De modo geral, apenas cinco propriedades apresentam esta estrutura, o que promove a estes produtores a produção de um leite de melhor qualidade.

Cabe ressaltar, que a maioria das propriedades produz leite temporariamente, apenas no período da seca dos rios, época em que os produtores transportam seus animais até as margens do rio, próximo ao município de Parintins, o que pode explicar o motivo pelo qual os mesmos não investem em estruturas adequadas a essa produção. Entretanto, esse fato não os isenta de ter os cuidados mínimos de higiene na ordenha, já que a obtenção higiênica do leite, e, posteriormente, eficiente manipulação, resfriamento e transporte, são fatores essenciais na manutenção da boa qualidade microbiológica e nutricional do leite cru (SOUZA et. al., 1995).

A presença e quantificação de fungos filamentosos e leveduras, também podem ser observados na Tabela 1.

Do total, 100% das amostras estavam contaminadas por fungos leveduróide e 51,85% por fungos filamentosos. A presença de fungo, mesmo que mínima, é mais freqüente, pois a contaminação por fungo é muito mais abrangente que por bactérias, ou seja, o simples fato de o leite ficar ao ar livre por alguns segundos já permite que o mesmo seja contaminado, devido a estes microorganismos serem facilmente propagados pelo ar (TRABULSI et. al. 1999). O fato da maioria das propriedades não utilizar os filtros na abertura dos latões, como já mencionado, facilita a ocorrência de contaminação do leite pelos fungos, ou mesmo a utilização de baldes semi-abertos, o que foi observado sua utilização em uma propriedade.

Os fungos leveduróides apresentavam formas esféricas e volumosas. De acordo com TRONCO (2008), a presença do gênero *Candida*, é muito freqüente no leite e, em geral, não provocam alterações significativas no leite, excepcionalmente podem torná-lo espumante. Não se pode afirmar que as leveduras predominantes encontradas nas amostras de leite

avaliadas são pertencentes ao gênero *Candida*, apesar de suas características morfológicas serem bastante semelhantes. A presença de leveduras também indica condições higiênico-sanitárias deficientes na produção do leite (TEBALDI et. al. 2007).

Algumas amostras analisadas não apresentaram contaminação por fungos filamentosos. Esse fato foi observado nas propriedades que se possuíam melhor preparo para a realização da ordenha e o emprego da higienização dos animais e equipamentos, como descrito anteriormente, o que pode explicar a ausência destes fungos.

A contaminação fúngica no leite seja ela filamentosa ou leveduróide, é muito fácil de acontecer, já que o ambiente de ordenha da maioria das propriedades visitadas é inadequado. Entretanto, pelo fato dos fungos serem sensíveis a variações de temperatura e ao processo de pasteurização, o leite contaminado que passa por algum processo com alteração de temperatura, pode se tornar adequado ao consumo (TRONCO, 2008), com exceção daqueles contaminados por esporos.

A contaminação por *Salmonella* foi identificada em duas amostras, e correspondeu a 7,41% do total das amostras analisadas, podendo ser considerada de baixa incidência. A cultura proveniente de uma terceira amostra, mostrou-se com características químicas semelhantes à de *Salmonella sp.*, entretanto não se confirmou nos testes confirmativos, como descrito por ÁVILA & GALLO (1996), e a presença de *Salmonella* foi descartada nos testes sorológicos. Semelhante aos resultados obtidos por fungos, não se pode identificar qual espécie de *Salmonella* foi encontrada, uma vez que este gênero é dividido em duas espécies e possui ainda uma diversidade de sorotipos.

A contaminação por *Salmonella* em duas amostras é bastante preocupante, pois está associado a casos de toxinfecção alimentar (PADILHA et. al., 2001) e ocupam uma das posições mais destacadas no campo da saúde pública em todo o mundo (HOFER et. al., 1998). Sua presença no leite ou nos produtos lácteos indica contaminação de origem fecal,

muito também relacionado à higiene do ordenhador, e pode ser um indicativo de mastite no rebanho.

Todas as *Salmonellas* são consideradas patogênicas em algum grau (TORTORA et. al., 2005) estando essas associadas a problemas entéricos, podendo ocasionar diarréias e distúrbios alimentares gerais, levando o hospedeiro a debilitar-se clinicamente. As doenças podem ser conhecidas como salmoneloses ou gastroenterite. A patogeneidade da *Salmonella* varia de acordo com o tipo sorológico, idade e condição de saúde do hospedeiro (TRABULSI, et. al. 1999). Dentre as espécies de *Salmonella*, uma em particular apresenta um grau maior de patogenicidade ou virulência, acarretando problemas fisiológicos e sintomáticos mais sérios, que é a *Salmonella typhi*, causadora da febre tifóide, doença que leva o paciente apresentar quadros de febre alta, diarréia e cefaléia, e em casos mais severos levar a morte por ulcerações.

Felizmente, por estas bactérias não serem formadores de esporos e serem mesófilas, quando aquecido o leite estes microorganismo morrem e deixam de expressar sua virulência, semelhantemente ao que ocorre com cozimento de carnes e ovos de aves acometidos por esse microorganismo.

#### **4. Conclusões e Recomendações**

Conforme os resultados obtidos nas análises, todas as amostras de leite produzido e comercializado em Parintins apresentaram contaminação, principalmente por coliformes termotolerantes e totais, sendo a contaminação por fungos e *Salmonella* menos expressiva. Assim, a ingestão e comercialização desse produto *in natura* não são recomendadas.

É necessário o apoio de órgãos públicos para atuar na fiscalização da produção do leite em Parintins e, principalmente, no incentivo e conscientização dos trabalhadores desse

setor a produzir leite de melhor qualidade, o que garante a permanência de suas propriedades físico-químicas e microbiológicas que são adequadas ao consumo.

## 5. Referências

ALMEIDA, A. C. **Características Físico-Químicas e Microbiológica do Leite cru consumido na Cidade de Alfenas. MG.** R. Un. Alfenas, Alfenas,5:165-168, 1999.

ANDRADE, K. F. G. et. al. **Análise de Coliformes Totais e Termotolerantes em Leites do tipo “C” do Programa Leite de Pernambuco.**

ÁVILA, C.R.; GALLO, C.R.. **pesquisa de salmonella spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo c e queijo "minas frescal" comercializados no município de piracicaba – SP.** Sci. agric. vol. 53 n. 1 Piracicaba Jan./Apr. 1996

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 pasteurizado tipo C refrigerado. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 de setembro de 2002. Seção 1.

BRASIL. Ministério Da Agricultura, Pecuária E Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária (DISPOA). Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de agosto de 2003. Seção 1

CATÃO, R. M. R.; CEBALLOS, B. S. O. **Listeria Spp. Coliformes Totais E Fecais E E.Coli No Leite Cru E Pasteurizado De Uma Indústria De Laticínios, No Estado Da Paraíba (Brasil).** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 21(3): 281-287, set.-dez. 2001

GONZALEZ, H. L.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M. E. R.; GOMES J. F.; JR, W. S.; SILVA, M. A. **Avaliação da Qualidade do Leite na Bacia Leiteira de Pelotas, RS. Efeito dos Meses do Ano.** R. Bras. Zootec., v.33, n.6, p.1531-1543, 2004

GUERREIRO, P. K.; MACHADO, M. R. F., BRAGA, G. C., GASPARINO E.; FRANZENER, A. S. M. **Qualidade Microbiológica De Leite Em Função De Técnicas Profiláticas No Manejo De Produção.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 29, n. 1, p. 216-222, jan./fev. 2005

HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. **Microbiologia Veterinária.** – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003

HOFER, Ernesto.; FILHO, S. J. S.; MOURA E. REIS, F. Sorovares de Salmonella isolados de matérias-primas e de ração para aves no Brasil. *Pesq. Vet. Bras.* 18(1):21-27, jan./mar. 1998

JAY, M. J. **Microbiologia de alimentos.** 6. Ed. – Porto Alegre: Artmed, 2005.

KREY, T.; SOUZA, C. F. V. de. **Avaliação Da Qualidade Microbiológica E Físico-Química Do Leite Em Pó Integral Produzido Numa Indústria Da Região Do Vale Do Taquari – RS.** Interbio v.3 n.2 2009

MACIEL, J. F.; CARVALHO, E. A; SANTOS, L. S.; ARAÚJO, J. B. de; NUNES, V. S. **Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA.** Rev. Bras. Saúde Prod. An., v.9, n.3, p. 443-448, jul/set, 2008

MELVILLE, P. A.; RUZ-PERES, M.; YOKOIA, E.; BENITES, N. R. Ocorrência de fungos em leite cru proveniente de tanques de refrigeração e latões de propriedades leiteiras, bem como de leite comercializado diretamente ao consumidor. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 3, p. 295-301, 2006.

MESQUITA, A. J.; COSTA, F. M. A.; FILHO, S. R. P.; ROCHA, J. M. **Qualidade microbiológica do leite cru obtidos de latões na fonte de produção na grande região de Goiânia-goiás.** Anais Esc. Agron., e Vet. 18 (1): 21-28, jan/dez, 1988

MICHAEL, G.B.; SIMONETI, R.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Comparison of different selective enrichment steps to isolate *Salmonella sp.* from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 34, n. 2, p. 138 – 142, 2003.

MORAES, C. R. et. al. **Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Acta Scientiae Veterinariae. 33(3): 259-264, 2005.

MÜLLER, E. E..**Qualidade Do Leite, Células Somáticas E Prevenção Da Mastite.** Anais do II Sul- Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil / editores Geraldo Tadeu dos Santos et al. – Maringá : UEM/CCA/DZO – NUPEL, 2002. 212P. Toledo – PR, 29 e 30/08/2002. Artigo encontra-se nas páginas 206-217.

NERO, L. A.; . MATTOS, M. R.; BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; PINTO J. P. A. N.; ANDRADE N. J.; SILVA, W. P.; FRANCO, B. D. G. M. **Leite Cru De Quatro Regiões Leiteiras Brasileiras: Perspectivas De Atendimento Dos Requisitos Microbiológicos Estabelecidos Pela Instrução Normativa 51.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(1): 191-195, jan.-mar. 2005

OLIVEIRA, A. S. et. al. **Consumo, Digestibilidade Aparente, Produção e Composição do Leite em Vacas Alimentadas com Quatro Níveis de Compostos Nitrogenados Não-Protéicos.** Rev. bras. zootec., 30(4):1358-1366, 2001

PADILHA, M. R. F.; FERNANDES, Z. F.; LEAL, T. C. A.; LEAL, N. C.; ALMEIDA, A. M. P. **Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 34(2): 167-171, mar-abr, 2001.

PICOLI, S. U.; BESSA, M. C.; CASTAGNA, S. M. F.; GOTTARDI, C. P. T.; SCHMIDT, V., CARDOSO M. **Quantificação de coliformes, *Staphylococcus aureus* e mesófilos**

**presentes em diferentes etapas da produção de queijo fresco de leite de cabra em laticínios.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(1): 64-69, jan.-mar. 2006

PINTO, C. L. de Oliveira; MARTINS, M. L.; VANETTI, M. C. D. **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE LEITE CRU REFRIGERADO E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS PSICROTÓFICAS PROTEOLÍTICAS.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(3): 645-651, jul.-set. 2006.

POLEGATO, E. P. S.; RUDGE, A. C. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília – São Paulo/Brasil. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n. 110, p. 56-63, 2003.

SILVA, M. C. D.; SILVA, J. V. L.; RAMOS, A. C. S.; MELO, R. O.; OLIVEIRA, J. O. Caracterização microbiológica e físico-química de leite pasteurizado destinado ao programa do leite no Estado de Alagoas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 1, p. 226-230, 2008.

SOUZA, M. R.; RODRIGUES, R.; FONSECA, L. M.; CERQUEIRA, M. M. O. P. **Pasteurização do leite.** Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n. 13, p.85-93, 1995

TAMANINI, R.; SILVA, L. C. C.; MONTEIRO, A. A.; MAGNANI, D. F.; BARROS, M. A. F.; BELOTI, V. Avaliação da qualidade microbiológica e dos parâmetros enzimáticos da pasteurização de leite tipo “C” produzido na região norte do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, p. 449-454, 2007.

TEBALDI, V. M. R., RESENDE, J. G. O. S.; RAMALHO, G. C. Á.; OLIVEIRA, T. L. C.; ABREU, L. R., PICCOLI, R. H. **Avaliação Microbiológica de Bebidas Lácteas Fermentadas Adquiridas no comércio varejista do Sul de Minas Gerais.** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 31, n. 4, p. 1085-1088, jul./ago., 2007

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** – 8 ed. – Porto Alegre: Editora Atheneu, 2005.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F.; GOMPertz, O. F.; CANDEIAS, J. A. N. **Microbiologia.** – 3. ed. – São Paulo: Editora Atheneu, 1999

TRONCO, V. M. **Manual para Inspeção da Qualidade do Leite.** 3. ed. – Santa Maria: Ed. Da UFSM, 2008

ZACARCHENCO, P. B.; LEITÃO, M. F. de F.; DESTRO M. T.; ANDRIGHETO C. **Ocorrência de *Bacillus sporothermodurans* em leite UAT/ UHT Brasileiro e a influência do tratamento térmico.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.20 no.3 Campinas Sept./Dec. 2000

ZOCHE, F.; BERSOT, L.S.; BARCELLOS, V.C; PARANHOS, J.K.; ROSA, S.T.M; RAYMUNDO, N.K. **QUALIDADE MICROBIOLÓGICA E FÍSICO-QUÍMICA DO LEITE PASTEURIZADO RODUZIDO NA REGIÃO OESTE DO PARANÁ.** *Archives of Veterinary Science* v.7, n.2, p.59-67, 2002 Printed in Brazil