

CONTAGEM DE *Escherichia coli* EM LEITE PASTEURIZADO

ANTÔNIO CARLOS ROLDÃO NETO¹
LARYSSA FREITAS RIBEIRO²

RESUMO

O leite é alimento presente na alimentação humana e é crucial na dieta nutricional, logo, como todo produto que é destinado a consumação humana, enfrenta desafios para manter controles de qualidade, principalmente aos relacionados a contaminação de *E. coli*, o que torna imprescindível o processo de pasteurização para garantir a segurança alimentar. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a contagem de *E. coli* em leites pasteurizados provenientes da região de Monte Carmelo. O estudo envolveu a análise de quatro amostras adquiridas em supermercados da cidade, enquanto que o preparo das amostras envolveu o método recomendado pela literatura, a contagem foi realizada pela técnica padrão. Os resultados obtidos foram comparados com o critério de qualidade normalizado pela legislação de máxima concentração permitida de bactérias da pertencente à família *Enterobacteriaceae*. Três das quatro amostras excederam os limites legais, indicando possível contaminação fecal e riscos à saúde pública, conseqüentemente, apenas uma das amostras apresentou resultado dentro do padrão aceitável. Com tudo isso, conclui-se que, de acordo com o observado, os resultados apontam necessidade da revisão da legislação para estabelecimento das diretrizes específicas para a determinação da qualidade de *E. coli* de forma a estabelecer diretrizes microbiológicas específicas, além do mais, ressalta-se a importância do aperfeiçoamento das práticas de higiene ao longo da cadeia de produção de leite pasteurizado.

Palavras-chave: Qualidade de leite; Microrganismos; Saúde pública.

ABSTRACT

Milk is a food present in human food and it's crucial in the nutritional diet, so as any product that is intended for human consumption, faces challenges to maintain quality controls, especially those related to *E. coli* contamination, which makes it essential to pasteurization process to ensure food security. Therefore, the present work aimed to count *E. coli* in pasteurized milk from the Monte Carmelo region. The study involved the analysis of four samples acquired in supermarkets in the city, while the preparation of the samples involved the method recommended by the literature, the count was performed by the standard technique. The results obtained were compared with the quality criterion normalized by the maximum concentration legislation of bacteria of the *Enterobacteriaceae* family. Three of the four samples exceeded the legal limits, indicating possible fecal contamination and public health risks, consequently, only one of the samples showed the result within the acceptable standard. With all this, it is concluded that, according to the observed, the results point to the need for the revision of the legislation to establish the specific guidelines for determining the quality of *E. coli* in order to establish specific microbiological guidelines, besides, it

¹ Graduando do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Mário Palmério - UNIFUCAMP/Monte Carmelo-MG

² Professora orientadora, graduada em Medicina Veterinária, mestre e doutora em Medicina Veterinária (Universidade Estadual Paulista - UNESP/Jaboticabal-SP). Professora de Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério - UNIFUCAMP/Monte Carmelo-MG) (laryssaribeiro84@gmail.com)

CONTAGEM DE *Escherichia coli* EM LEITE PASTEURIZADO

emphasizes the importance of improving hygiene practices along the pasteurized milk production chain.

Keywords: Milk Quality; Microorganisms; Public health.

INTRODUÇÃO

Do ponto de vista nutricional, o leite é um dos alimentos mais importantes da alimentação humana. Ele foi introduzido desde o início da vida do ser humano e sua importância é dada em função da composição nutricional que ele apresenta, principalmente o bovino, que é rico em proteínas importantes para a dieta, além de ajudar no bom funcionamento da microbiota intestinal (DERBIS, 2011).

Segundo a Embrapa Gado de Leite (2023), o Brasil está entre os maiores produtores de leite no mundo, ocupando o terceiro lugar e com produção anual de 23,81 bilhões de litros e, desse montante, 924 litros são setorizados para pasteurização. Devido à alta demanda do mercado nacional e internacional, a fim de garantir a qualidade microbiológica de leites industrializados, no ano de 1952, a organização da produção leiteira decretou o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (Riispoa), o qual tornava o processo de pasteurização do leite obrigatório (CORDEIRO, 2018).

Atualmente, a inspeção do leite como produto final está correlacionada às condições nas quais o leite é obtido ainda na fazenda de produção, o que, em muitos casos, apresenta situações sanitárias deficientes e com alto valor de microrganismos. Assim, o processo de pasteurização, que é dado por superaquecimento do leite e, em sequência, o resfriamento à temperatura extrema, ao final, garante que microrganismos indesejados sejam eliminados do produto (REIS, 2013).

Em suma, esse tratamento é necessário a fim de evitar o contágio de agentes de zoonoses, assim como é o caso da presença da *Escherichia coli* (*E. coli*), que está incluída entre os principais microrganismos transmitidos por leites processados por erros no processo citado e causador de zoonose (GUIMARÃES, 2009). Em razão disso, o Ministério da Saúde reconhece a *E. coli* como um risco para a saúde pública e está em constante estudo para estabelecimento de fatores de fiscalização na inspeção de alimentos (GONÇAVES, 2002).

Isso porque, a presença de *E. coli* nos alimentos em quantidades elevadas é utilizada para indicar a possibilidade de contaminação fecal e a presença de outras bactérias enteropatogênicas. Entretanto, alguns grupos de *E. coli* são patogênicos e podem ser transmitidos por alimentos. Assim, mesmo em quantidades reduzidas, podem tornar-se significativas, em especial, quando as condições do meio no qual se encontram permitem sua multiplicação (FRANCO; LANDGRAF, 2002), como acontece com o leite e seus derivados.

Diante desse cenário, este trabalho tem como objetivo realizar a contagem de *E. coli* em leites pasteurizados provenientes da região de Monte Carmelo, Minas Gerais.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A *Escherichia coli* é uma bactéria gram-negativa pertencente à família Enterobacteriaceae, anaeróbica facultativa que faz parte da microbiota intestinal de humanos e animais (Mittelstaedt, 2006). A maioria das cepas de *E. coli* são inofensivas ou até benéficas, mas algumas podem causar doenças em humanos, como a *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) sorotipo O157:H7. Esta cepa, por exemplo, é um importante patógeno associado a doenças de origem alimentar e pode causar colite hemorrágica e síndrome hemolítico-urêmica, que são doenças graves e muitas vezes fatais. EHEC O157:H7 é altamente resistente a ambientes ácidos e pode se multiplicar em alimentos como derivados de leite. Vale ressaltar que

principal reservatório natural é o trato gastrointestinal dos bovinos, ou seja, é encontrado nas fezes. A contaminação de alimentos por *E. coli* pode ocorrer durante o cultivo, coleta, processamento e distribuição de alimentos, especialmente na presença de contaminação fecal.

Segundo Da Mata (2012) e Luz (2011), a contaminação microbiana do leite é um problema significativo relacionado ao manuseio inadequado de matérias-primas, incluindo má desinfecção das superfícies do úbere e dos tetos dos animais, limpeza inadequada de resíduos de leite em utensílios e equipamentos, e etapas de transporte, processamento industrial e comercialização. Isto não só representa um risco para a saúde pública, particularmente devido à presença de bactérias patogênicas no leite cru, mas também pode levar à contaminação cruzada de produtos lácteos processados, comprometendo assim a qualidade microbiológica do leite. Abordar estas questões é fundamental para garantir a segurança alimentar.

Em comum aos autores citados, inquire-se que a presença de bactérias patogênicas, como é o caso da *E. coli* em leite cru, representa um risco significativo para a saúde pública, e contando a cadeia produtiva, é passível de intoxicação e contaminação humana a depender da cepa e vir a causar doenças como gastroenterite, síndrome hemolítica urêmica (SHU), infecções em feridas, infecções respiratórias e em casos menos comuns, meningite em recém-nascido. Além do mais, aponta-se o risco de contaminação cruzada de laticínio, o que requer atenção especial pois afeta a segurança de uma ampla gama de produtos, logo, deve-se manter protocolos estritos de limpeza e sanitização desde o estágio de ordenha, a limpeza de equipamentos, utensílios e tanques para prevenção da disseminação.

Nos estudos de Morais (2000), Reis (2013) e Cordeiro (2018) é salientado que a pasteurização do leite é um processo tecnológico essencial que garante a segurança e a qualidade do produto final e traz inúmeros benefícios à saúde pública. Assim, este é um importante processo térmico, o qual envolve aquecer o leite a uma temperatura elevada (normalmente entre 72°C e 75°C) durante um curto período de tempo (15 a 30 segundos) e depois arrefecê-lo rapidamente para destruir e reduzir microrganismos, sem afetar suas propriedades nutricionais. Embora seja eficaz na redução da carga microbiana, alguns microrganismos (como certas cepas de *E. coli*) podem resistir ao processo devido às suas propriedades termotolerantes. A eficácia da pasteurização depende de muitos fatores e requer medidas de controlo rigorosas em todas as fases da produção de leite para garantir a sua segurança microbiológica. No entanto, alguns defeitos de processamento também podem levar à presença de microrganismos patogênicos no leite pasteurizado. Estas descobertas destacam a importância da pasteurização industrial e da fervura caseira para garantir a qualidade e segurança do leite e proteger a saúde do consumidor.

Entretanto, o processo pode apresentar falhas no processamento, o que inquire a necessidade da análise microbiológica e se torna igualmente importante para garantir que o processo foi realizado corretamente e que o leite é seguro para consumo. A análise envolve enumeração e identificação de microrganismos presentes no leite pasteurizado, bem como detecção de possíveis contaminações cruzadas ou falhas de processo, nestes casos, a mais utilizada para assegurar a eficácia é a contagem de *E. coli*.

Com tudo isso, Braun (2015) destaca que, apesar de a avaliação microbiológica em leites que passam pelo processo de pasteurização permitam averiguação do grau de contaminação por *E. coli*, pela legislação, não há um valor limite padronizado para esta avaliação determinada por lei, contudo, apenas das bactérias pertencente à família Enterobacteriaceae como um todo, o uso desta bactéria pode ser utilizado como indicadora de contaminação por coliformes provenientes de animais por ser o único membro do grupo dos coliformes de origem exclusivamente fecal.

Analisando a afirmativa do autor, encontra-se uma problemática envolvendo a falta do valor limite de concentração mínima desta bactéria em leite pasteurizado, pois isto pode gerar incerteza tanto para aqueles que o produzem, quando para o consumidor final, pois,

CONTAGEM DE *Escherichia coli* EM LEITE PASTEURIZADO

legalmente não há padrão para validação de segurança. Porém, embora a *E. coli* possa ser usada como indicadora de contaminação por coliformes fecais, essa abordagem tem suas limitações e pode não ser suficiente para garantia de segurança alimentar, isto posto, reafirma-se a importância da atualização legislativa para tal.

Sendo assim, este trabalho tem como objetivo realizar a contagem de *E. coli* em leites pasteurizados provenientes da região de Monte Carmelo, Minas Gerais.

MATERIAS E MÉTODOS

O estudo foi realizado com quatro amostras de leite pasteurizado. As amostras foram adquiridas em supermercados da cidade de Monte Carmelo, Minas Gerais.

Imediatamente após a compra, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo blocos de gelo e encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), onde foram submetidas às análises.

Preparo das diluições das amostras (APHA, 2001):

De cada leite, asépticamente, 25 mL foram colocados em frascos contendo 225 mL de água peptonada a 0,1%, esterilizada. A mistura foi homogeneizada, obtendo-se a diluição inicial de 10^{-1} . Após esse processo, foram realizadas diluições decimais até 10^{-3} utilizando-se o mesmo diluente.

Contagem de *Escherichia coli*:

Foram depositados 0,1 mL de cada diluição, em placas de ágar Mac Conkey, em duplicata. Após a homogeneização, as placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas para a contagem de colônias características de *Escherichia coli*. As contagens foram realizadas no contador de colônia segundo a técnica padrão, dando preferência as placas com 25 a 250 colônias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme mencionado, não há um valor limite padronizado pela legislação para avaliação da concentração de *E. coli* em leites pasteurizados, apenas das bactérias pertencente à família Enterobacteriaceae como um todo.

Assim sendo, para interpretação dos resultados, foi utilizado o parâmetro composto pela Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018, que indica que a concentração máxima considerada segura para consumo sem comprometimento da saúde pública é de 2 unidades por unidade específica ($c = 2$, UFC/mL) de bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae e de 5 unidades microrganismos na amostra ($n = 5$).

A enumeração de *E. coli* em amostras de leite pasteurizado da região de Monte Carmelo, em Minas Gerais, mostrou variações significativas na concentração de microrganismos presentes. A análise microbiana foi realizada de acordo com métodos padrão descritos no trabalho e os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Resultados obtidos da enumeração a partir da contagem de *E. coli*.

Amostra	Concentração
1	38×10^4 UFC/mL
2	$4,73 \times 10^6$ UFC/mL
3	$1,03 \times 10^6$ UFC/mL
4	$4,00 \times 10^2$ UFC/mL

De acordo com os resultados obtidos, observa-se que para as amostras 1, 2 e 3, a contagem apresenta alta significativa considerada segura para consumo ultrapassando os limites legais ($n = 5$) e excedendo o limite aceitável ($c = 2$). A análise sugere que para todas as amostras, houve-se possível contaminação fecal e levanta sérias preocupações quanto a qualidade microbiológica e segurança, indicando potencial risco a saúde pública.

Para a amostra 4, a contagem está abaixo do limite legal ($n = 5$), indicando conformidade nos padrões microbiológicos estabelecidos. A concentração da amostra também se encontra dentro dos limites considerados aceitáveis, o que sugere qualidade microbiológica satisfatória levando em consideração as amostras anteriores, ou seja, pasteurização adequada e efetiva neste caso.

De forma geral, os resultados indicam um preocupante estado de qualidade microbiológica das amostras de leite pasteurizado da região de Monte Carmelo. Assim, este trabalho ressalta a relevância de uma legislação que estabeleça diretrizes e limites microbiológicos precisos para assegurar a segurança alimentar e evitar discrepâncias nas normas. Conforme destacado por Braun (2015), a detecção de *E. coli* no leite pasteurizado evidencia a necessidade de revisão e atualização das leis para assegurar a proteção dos consumidores.

A análise realizada neste estudo destaca a relevância da pasteurização como um processo importante para a segurança e qualidade do leite, mas também a necessidade de monitoramento contínuo e controle de qualidade em todas as etapas, desde a produção e ordenha até a distribuição.

Devem ser tomadas medidas corretivas para reduzir as concentrações de *E. coli* em amostras de leite para garantir o cumprimento dos padrões estabelecidos pela legislação e, mais importante ainda, a segurança e a saúde dos consumidores.

CONCLUSÃO

Os resultados destacam a urgência em monitorar de forma rigorosa a qualidade microbiológica do leite pasteurizado na região. A alta presença de *E. coli* em algumas amostras, especialmente nas amostras 1, 2 e 3, indica possíveis problemas no processo de pasteurização ou contaminação durante a produção e distribuição.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Dada a diferença nos resultados, é crucial implementar medidas corretivas imediatas para garantir conformidade com os padrões legais e, acima de tudo, proteger a saúde dos consumidores. Além disso, enfatiza-se a importância de revisões regulatórias que estabeleçam diretrizes mais específicas para a contagem de *E. coli* em leite pasteurizado, fornecendo uma base sólida para garantir a segurança alimentar. Além do mais, considerar práticas rigorosas de higiene ao longo da cadeia de produção é imprescindível para mitigar os riscos associados ao consumo de leite pasteurizado na região onde a pesquisa foi realizada.

CONTAGEM DE *Escherichia coli* EM LEITE PASTEURIZADO

REFERÊNCIAS

ANUÁRIO LEITE 2023. Juiz de Fora, Mg: Embrapa Gado de Leite, 2023.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. Committee on Microbiological for foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4 ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.

Brasil. (2018). Instrução Normativa Nº 76, de 26 de novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, 10.

BRAUN, Rosane Johann; SILVA, Emilia Maria. PESQUISA DE *Escherichia coli* EM LEITE PASTEURIZADO PRODUZIDO E COMERCIALIZADO NO ESTADO DE MATO GROSSO DO SUL. **HIGIENISTAS ALIMENTARES REUNEM-SE EM BÚZIOS, RJ.**, v. 29, n. 242/243, p. 155, 2015.

CORDEIRO, Rebecca Cristina Galvão et al. Processo de produção do leite pasteurizado e produtos lácteos a partir de leite cru bovino. 2018.

DA MATA, Natalia Franco; DE TOLEDO, Paula Spinha; PAVIA, Paulo César. A importância da pasteurização: Comparação microbiológica entre leite cru e pasteurizado, do tipo B. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 384, p. 66-70, 2012.

DERBIS, Andressa Maria de Souza; WOSIACK, Priscila Arcoverde. **Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica do leite pasteurizado submetido à condições de transporte e armazenamento**. 2011. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo, Ed. Atheneu, 2002.

GONÇALVES, Edvaldo Sapia; MARQUES, Maria Helena Muniz; LUCCA, Patrícia Standler Rosa. A segurança alimentar e os consultores: um breve estudo sobre a *Escherichia Coli*. **Revista CESUMAR—Ciências Humanas e Sociais Aplicadas**, v. 7, n. 1, p. 7-29, 2002.

GUIMARÃES, Felipe de Freitas; LANGONI, Hélio. Leite: alimento imprescindível, mas com riscos para a saúde pública. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 1, p. 38-51, 2009.

LUZ, Dirce Ferreira et al. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense. **Agrarian**, v. 4, n. 14, p. 367-374, 2011.

MITTELSTAEDT, Simone; DE CARVALHO, Vania Maria. *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157: H7—revisão* Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157: H7—review. **Rev Inst Ciênc Saúde**, v. 24, n. 3, p. 175-82, 2006.

MORAIS, T.; SIGULEM, D. Efeito da fervura doméstica e da refrigeração na carga bacteriana do leite pasteurizado tipo C. **J Pediatr (Rio J)**, v. 76, p. 357-60, 2000.

ROLDÃO NETO, A. C.; RIBEIRO, L. F.

REIS, Karla Terezinha M. Gollner et al. Qualidade microbiológica do leite cru e pasteurizado produzido no Brasil: revisão. **Journal of Health Sciences**, 2013.