



FACULDADE DE EDUCAÇÃO E MEIO AMBIENTE

KARINE FREITAS DA SILVA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE TRÊS MARCAS
DE LEITES COMERCIALIZADOS NOS SETORES 06 E
11 DO MUNICÍPIO DE ARIQUEMES - RO**

ARIQUEMES – RO

2019

KARINE FREITAS DA SILVA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE TRÊS MARCAS
DE LEITES COMERCIALIZADOS NOS SETORES 06 E
11 DO MUNICÍPIO DE ARIQUEMES - RO**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel.

Orientadora: Prof^a M.^a Keila de Assis Vitorino.

Ariquemes – RO

2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Júlio Bordignon - FAEMA

SI586a	<p>SILVA, Karine Freitas da .</p> <p>AA/ Avaliação microbiológica de três marcas de leites comercializados no setor 06 e 11 do município de Ariquemes RO. / por Karine Freitas da Silva. Ariquemes: FAEMA, 2019.</p> <p>AA/ 32 p.; il.</p>
	<p>AA/ Artigo Científico - Bacharelado em Farmácia - Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA.</p>
	<p>AA/ Orientador (a): Profa. Ma. Keila de Assis Vitorino Vitorino.</p> <p>1. Leite Cru. 2. Leite tipo C. 3. Leite UHT. 4. Testes Microbiológicos. 5. Qualidade. I Vitorino, Keila de Assis Vitorino. II. Título. III. FAEMA.</p> <p style="text-align: right;">CDD:615.4</p>

Bibliotecária Responsável
Herta Maria de Açucena do N. Soeiro
CRB 1114/11

KARINE FREITAS DA SILVA

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS LEITES: TIPO
C, CRU E UHT COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE
ARIQUEMES - RO**

Monografia apresentada ao curso de graduação em Farmácia, da Faculdade de Educação e Meio Ambiente, como requisito parcial à obtenção do título em Bacharel.

COMISSÃO EXAMINADORA

Orientadora: Prof^a M.^a Keila de Assis Vitorino
Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA

Prof^a Dra. Taline Canto Tristão
Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA

Prof^o Ms. Jhonattas Muniz de Souza
Faculdade de Educação e Meio Ambiente - FAEMA

Ariquemes, 16 de Setembro de 2019.

Dedico esse trabalho a minha família e marido
que sempre me ajudaram e apoiaram.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter me dado saúde e força para superar á todas as dificuldades.

À Instituição pelo ambiente criativo e amigável que proporciona. Agradeço a todos os professores do meu curso por proporcionarem o conhecimento não apenas profissional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional e por tanto que se dedicaram a mim. Agradeço a toda a ajuda dos colaboradores do laboratório que me orientaram nas minhas pesquisas.

À minha orientadora, M.^a Keila de Assis Vitorino pela orientação, apoio, confiança, e pelo empenho dedicado à elaboração deste trabalho, também pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e apoio incondicional. Ao meu marido Leandro, por não me desamparar. Agradeço a minha mãe Carolina, heroína que me deu todo o apoio, incentivo nas horas difíceis de desânimo e cansaço. Ao meu pai Almiro, que apesar de todas as dificuldades me fortaleceu e que para mim foi muito importante. Aos meus irmãos, agradeço por tudo de bom que fazem por mim desde que nasci, sou grata por ter vocês na minha vida. Obrigada! Primos, tias, cunhadas, sogro, sogra, ao meu avô e minhas avós pela contribuição valiosa.

Meus agradecimentos aos meus amigos, em especial a minha amiga Valcione que só eu e Deus sabemos o quanto colaborou para a realização deste trabalho, agradeço aos meus companheiros de trabalhos e irmãos na amizade, a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da minha formação, o meu muito obrigado. Todos vocês fazem parte desta história.

RESUMO

Este estudo teve como objetivo analisar se o leite distribuído na região de Ariquemes- RO é considerado de qualidade. E para realizar este trabalho foram adquiridos no mês de julho de 2019, três tipos de Leites diferentes o leite Tipo C, Cru e o Ultra High Temperature (UHT), foi realizado os teste microbiológicos com esses leites no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente (FAEMA). A metodologia de plaqueamento utilizada foi a de profundidade, e os meios de cultura selecionados foram o Mueller Hinton e Sabouraud. No leite tipo C no meio de cultura Mueller Hinton foram observadas 114.000 unidades formadoras de colônias por mL (UFC/mL) e no meio Sauboraud 123.000 UFC/mL. O leite cru no meio Mueller Hinton 119.000 UFC/mL, e no meio Sabouraud 424.000 UFC/mL, o leite UHT e a placa de controle obteve o valor de <1 nos dois meios. De acordo com a instrução de normativa N° 76 o leite tipo C e o UHT estão dentro dos padrões exigidos pela normativa enquanto o leite cru ultrapassa em 41,5% da margem aceitável. Após isso foi realizado a coloração de gram e o exame direto com KOH a 20%. Sendo então observado bactérias Gram negativas no formato de bacilos e cocos, fungos filamentosos e leveduras. Através desses resultados observa-se a necessidade de uma investigação aprofundada dos produtores de leite cru para identificação do problema relacionado aos resultados, e possíveis métodos para a melhora, garantindo a saúde dos consumidores.

Palavras - Chave: Leite Cru; Leite Tipo C; Leite UHT; Testes microbiológicos; Legislação; Qualidade.

ABSTRACT

This study aimed to analyze whether milk distributed in the region of Ariquemes-RO is considered of quality. And to carry out this work were acquired in July 2019, three different types of milk Type C, Raw milk and Ultra High Temperature (UHT), were performed microbiological tests with these milks in the Microbiology Laboratory of the Faculty of Education. and Environment (FAEMA). The plating methodology used was deep, and the selected culture media were Mueller Hinton and Sabouraud. In type C milk in Mueller hinton culture medium, 114,000 colony forming units per mL (CFU / mL) were observed and in sauboraud medium 123,000 CFU / mL. Raw milk in mueller hinton medium 119,000 CFU / mL, and in sabouraud medium 424,000 CFU / mL, UHT milk and the control plate obtained a value of <1 in both media. According to Normative Instruction No. 76 Type C milk and UHT are within the standards required by the regulation while raw milk exceeds 41.5% of the acceptable margin. After that, gram staining and direct examination with 20% KOH were performed. Gram-negative bacteria in the shape of bacilli and cocci, filamentous fungi and yeast were observed. These results show the need for a thorough investigation of raw milk producers to identify the problem related to the results, and possible methods for improvement, ensuring the health of consumers.

Keywords: Raw Milk; Type C milk; UHT milk; Microbiological tests; Legislation; Quality.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DTA's	Doenças Transmissíveis por Alimentos
EUA	Estados Unidos da América
KOH	Hidróxido de Potássio
UFC	Unidade Formadora de Colônias
UHT	Ultra High Temperature

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Leite Cru.....	21
Figura 2 -	Leite UHT.....	21
Figura 3 -	Leite Tipo C.....	21
Figura 4 -	Meio Saboraud/Leite tipo C.....	22
Figura 5 -	Meio Mueller Hinton/Leite tipo C.....	22
Figura 6 -	Meio Saboraud / Leite Cru.....	23
Figura 7 -	Meio Mueller Hinton / Leite Cru.....	23
Figura 8 -	Meio Saboraud / Leite UHT.....	23
Figura 9 -	Meio Mueller Hinton / Leite UHT.....	23
Figura 10 -	Meio Saboraud / controle.....	24
Figura 11 -	Meio Mueller Hinton / controle.....	24
Figura 12 -	Cocos gram negativos.. ..	25
Figura 13 -	Bacilos gram negativos e fungos filamentosos.....	26
Figura 14 -	Microscopia da amostra do leite apresentando fungos filamentosos.....	27
Figura 15 -	Microscopia da amostra do leite apresentando fungos leveduras.....	27

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 LEITE	13
2.1.1 Leite Tipo C	14
2.1.2 Leite Cru	14
2.1.3 Leite UHT – Ultra High Temperature	15
2.2 PERFIL MICROBIOLÓGICO DO LEITE	15
3 OBJETIVO	17
3.1 OBJETIVO GERAL.....	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4 METODOLOGIA	18
4.1 PLAQUEAMENTO	18
4.2 CONTAGEM DE COLÔNIAS.....	19
4.3 COLORAÇÃO DE GRAM	19
4.4 EXAME MICROSCÓPICO DIRETO COM HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO (KOH) A 20%.....	20
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES	21
5.1 OBTENÇÃO DO LEITE	21
5.2 CONTAGEM DE COLÔNIAS.....	22
5.3 IDENTIFICAÇÃO MICROSCÓPICA.....	24
CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

INTRODUÇÃO

De acordo com diversas literaturas leite é identificado como um alimento de grande importância, pois apresenta em sua composição alto teor de proteínas, sais minerais, vitaminas, além de ser importante fonte de cálcio. O seu consumo é recomendado para todas as fases do ser humano desde o seu nascimento até os idosos (ROSSO, et al., 2011; TOMBINI, et al., 2012).

Algumas doenças podem ser oriundas da ingestão de leite, por possuir diversidades de microrganismos que podem ou não serem patógenos aos seres humanos. Esses microrganismos estão diretamente ligados a saúde dos animais, vacinação, local da ordenha, tempo desde o momento da ordenha até a chegada do alimento ao consumidor (VOGES, et al., 2017).

Os microrganismos encontrados frequentemente no leite podem ser tanto fungos como a *Rhodoturula spp*, *Aspergillus spp* e *Penicilium spp* quanto bactérias como *Escherichia coli*, que predominam nas fezes dos animais, a *Salmonella enteritidis*, o *Enterococcus faecalis*, e outros como os causadores de tuberculose, brucelose e leptospirose. Também pode ser encontrado *Staphylococcus aureus*, devido a esse microrganismos ser um agente causador de mastite na teta da vaca (CAMPOS, 2019).

A presença de contaminação em geral do leite está relacionado à falta de cuidados e higiene na ordenha. O aumento de leptospirose, por exemplo, pode estar relacionado à falta de cuidados higiênicos em ordenhas (DANTAS, et al., 2010).

As avaliações microbiológicas do leite é de grande importância para a população, pois através das avaliações será constatado a qualidade do leite, e os possíveis riscos a população, se houver a detecção de microrganismo causadores de doenças (SALVADOR, et al., 2012).

É necessário para os acadêmicos e profissionais da área da saúde conhecer os possíveis riscos que este alimento essencial, pode trazer a população, caso não esteja nos padrões aceitáveis. Buscando cada vez mais a conscientização por parte dos empresários e produtores, para seguirem as boas praticas na ordenha, manutenção do transporte e condições no armazenamento do leite.

Idealizou-se o presente trabalho com o objetivo de analisar algumas características microbiológicas dos leites: tipo C, cru e UHT comercializado nos setores 06 e 11 do município de Ariquemes RO, bem como a comparação dos resultados obtidos com os padrões da legislação vigente.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEITE

O leite e seus derivados merecem destaque, por fazerem parte de um grupo de alimentos de grande valor nutricional, pois são fontes consideráveis de vitaminas, minerais e proteínas de alto valor biológico. O consumo habitual desses alimentos é recomendado, para crianças e idosos pois com ingestão diária do mesmo irá garantir uma fonte de cálcio fundamental para formação, crescimento e manutenção da estrutura óssea (AMANCIO et al., 2015).

O leite está associado principalmente a alimentação de crianças e idosos que precisam do aporte de cálcio e outros componentes do leite em sua alimentação. Um leite fora dos padrões de qualidade microbiológicos podem ocasionar sérios problemas de saúde a estes consumidores, pois estes grupos são considerados de riscos, por serem imune deficientes (BRASIL, 2015).

A importância do consumo de leite se evidencia pelas características intrínsecas de sua composição nutricional, com destaque ao alto teor de cálcio e proteínas de qualidade (SBAN, 2015).

Constituintes do Leite	Teor %
Água	87 %
Carboidratos	4 % - 5 %
Lipídeos	3 % - 4 %
Proteínas	3 %
Substâncias Minerais	0,8 %
Vitaminas	0,1 %

Tabela 1- Constituintes Do Leite
Fonte: SBAN, 2015.

O leite possui além dos constituintes citados na Tabela 1, imunoglobulinas, hormônios, fatores de crescimento, citocinas, nucleotídeos, peptídeos, poliaminas, enzimas e outros peptídeos bioativos que apresentam diversos efeitos à saúde (AMANCIO et al., 2015).

2.1.1 Leite Tipo C

Caracteriza-se Leite tipo C, por ser leite que é obtido pela ordenha mecânica ou manual e é armazenado em tanques sem refrigeração, antes de ser encaminhado para os laticínios onde será pasteurizado e envasado, ainda assim obedecendo a regra de que a entrada do mesmo no laticínio deve ser até as 10 horas da manhã, no mesmo dia da ordenha (MAIA et al., 2013).

Em função do impacto da crise econômica vivida pela população brasileira algumas famílias tiveram que mudar seus hábitos de consumo para se readaptar a nova realidade; em virtude disso o consumo de leite tipo C vem aumentando significativamente (FRANÇA et al., 2012).

Apesar de ser constantemente requerido principalmente pela população carente de todo o Brasil, a qualidade do leite tipo C pode apresentar diversas alterações microbiológicas como *Staphylococcus aureus* e *Enterobactérias* (DA COSTA ALVES et al., 2018).

2.1.2 Leite Cru

Caracteriza-se leite Cru, o leite submetido ou não, aos processos de filtrações e refrigerações, bem como também o mesmo pode não passar pelo congelamento ou pré-aquecimento (MAIA et al., 2013).

Os produtores rurais ou leiteiros, na qualidade de ambulantes, em geral são modestos, desorganizados e burlam ou desconhecem a lei para sobreviver. Comercializam o seu produto diretamente aos consumidores finais que em sua maioria desconhecem os riscos potenciais que podem ser veiculados e mantêm este ciclo de comercialização informal (SOVINSKI et al., 2014).

Existem inúmeros relatos que comprovam que nem sempre o leite cru produzido e consumido no Brasil possui o padrão de qualidade aceitável, e esses fatores fazem com que aumente a possibilidade de doenças ocasionada por bactérias e fungos presente no mesmo. Como uma forma de minimizar esses riscos no ano de 2002 foi criada a instrução de normativa 51, através do

Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA (CAMILOTTO, 2011).

2.1.3 Leite UHT – Ultra High Temperature

O Leite UHT caracteriza-se particularmente pelas altas temperaturas que é sujeito, inicia-se as operações de aquecimento na temperatura de 147 °C por 16 segundos, seguindo para temperatura baixa de 20 °C, depois se mantém em inspeção por até 7 dias para sua comercialização (MAIA et al., 2013).

Considera-se o calor uma das principais fontes para desfavorecer a conservação dos alimentos, principalmente do leite UHT, e devido a sua comodidade esse leite é consumido em larga escala (MENEZES et al., 2014).

Os aspectos microbiológicos e sensoriais, durante sua vida de prateleira, demonstram que a qualidade desse leite pode ser uma das principais causas da deterioração, com o passar do tempo de armazenamento, e que a partir do segundo mês de fabricação, o leite UHT inicia a apresentação de pequenas, porém visíveis alterações, como geleificação no fundo da caixa, coloração não homogênea, sabor e odor indesejáveis e diminuição no teor de gordura (VIDAL, 2018).

2.2 PERFIL MICROBIOLÓGICO DO LEITE

caracteriza-se crime contra a saúde pública, previsto no Código Penal Brasileiro: mascarar a baixa qualidade do leite e/ou visar o aumento do volume praticando ilegalmente a retirada de gordura, adição de água, adição de neutralizantes e adição de conservantes. Originando assim produtos com baixa qualidade microbiológica e nutricional (SOVINSKI et al., 2014).

Existem algumas preocupações relacionadas com a qualidade do leite e está dividida em dois princípios. O primeiro princípio está relacionada a questão nutricional do leite, pois as crianças são os principais consumidores e o segundo é relacionado as doenças transmissíveis por alimentos (DTA'S).

Estes dois princípios estão associadas principalmente ao consumo de produtos de origem animal e entre eles o leite cru e seus derivados. De acordo com o Instituto Floresta Tropical (IFT), a ocorrência surtos de origem bacteriana chegam ser de 60% das hospitalizações e por aproximadamente 70% dos casos de morte (AMARAL et al., 2011).

Existe uma gradativa importância em se realizar análises microbiológica do leite, pois através delas é possível identificar a qualidade do produto a ser colocado na mesa da população brasileira (SALVADOR et al., 2012).

O desenvolvimento dos fungos pode estabelecer doenças tóxicas ou infecciosas em vegetais ou animais. Presente em ambientes terrestres, aquáticos e no ar, são microrganismos comuns na natureza (BRASIL, 2010).

Os fungos leveduras e filamentosos estão associados a diferentes patologias no homem e animais como por exemplo os fungos *Aspergillus spp* e *Rhodoturula spp*. O leite e seus derivados são contaminados com estes microrganismos podem constituir potenciais vias de transmissão de zoonoses a eles relacionadas (CAMPOS, 2019).

É difícil se obter um leite sem microrganismos contaminantes. Por isso é disponibilizado a quantidade de números aceitáveis, através de análises para saber quais alterações que essa quantidade aceitável de microrganismos causam no leite e derivados. Este requerimento é muito importante para realizar as avaliações no leite cru e assim descobrir a sua qualidade, pois o seu resultado é um indicador das condições de higiene em que o leite foi obtido e armazenado, evidenciando todos os processos desde a ordenha até o consumo (SILVA, et al., 2013).

A contagem total de bactérias é uma técnica adotada em vários países e usada para bonificação em programas de qualidade. O valor máximo aceito para o leite tipo C no Brasil é de 150.000 ufc/mL, para o leite Cru é de 300.000 ufc/mL e para o leite UHT máxima de 100.000 ufc/mL (SALVADOR et al., 2012).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar a avaliação microbiológica de três marcas de leite comercializada nos setores 06 e 11 do município de Ariquemes RO.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a situação da comercialização das três marcas de leite comercializada nos setores 06 e 11 do município de Ariquemes RO.
- Quantificar a carga microbiana de cada amostra de leite.
- Realizar a identificação presuntiva dos fungos e bactérias encontrados.

4 METODOLOGIA

Este estudo tem como intuito extrair dados através de análises microbiológicas dos leites: tipo C, cru e UHT, em laboratório, tendo também pesquisas em plataformas virtuais como o Scientific Electronic Library Online (SCIELO) e Google acadêmico.

O levantamento de análises e estruturação do conteúdo foi utilizado como critério de inclusão trabalhos publicados no período de 2010 a 2019 e instruções normativas vigentes referentes ao tema, e também para critério de inclusão, testes que se constatarem positivos tendo como os descritores análises de qualidade, adulteração, análises microbiológicas. Para os critérios de exclusão foram excluídos os trabalhos que se encontram incompletos e indisponíveis.

Os leites utilizados nesta pesquisa foram obtidos em pequenas mercearias do município de Ariquemes RO, onde foram encontrados de formas variadas: o leite UHT encontrado na prateleira, enquanto os leites tipo C e cru foram encontrados em balcões de refrigeração. Foram acondicionado em caixas térmicas com gelo e encaminhado ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Educação e Meio Ambiente – FAEMA para análise imediata.

4.1 PLAQUEAMENTO

O plaqueamento foi realizado por profundidade. Esta técnica consiste em adicionar 1 mL da amostra (leite), e então espalhar o meio de cultura em uma placa de Petri já esterilizada, observar atentamente para que seja colocada uma camada de no máximo 4 mm e no mínimo 3 mm, ou seja, de no mínimo 15 mL e no máximo 20 mL de ágar (Mueller Hinton e Sabouraud). As placas foram homogeneizadas ligeiramente fazendo círculos em formato de oito. Aguarda-se o resfriamento e solidificação do ágar na placa de petri, deve ser colocando as placas de Petri em uma superfície plana em temperatura ambiente ou em estufa, por 48 horas (JACQUES, 2013).

Os experimentos foram realizados em duplicata, e para controle foi utilizado uma placa de petri com água tamponada estéril.

4.2 CONTAGEM DE COLÔNIAS

Um dos métodos de avaliação da qualidade microbiológica do leite é realizando a contagem padrão de microrganismos. Após 48 horas do plaqueamento foram observado a formação de colônias, e efetuado a contagem das mesmas, através do contador de colônias, e para a obtenção do resultado é necessário a multiplicação da quantidade de colônias pela quantidade da diluição (ANDRADE et al., 2010).

Instrução normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002, descreve para o leite tipo C, sobre a contagem de colônias um valor dentro dos padrões de no máximo 150.000 ufc/mL. A Instrução normativa nº 76 de 26 de outubro de 2018 dispõe para o leite Cru limite máximo de até 300.000 ufc/mL para regiões Nordeste e Norte do Brasil. Para o leite UHT o valor máximo para contagem de colônias segundo a Instrução normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003 é de 100 ufc/mL. Esse padrões estão descritos na Tabela – 2 contagem padrão de colônias.

4.3 COLORAÇÃO DE GRAM

A técnica de coloração de Gram permite diferenciar diversos microrganismos através da utilização de agentes químicos, com essa coloração é possível diferenciar as estruturas da parede celular dos microrganismos (MOREIRA, 2015).

O método de coloração de gram é considerado simples e barato, consiste em um esfregão bacteriano, que deve ser fixado pelo calor, inicia-se com o Corante Primário o cristal violeta e após isso deve ser utilizado tratamento com um fixador, o Lugol. Tanto as bactérias Gram-positivas quanto Gram-negativas absorvem o corante primário e o fixador da mesma maneira, adquirindo então uma coloração violeta, nesse processo ocorre à formação de

cristal violeta-iodo, sendo ele insolúvel, em seus citoplasmas. Após essa etapa é utilizado então um tratamento com o etanol acetona, sendo ele um solvente orgânico. A utilização desse solvente dissolve a porção lipídica das membranas externas das bactérias Gram-negativas e removendo então o complexo cristal violeta-iodo, fazendo então a descoloração das células. Por outro lado, o solvente desidrata as espessas paredes celulares das bactérias Gram-positivas e provoca a contração dos poros do peptidoglicano, tornando-as impermeáveis ao complexo; o corante primário é retido e as células permanecem coradas. Após isso é realizado um tratamento com o corante a base de fucsina básica (MOREIRA, 2015).

Quando se observa no microscópio as bactérias é possível diferenciá-las em gram-negativo e gram-positivo através da coloração, pois as que adquirem a coloração azul violeta são consideradas gram-positivas e as que ao serem observadas no microscópio aparecem com a coloração vermelha são conhecidas como Gram-negativa (UEMURA, 2018).

4.4 EXAME MICROSCÓPICO DIRETO COM HIDRÓXIDO DE POTÁSSIO (KOH) A 20%

Deve-se iniciar com a higienização da lamina e pingar uma gota de hidróxido de potássio (KOH) (aquoso a 20%) na lâmina de microscopia, deve-se colocar uma pequena quantidade da amostra que deseja ser analisada. E para realizar a observação deve-se cobrir a preparação com uma lamínula e examinar a preparação no microscópio óptico comum. Deve-se inicialmente, observar com objetiva de 10x, e em seguida de 40x (ABIHPEC, 2015).

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 OBTENÇÃO DO LEITE

Os leites selecionados para realização desta pesquisa foram obtidos em pequenas mercearias na cidade de Ariquemes RO. O leite UHT foi encontrado na prateleira, bem organizado. Já no caso dos leites tipo C e leite cru foram encontrados em balcões refrigerados, sem muita organização e próximos de outros alimentos como por exemplo; bacon, congelados e etc.

Foram acondicionados em caixas térmicas com gelo e imediatamente encaminhados ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Educação e Meio Ambientes (FAEMA) para análise imediata. Amostras representadas nas (figuras 1, 2 E 3).



Figura 1: Leite Cru
Fonte: Autoria da Autora.



Figura 2: Leite UHT
Fonte: Autoria da Autora.



Figura 3: Leite Tipo C
Fonte: Autoria da Autora.

5.2 CONTAGEM DE COLÔNIAS

Um dos testes usado para avaliação microbiológica dos leites é o de contagem de colônias esse teste permite a avaliação do padrão de higiene e estocagem do mesmo (CAMPOS, 2019).

Tabela 2 – Contagem padrão das unidades formadoras de colônias presentes nas amostras de leite tipo C, Cru e UHT. Em meio enriquecido para fungos (Sabouraud) e meio enriquecido para bactérias (Mueller Hinton).

	Mueller Hinton	Sabouraud	Padrão
Tipo C	114 UFC/mL	123 UFC/mL	150 UFC/mL
Cru	119 UFC/mL	424 UFC/mL	300 UFC/mL
UHT	<1 UFC/mL	<1 UFC/mL	100 UFC/mL
Controle	<1 UFC/mL	<1 UFC/mL	0 UFC/mL

<1 significa que não houve crescimento bacteriano. Cada resultado é a media de 2 valores.

O Leite tipo C estimou uma contagem equivalente a 114.000 UFC/mL de possíveis bactérias isoladas no meio ágar Mueller Hinton (Figura 5), enquanto no meio ágar Sabouraud estimou uma contagem de 123,000 UFC/mL (Figura 4), resultando uma qualidade dentro dos padrões de 150.000 UFC/mL como descreve na Instrução normativa nº 51 de 18 de setembro de 2002.



Figura 4: Meio Sabouraud/Leite tipo C
Fonte: Aatoria da autora.

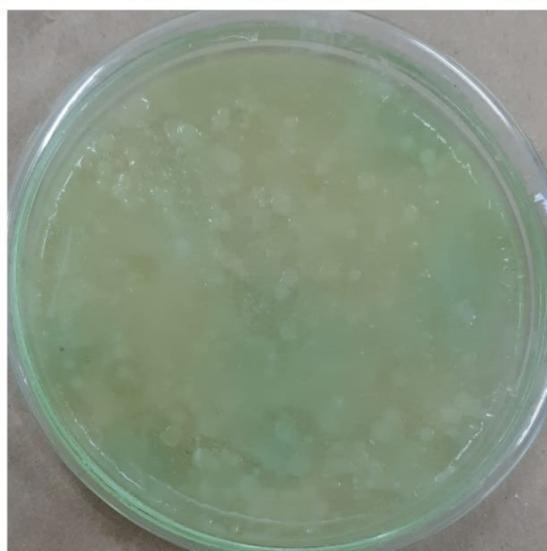


Figura 5: Meio Mueller Hinton/Leite tipo C.
Fonte: Aatoria da autora.

O Leite cru revelou uma contagem de colônias bacteriana de 119.000 UFC/mL (Figura 7), entrando nos padrões permitidos na Instrução normativa nº 76 de 26 de outubro de 2018. Porém o total de contagem de colônias fúngicas foi de 424.000 UFC/mL (Figura 6) ultrapassando em 41,5% a margem aceitável de contagem de colônias que se mostra em máxima de 300.000 UFC/mL.



Figura 6: Meio Saboraud / Leite Cru
Fonte: Aatoria da autora.



Figura 7: Meio Mueller Hinton / Leite Cru
Fonte: Aatoria da autora.

Segundo a Instrução normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003, o leite UHT deve possuir no máximo 100 UFC/mL, estando nas condições adequadas, o que confirma o resultado do presente trabalho, que tanto na contagem de colônias bacterianas, quanto na contagem de colônias fúngicas, não obteve unidades de formadoras de colônias (Figuras 8 e 9).

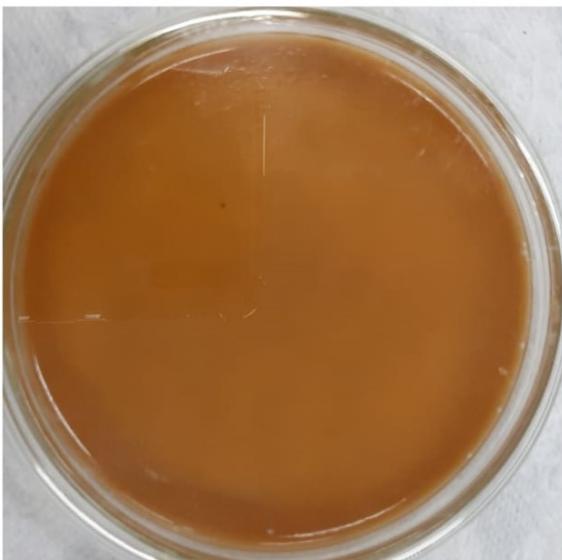


Figura 8: Meio Saboraud / Leite UHT
Fonte: Aatoria da autora.

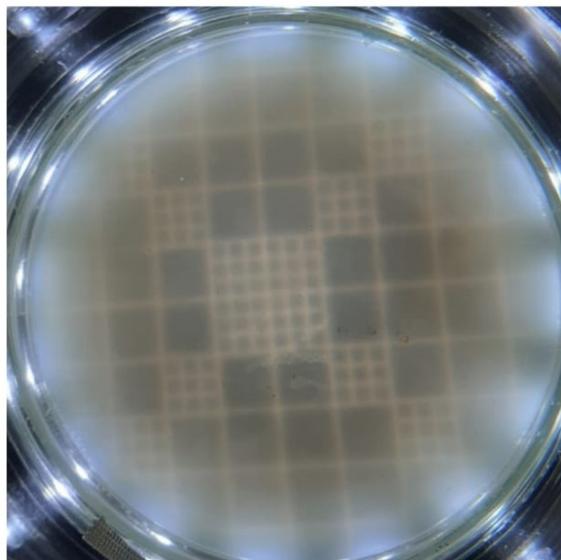


Figura 9: Meio Mueller Hinton / Leite UHT
Fonte: Aatoria da autora.

Nas placas de controle também não houve indicio de formação de colônias, tanto fúngicas, quanto bacterianas, indicando que os testes realizados não foram contaminados, e os resultados foram comprovados (Figuras 10 e 11).

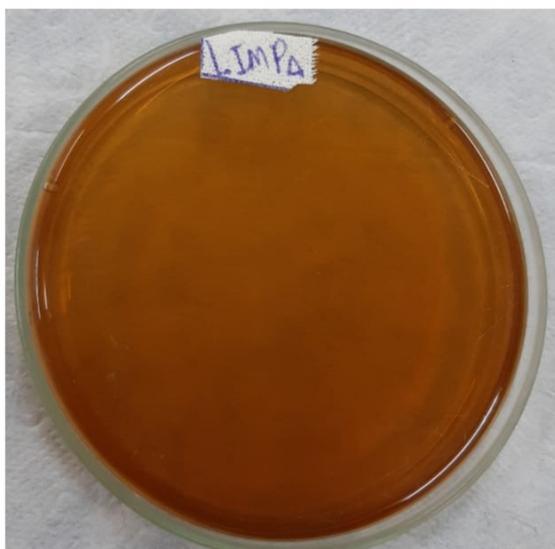


Figura 10: Meio Saboraud / controle.
Fonte: Autoria da autora.

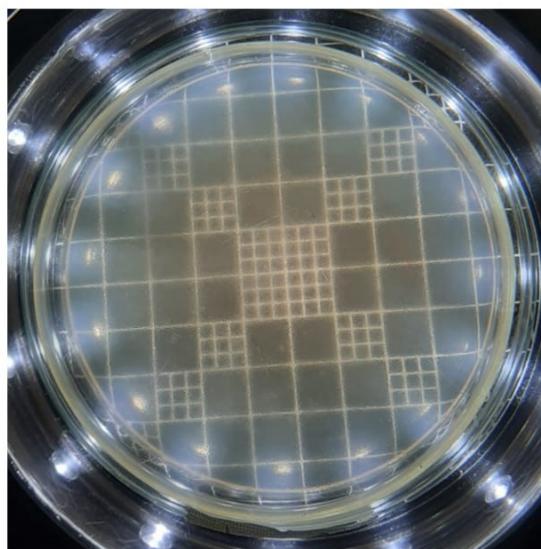


Figura 11: Meio Mueller Hinton / controle.
Fonte: Autoria da autora.

5.3 IDENTIFICAÇÃO MICROSCÓPICA

Foi observado no laboratório de microbiologia da Faculdade de Ensino e Meio Ambiente (FAEMA) que em todas as colônias foi isolado bactérias gram negativas em formato bacilos e cocos. Possivelmente seriam *Enterobacterias* e/ou possíveis *Pseudomonas spp*, que são em formato de bacilos gram negativas e deixam o meio de cultura esverdeado. Foi observado também alguns fungos filamentosos de hifas septadas, e leveduras que deixam o meio de cultura de cor salmão. Esses possivelmente seriam: *Rhodoturula spp*.

Segundo (DOS SANTOS, 2017) os coliformes totais, são pertencentes à família *Enterobacteriaceae* representados pelos gêneros *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter* e *Enterobacter spp* fermentadores da lactose. Relatou em sua pesquisa a presença de coliformes totais, bacilos Gram negativos e

cocos Gram negativos, isso corrobora com parte deste trabalho, devido a identificação presuntiva de bactérias Gram negativas.

No estudo mostrado por (NUNES et al., 2017) houve concentrações elevadas de *Pseudomonas spp* no leite cru, o que corrobora com o presente trabalho. O desenvolvimento de *Pseudomonas spp* pode se dar devido as temperaturas favorecidas ao crescimento da mesma e também aos locais de estocagem contaminados (Figuras 12 e 13).

Identificação semelhantes de *Enterobacterias* e *Pseudomonas spp*, foram encontradas por (BRUZAROSKI et al., 2017) em leites Cru fornecidos a uma indústria de laticínios. Confirmando os resultados obtidos nesta pesquisa (Figuras 12 e 13).

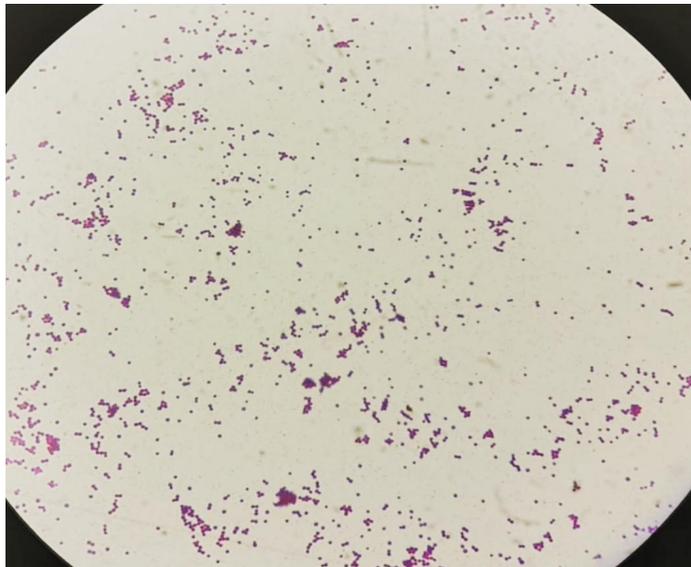


Figura 12: microscopia da amostra do leite apresentando bactérias Gram negativas
Fonte: Autoria da Autora.

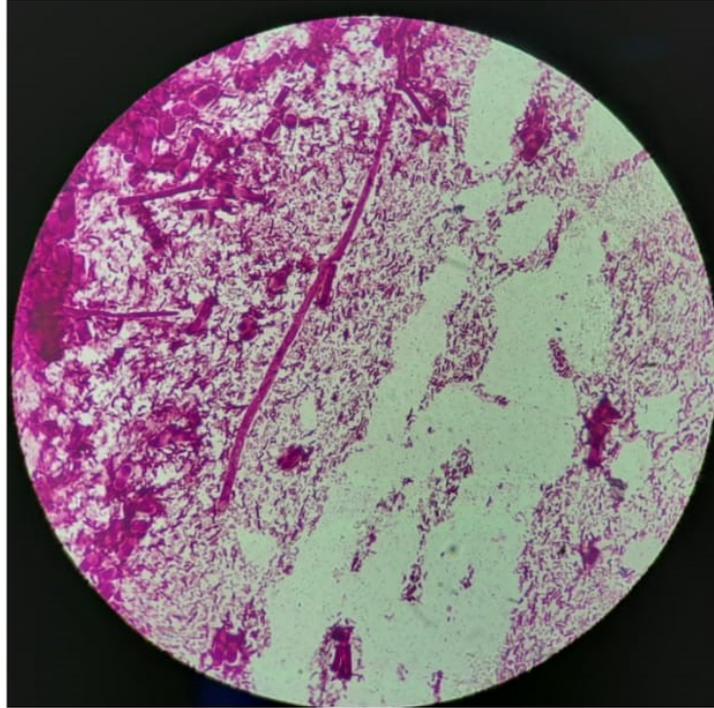


Figura 13: microscopia da amostra do leite apresentando bactérias Gram negativas e fungos filamentosos.

Fonte: Aatoria da Autora.

O artigo de (PICOLI et al., 2014) reuniu resultados de contaminações fúngicas tanto filamentosa quanto de levedura. Validando ainda mais o resultado desta avaliação microbiológica. Relatou também higiene insatisfatória durante o processo de ordenha, esses resultados podem implicar em riscos a saúde pública.

Escreveu (ALVES et al., 2014) sobre a presença de fungos filamentosos e leveduras como por exemplo *C. tropicalis*, *Aspergillus spp*, *Penicillium spp*, e *Rhodotorula spp* em amostras de leites crus transportados e distribuídos informalmente. Isso corresponde com o presente estudo que observou fungos filamentosos e leveduras presente nas (Figura 13 e 14 e 15).



Figura 14: microscopia da amostra do leite apresentando fungos filamentosos.
Fonte: Aatoria da Autora.

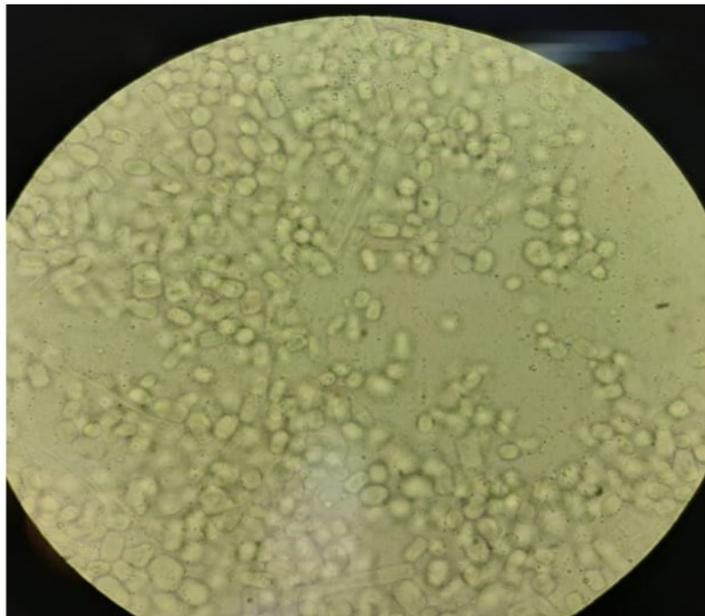


Figura 15: microscopia da amostra do leite apresentando fungos leveduras
Fonte: Aatoria da Autora.

CONCLUSÃO

Por meio dos resultados adquiridos neste trabalho ao ser confrontado com as legislações vigentes, conclui-se que a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) encontrou-se fora dos padrões somente no leite Cru, enquanto no leite UHT e Tipo C a contagem de colônias esta dentro dos padrões exigidos pela legislação.

Os resultados microbiológicos indicaram problemas na qualidade do leite cru, o que pode ser caracterizado por falhas nas condições higiênicas tanto na ordenha como também no controle higiênico-sanitário dos rebanhos, irregularidade nos tanques de transporte e coleta, assim como também armazenamento inadequado. Para que haja um produto de melhor qualidade, seria de extrema importância à conscientização dos produtores, transportadores e regulamentadores do leite cru, podendo prevenir possíveis futuros casos de zoonoses na região.

REFERÊNCIAS

ABIHPEC. **Associação Brasileira da Indústria de Higiene Pessoal, Perfumaria e Cosméticos** 2015. Disponível em: < <https://abihpec.org.br/publicacao/guia-de-microbiologia/>>. Acesso em: 13 de Set. de 2019.

ALVES, Angela Matilde da Silva et al. **Caracterização dos contaminantes fúngicos em leite de tanques de expansão produzidos no estado de Alagoas**. 2014.

AMANCIO, Olga Maria Silverio et al. **A importância do consumo de leite no atual cenário nutricional brasileiro**. São Paulo, Sp: Sban, v. 28, p. 28, 2015.

ANDRADE, U.; HARTMANN, Wellington; MASSON, M. L. **Isolamento microbiológico, contagem de células somáticas e contagem bacteriana total em amostras de leite**. Ars Veterinaria, v. 25, n. 3, p. 129-135, 2010.

AMARAL, Carlos RS do; SANTOS, Esmeralda P. dos. **Leite cru comercializado na cidade de Solânea, PB: caracterização físico-química e microbiológica**. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais, v. 13, n. 1, p. 7-13, 2011.

BRASIL. **Instrução Normativa nº 51, de 18 de setembro de 2002**. Brasília, DF. Disponível em < <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-51-de-18-09-2002,654.html> > acesso em 31 de out. de 2019.

BRASIL. **Instrução normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003**. Brasília, DF. Disponível em < <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html> > acesso em 31 de out. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos**. 2010.

BRASIL. Especial Saúde da Pessoa Idosa – **Alimentação**. 2015.

BRASIL. **Instrução normativa Nº 76 de 26 de out. de 2018**. Brasília, DF. Disponível em < http://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076 > acesso em 31 de out. de 2019.

BRUZAROSKI, Samera Rafaela et al. **Psicrotróficos e Pseudomonas SPP. em Leite Cru Refrigerado**. UNICIÊNCIAS, v. 21, n. 1, p. 12-16, 2017.

CAMILOTTO , Ana Helena Gonçalves. **Fatores Condicionantes da Permanência na Atividade Leiteira de Produtores da Zona da Mata Mineira.** / Ana Helena Gonçalves Camilotto. – 2011.

CAMPOS, Jéssica da Silva. **Avaliação fenotípica, genotípica e termorresistência de leveduras isoladas do leite in natura** / Jéssica da Silva Campos. – 2019

DA COSTA ALVES, Mariana; DA SILVA, Dillian A. Cesar; CHIARELLO, Marileusa D. **Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química do leite comercializado no Distrito Federal no período de janeiro de 2015 a julho de 2017.** Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia, v. 6, n. 3, p. 37-45, 2018.

DANTAS, C.C.O., SILVA, L.C.R.P. e NEGRÃO, F.M. **Manejo sanitário de doenças do gado leiteiro.** PUBVET, Londrina, V. 4, N. 32, Ed. 137, Art. 928, 2010.

DOS SANTOS, Diones Gonçalves. **Análise microbiológica de leite produzido em rondônia e comercializados no município de Porto Velho–RO.** South American Journal of Basic Education, Technical and Technological, v. 4, n. 1, 2017.

FRANÇA, Fabiana Chagas Oliveira et al. **Mudanças dos hábitos alimentares provocados pela industrialização e o impacto sobre a saúde do brasileiro.** I Seminário Alimentação e Cultura na Bahia, Bahia, 2012.

JACQUES, Andressa Carolina. **MICROBIOLOGIA.** 2013

MAIA, Guilherme Baptista da Silva et al. **Produção leiteira no Brasil.** BNDES Setorial, n. 37, mar. 2013, p. 371-398, 2013.

MENEZES, M. F. C. et al. **Microbiota e conservação do leite.** REGET-Revista eletrônica em gestão, educação e tecnologia ambiental, Santa Maria, v. 18, n. 5, p. 76-89, 2014.

MOREIRA, José Luciano Bezerra **Visualização bacteriana e colorações** / José Luciano Bezerra Moreira, Cibele Barreto Mano de Carvalho, Cristiane Cunha Frota - Fortaleza: Imprensa Universitária, 2015.

NUNES, Kleber Barros et al. **Caracterização bioquímica de bactérias psicrotóficas e produção de enzimas termorresistentes em leite cru.** 2017.

PICOLI, Tony et al. **Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de microorganismos em leite cru.** Semina: Ciências Agrárias, v. 35, n. 4, p. 2471-2480, 2014.

ROSSO, Adriele; OLIVEIRA, Josiane Felisberto da Silva de. **Conhecimentos nutricionais e consumo de produtos lácteos: um estudo com estudantes em diferentes instituições de ensino de Medianeira, PR.** 2011. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SALVADOR, et al. **Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região.** F@ P Cien, v. 9, n. 5, p. 30-41, 2012.

SBAN, Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. **a importância do consumo de leite no atual cenário nutricional brasileiro.** 2015

SILVA, Franciele da; SILVA, Gisele da. **Análise microbiológica e físico-química de queijos coloniais com e sem inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR.** 2013. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

SOVINSKI, Ângela Idália et al. **Situação da comercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil.** Arquivos de ciências veterinárias e zoologia da UNIPAR, v. 17, n. 3, 2014.

TOMBINI, Heloisa et al. **Consumo de leite de vaca e derivados entre agricultores da região oeste do Paraná.** Alim. Nutr. Araraquara, v. 23, n. 2, p.267-274, 2012.

UEMURA, Elisa Hizuru. **Coloração de Gram.** 2018. Disponível em <
<https://www.laborclin.com.br/wp-content/uploads/2019/06/GRAM-3.pdf>
>
acesso em 30 de out. de 2019.

VIDAL, Ana Maria Centola V648o **Obtenção e processamento do leite e derivados.** / Ana Maria Centola Vidal, Arlindo Saran Netto (Orgs). — Pirassununga : Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018.

VOGES, Joana Gerent et al. **Qualidade da água e do leite em propriedades leiteiras do planalto norte de santa catarina.** Archives of Veterinary Science, v. 22, n. 3, 2017.