

## CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS EM LEITES PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE MONTE CARMELO, MG

Isadora Silva Pereira<sup>1</sup>  
Nayne Vieira da Silva<sup>2</sup>  
Laryssa Freitas Ribeiro<sup>3</sup>  
Denise Dias Alves Cocco<sup>4</sup>  
Cássio Resende de Moraes<sup>5</sup>

### RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a presença e quantificar enterobactérias em amostras de leite pasteurizado comercializadas na região de Monte Carmelo, Minas Gerais. O estudo foi conduzido com quatro amostras coletadas em comércios locais e analisadas no Laboratório de Análises de Produtos de Origem Animal (Agrolab/UNIFUCAMP). As amostras foram submetidas à contagem de colônias em Ágar Vermelho Violeta Bile com Glicose (VRBG), conforme a norma ISO 21528-2:2004, e posteriormente confirmadas pelo teste de oxidase. Os resultados mostraram que apenas duas amostras apresentaram crescimento microbiano inicial ( $2,2 \times 10^4$  e 100 UFC/mL), porém todas negativas ao teste de oxidase, ou seja, não confirmada como pertencente à família Enterobacteriaceae. Assim, todas as amostras estavam dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa nº 161/2022 do MAPA. Conclui-se que os leites analisados apresentaram qualidade microbiológica satisfatória, reforçando a eficácia da pasteurização e das boas práticas de fabricação, embora a manutenção de um rigoroso controle higiênico-sanitário continue sendo essencial para garantir a segurança alimentar.

**Palavras-chave:** Qualidade microbiológica; Pasteurização; Segurança alimentar; Controle higiênico-sanitário; Análise microbiológica;

### ABSTRACT

*The present study aimed to assess the presence and quantify Enterobacteriaceae in samples of pasteurized milk marketed in the region of Monte Carmelo, Minas Gerais, Brazil. Four samples were collected from local establishments and analyzed at the Laboratory of Animal-Origin Product Analysis (Agrolab/UNIFUCAMP). The samples were subjected to colony counting on Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG), in accordance with ISO 21528-2:2004, and subsequently confirmed by the oxidase test. The results showed that only two samples exhibited initial microbial growth ( $2.2 \times 10^4$  and 100 CFU/mL); however, all were negative in*

- 
1. Graduada em Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP / Monte Carmelo –MG) (isadorapereira@unifucamp.edu.br)
  2. Professora orientadora, Médica Veterinária formada pela Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Mestra em Ciências Veterinárias, com ênfase em Cirurgia Animal. Professora no Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP) (naynesilva@unifucamp.edu.br)
  3. Professora co-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](mailto:laryssaribeiro84@gmail.com)).
  4. Licenciada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP). Especialista (Lato Sensu) em Educação especial. (denisedias09@hotmail.com)
  5. Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP). Mestre e Doutor em Genética e Bioquímica pelo Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Professor no UNIFUCAMP (cassio.1015@hotmail.com)

*the oxidase test, indicating that they did not belong to the Enterobacteriaceae family. Therefore, all samples met the microbiological standards established by the Ministry of Agriculture and Livestock's Normative Instruction No. 161/2022. It can be concluded that the analyzed milk samples presented satisfactory microbiological quality, reinforcing the effectiveness of pasteurization and good manufacturing practices. Nonetheless, maintaining strict hygienic-sanitary control remains essential to ensure food safety.*

**Keywords:** *Microbiological quality; Pasteurization; Food safety; Hygienic-sanitary control; Microbiological analysis.*

### 1. INTRODUÇÃO

O leite é um alimento muito consumido pelos brasileiros, e tem um alto valor nutricional. No leite estão presentes substâncias importantes para o ser humano, como a gordura, proteínas, vitaminas, minerais e carboidratos. Sendo fundamental na dieta de crianças e idosos, pelo seu alto teor de cálcio (Salvador *et al.*, 2012).

Por ser um alimento rico em nutrientes, o seu meio proporciona multiplicação de microrganismos, principalmente da família *Enterobacteriaceae*. Nessa família estão incluídos os coliformes totais. Esses agentes são responsáveis por diversas doenças como por exemplo a colite hemorrágica (Ntuli *et al.*, 2016).

O achado desses microrganismos no leite pode ser indicador de falta de higiene com a manipulação do leite com origem nas ordenhas, nos tetos das vacas e até na falta de limpeza correta das teteiras e tanques (Tanaka, 2022).

Assim, mesmo após a pasteurização, bactérias com atividade proteolítica podem permanecer ativas, reduzindo a vida útil de prateleira do leite e alterando seu sabor devido a degradação de proteínas. (Silva *et al.*, 2022).

Vale ressaltar que a maior causa das enfermidades de origem alimentar ocorrem quando um indivíduo contrai uma doença devido à ingestão de alimentos contaminados com microrganismos ou toxinas indesejáveis. Várias bactérias patogênicas podem tanto estar presentes no meio ambiente ou contaminar o alimento durante o manuseamento. (BRASIL, 2016).

E, a família *Enterobacteriaceae* compreende um grupo extenso de bactérias Gram-negativas não formadoras de esporos, quase todas anaeróbias facultativas. São microrganismos ubíquos, o que significa que é inevitável que possam ingressar na cadeia alimentar. Podem causar diferentes tipos de infecções. As infecções do trato urinário são as mais comuns, seguidas por pneumonia, infecções em feridas e infecções sanguíneas e do sistema nervoso central. Alguns gêneros são causas frequentes de infecções intestinais, como

enterite e diarreia. Também constituem uma parte essencial das infecções nosocomiais, especialmente as relacionadas ao uso de cateter no trato urinário e à pneumonia associada.

Dentro desse grupo de microrganismos, os principais patógenos são *Salmonella* spp., *Shigella* spp. e aquelas do grupo coliforme, como *Escherichia coli*, que são patógenos potenciais presentes no intestino dos animais. (Madigan, Martinko & Parker, 2003).

Sabendo da importância desse grupo de microrganismos, o presente trabalho teve como objetivo verificar a quantificação de enterobactérias de leites pasteurizados comercializados na região de Monte Carmelo, MG.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

Estudo foi realizado com quatro amostras de leites pasteurizados. As amostras foram adquiridas nos comércios das cidades de Monte Carmelo e Coromandel e Iraí de Minas, Minas Gerais.

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

### **2.1 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<sup>-1</sup>. Após esse processo, foram realizadas diluições decimais até 10<sup>-3</sup> utilizando-se o mesmo diluente.

### **2.2. CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS (ISO 21528-2:2004)**

As diluições foram inoculadas em Ágar Vermelho Violeta Bile com Glicose (VRBG). As placas foram incubadas na posição invertida, a 37±1 °C/24±2h.

### **2.3. CONFIRMAÇÃO DAS COLÔNIAS**

Inicialmente, selecionou-se placas com até 150 colônias e, de cada placa, cinco colônias típicas foram escolhidas para a confirmação (vermelho púrpura, com 0,5mm ou mais em diâmetro, rodeadas por um halo avermelhado de precipitação de sais biliares). Cada

## CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS EM LEITES PASTEURIZADOS

colônia selecionada foi inoculada uma alçada da cultura (estrias de esgotamento) em uma placa de Agar Nutriente (NA) e incubar as placas a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}/24\pm 2\text{h}$ .

Para a confirmação, então, foi realizado o teste de oxidase. Assim, colocou-se um disco ou fita de papel de filtro no interior de uma placa de Petri e embebedou o centro do papel com o reagente de Kovacs para teste de oxidase (solução aquosa 1% de cloridrato de N,N,N,N-tetrametil-p-fenilenodiamina). Com uma alça de platina ou palitos estéreis (não utilizar alça de níquel-cromo), foi removido uma pequena quantidade da colônia e espalhar sobre o reagente no papel, observando se ocorreu o desenvolvimento de uma cor azul intensa, em aproximadamente dez segundos (teste positivo). O não-desenvolvimento da cor azul no intervalo de dez segundos indicou teste negativo. As enterobactérias são oxidase negativas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Selecionou-se placas com até 150 colônias e, de cada placa, cinco colônias típicas foram escolhidas para a confirmação (vermelho púrpura, com 0,5mm ou mais em diâmetro, rodeadas por um halo avermelhado de precipitação de sais biliares) (Figura 1).

Figura 1. Placa contendo ágar VRGB, com colônias típicas de enterobactérias



Fonte: Acervo pessoal

Apenas as amostras 1 e 4 apresentaram contagem no meio ágar VRGB. As demais amostras não formaram colônias (Tabela 1). A amostra 1 apresentou uma contagem de  $2,2 \times 10^4$  UFC/mL e, a amostra 4 de  $10^2$  UFC/mL.

Tabela 1 - Contagem de enterobactérias em leites pasteurizados comercializados na região de Monte Carmelo, MG.

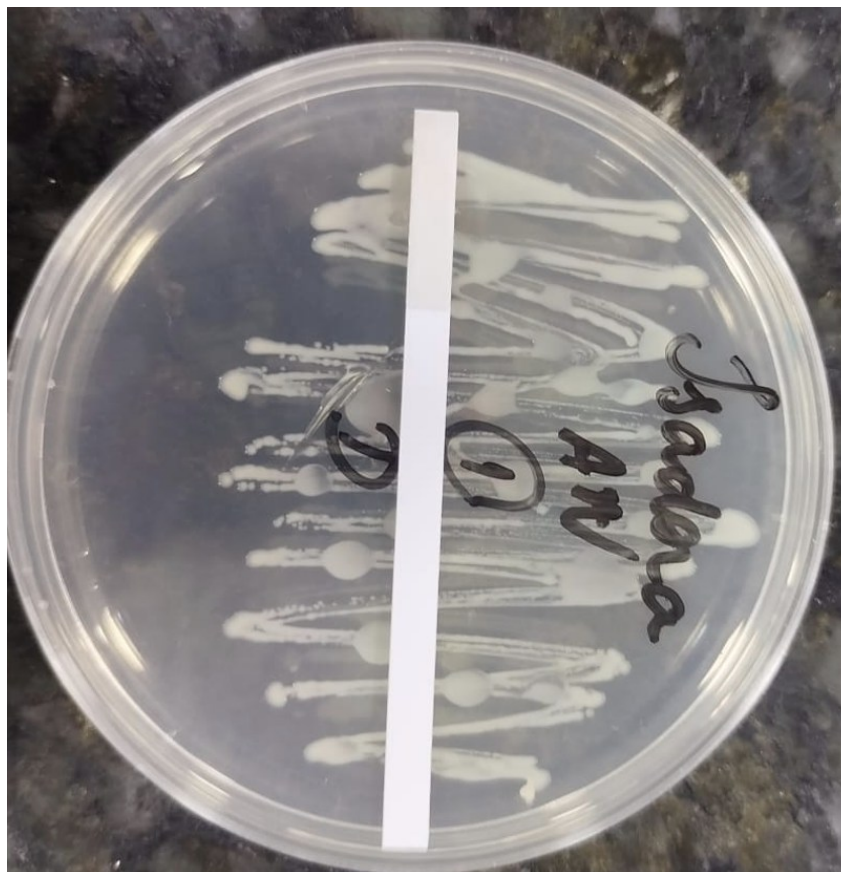
AMOSTRA	CONTAGEM (UFC/ml)
1	$2,2 \times 10^4$ UFC/ml
2	0
3	0
4	100 UFC/ml

Fonte: Dados de pesquisa (2025)

Cinco isolados de cada amostra foram selecionados e passaram para a confirmação (Figura 2). Entretanto, nenhum isolado apresentou confirmação de enterobactérias, ou seja, todas as amostras foram negativas para o gênero *Enterobacteriaceae*.

## CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS EM LEITES PASTEURIZADOS

Figura 2. Placa contendo ágar nutriente. o microrganismos suspeito, isolado e, a tira para teste de oxidase, com resultado negativo para o isolado característico de *Enterobacteriaceae*.



Conforme a lei IN N°161/2022, o leite pasteurizado possui um limite de 5 UFC/ml para *Enterobacteriaceae* no leite pasteurizado, (MAPA, 2022). Assim, todas as amostras estão dentro dos padrões estabelecidos pela legislação.

Ao contrário do presente estudo, as cepas mais incidentes encontradas em produtos e derivados lácteos pertencem à família *Enterobacteriaceae* (RAMOS et al., 2021), sendo, possivelmente, um indicativo de falhas no processo ou após a pasteurização (AMORIM et al., 2017).

Ainda, Gonçalves et al. (2022) realizou uma pesquisa em leites pasteurizados comercializados em Goiás onde 11,1%, as amostras analisadas tiveram contagem de *Enterobacteriaceae* acima do padrão.

E, o estudo de Braun e Silva (2015) apresentou enterobactérias, como *E.coli*, em amostras de leites pasteurizados produzidos e comercializados no Mato Grosso do Sul. A

toxinfecção pela *E.coli* pode causar sintomas como diarreia e até inflamação intestinal que resulta em sangramento e até problemas renais a longo prazo (Bryan *et al.*, 2015).

Em nível internacional, casos como o surto de *Yersinia*, uma importante enterobactéria, associado a uma fazenda na Pensilvânia (Longenberger *et al.*, 2014), ilustram que a contaminação pós-pasteurização é uma preocupação global, não restrita somente no Brasil. Isso reforça a necessidade de monitoramento contínuo.

Visto que as bactérias da família *Enterobacteriaceae* compõem a microbiota intestinal normal dos seres humanos; a contaminação de leite por microrganismos dessa família pode estar relacionada à ocorrência de diversas infecções, responsáveis por elevadas taxas de morbidade e mortalidade, especialmente em ambientes hospitalares (KAISER *et al.*, 2016).

Esses microrganismos não resistem ao calor da pasteurização, ou seja, sua detecção pode ser um sinal de infecção que ocorreu posteriormente ao tratamento térmico, erros durante as etapas de processamento ou, também, uma quantidade de microrganismos excessivamente alta antes mesmo do início da técnica (ZANELLA *et al.*, 2010), por isso a importância da pesquisa dessa importante família em leites pasteurizados.

## CONCLUSÃO

Todas as amostras estavam com contagens inferior ao exigido pela legislação para *Enterobacteriaceae*. Por mais que os resultados para *Enterobacteriaceae* sejam zero, ainda há a importância da aplicação rigorosa das boas práticas de fabricação e higienização, além da fiscalização contínua dos produtos.

## REFERÊNCIAS

AMORIM, A.; NASCIMENTO, J. A. Highlight for Non-Escherichia coli and Non-Salmonella sp. Enterobacteriaceae in Dairy Foods Contamination. *Frontiers in Microbiology*, v. 8: 930., 2021.

APHA – American Public Health Association. Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4a. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. **INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION**. ISO 21528-2:2017 – Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection and enumeration of Enterobacteriaceae — Part 2: Colony-count technique. Geneva: ISO, 2017.

## CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS EM LEITES PASTEURIZADOS

BRAUN, Roseane Johann; SILVA, Emilia Maria. Pesquisa de Escherichia coli em leite pasteurizado produzido e comercializado no estado de Mato Grosso do Sul. **Higiene Alimentar**, [S.l.], v. 29, n 242/243, p. 83-87, mar./abr. 2015

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Doenças Transmitidas por Alimentos, 2016. Disponível em: <<http://u.saude.gov.br/images/pdf/2016/marco/10/Apresenta----o-dados-gerais-DTA-2016.pdf>> Acesso em: 04 nov 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância. Instrução Normativa nº 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Diário Oficial da União**, nº 126, de 6 de julho de 2022.

BRYAN, Allen; YOUNGSTER, Ilan; MCADAM, Alexander J. Shiga Toxin. Producing Escherichia coli. **Clinics in Laboratory Medicine**, [S.l.], v. 35, n. 2, p. 247-272, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.004>> Acesso em: 04 nov. 2025.

**FARMER, J. J.** *Enterobacteriaceae: Introduction and Identification*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; PFALLER, M. A.; TENOVER, F. C.; YOLKEN, R. H. (Eds.). *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, D.C.: ASM Press, 1999. p. 442–458.

GONÇALVES, Priscilla Vanesa Rodrigues; CERQUEIRA, Aline Barrichello; CUSTÓDIO, Henricson Nascimento et al. Qualidade Microbiológica de Leite e Derivados Inspeccionados pelo Serviço Oficial do Estado de Goiás em 2020 e 2021. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE QUALIDADE DO LEITE**, 9, 2022, Goiânia. Anais. Curitiba: CBQL, 2022. p. 194-196.

KAISER, T. D. L. et al. Detecção de betalactamase de espectro estendido em isolados de enterobactérias provenientes de um hospital da região de Santa Teresa-ES. **Arquivos de Ciências da Saúde**, Vitória, v. 20, n. 1, p. 3-7, jan./mar. 2016.

LONGENBERGER, Andy. GRONOSTAJ, Piotr Adam. WESTERHOFF, Gay-Yee. JOHNSON, Lewis Marcina. LANDO, Giorge André . Jason Voorhees. Andrew Weltman. BRANDÃO, Marcelo Moll. Yersinia enterocolitica infections associated with improperly pasteurized milk products: southwest pennsylvania, march:august, 2011. *Epidemiology And Infection*, [S.L.], v. 142, n. 8, p. 1640-1650, 16 out. 2013. **Cambridge University Press (CUP)**. <http://dx.doi.org/10.1017/s0950268813002616>. Disponível em: <<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9151221/>> Acesso em: 04 nov. 2025.

PEREIRA, I. S.; SILVA, N. V.; RIBEIRO, L. F.; COCCO, D. D. A.; MORAIS, C. R..

**MADIGAN, M.; MARTINKO, J.; PARKER, J.** *Brock – Biologia dos Microrganismos*. 10. ed. Madrid: Pearson Educación, 2003. 1089 p.

MAPA. Lei nº 76, de 2018. **Instrução Normativa Nº 76, de 26 de Novembro de 2018**. 230. ed. Seção 1, p. 9. Disponível em: <<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2019/04/INSTRU%C3%87%C3%83O-NORMATIVA-N%C2%BA-76-DE-26-DE-NOVEMBRO-DE-2018-Di%C3%A1rio-Oficial-da-Uni%C3%A3o-Imprensa-Nacional.pdf>>. Acesso em: 29 out. 2025.

NTULI, Victor.NJAGE, Patrick Murigu Kamau.BUYS, Elna. Characterization of *Escherichia coli* and other Enterobacteriaceae in producer-distributor bulk milk. **Journal of Dairy Science**, v. 99(12), p. 9534-9549, 2016.

RAMOS, G.; NASCIMENTO, J. Antibiotic resistance profile and detection of degradative enzymes by Enterobacteriaceae isolated from raw goat milk. **GERMS**, v. 11(2), p. 211-220, 2021.

REGULAMENTO (UE) N.º 365/2010 DA COMISSÃO DE 28 DE ABRIL DE 2010 QUE ALTERA O REGULAMENTO (CE) N.º 2073/2005 RELATIVO AOS CRITÉRIOS MICROBIOLÓGICOS APLICÁVEIS AOS GÊNEROS ALIMENTÍCIOS NO QUE DIZ RESPEITO A ENTEROBACTERIACEAE NO LEITE PASTEURIZADO E NOUTROS PRODUTOS LÁCTEOS LÍQUIDOS PASTEURIZADOS E A LISTERIA MONOCYTOGENES NO SAL ALIMENTAR: (Texto relevante para efeitos do EEE). **União Europeia**, 29 abr. 2010. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32010R0365&from=PL>> Acesso em: 23 out. 2025.

SALVADOR, Flávia Cristina. BURIN, Amanda das Santos. FRIAS, Angélica Albuquerque Tomilhero. OLIVEIRA, Fernanda Aparecida Silva. FAILA, Nayara. AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE PASTEURIZADO COMERCIALIZADO EM APUCARANA-PR E REGIÃO. **Revista F@Pciência**, Apucarana, v. 9, n. 5, p. 30-41, 2012. Disponível em: <[https://www.fap.com.br/fap-ciencia/edicao\\_2012/005.pdf](https://www.fap.com.br/fap-ciencia/edicao_2012/005.pdf)> Acesso em: 02 set. 2025.

SILVA, Anna Luiza Ferreira Santos. ALMEIDA, Vitor Nascimento. RODRIGUES, Anna Beatriz Bastos. MONSORES, Marina Rodrigues Franco. AMARAL, Paulo Vitor Verços. SANTOS, Yasmin Catherine Oliveira. RAMOS, Gustavo Luis de Paiva. DETECÇÃO DE GETEC, v.28, mar.; p. 186-196/2026

ISSN:2238-4405

## CONTAGEM DE ENTEROBACTÉRIAS EM LEITES PASTEURIZADOS

ENTEROBACTERIACEAE EM LEITE PASTEURIZADO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA. **Open Science Research V**, [S.L.], v. 5, p. 326-336, 2022. Disponível em: <<https://downloads.editoracientifica.com.br/articles/220709465.pdf>> Acesso em: 01 set. 2025.

TANAKA, Fernanda Yuri Rodrigues. FREQUÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DE ENTEROBACTÉRIAS PRODUTORAS DE BETA LACTAMASES DE ESPECTRO ESTENDIDO EM LEITE PASTEURIZADO. 2022. 1 v. Dissertação (Mestrado) - Curso de Sanidade Animal, **Universidade Estadual de Londrina**, Londrina, 2022. Disponível em: <[https://sucupira-legado.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id\\_trabalho=13192280](https://sucupira-legado.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=13192280)> Acesso em: 27 out. 2025

ZANELLA, G. N. et al. Occurrence and Antibiotic Resistance of Coliform Bacteria and Antimicrobial Residues in Pasteurized Cow's Milk from Brazil. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 73, n. 9, p. 1684-1687, set. 2010.