

ANÁLISE DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE LATICÍNIO UTILIZANDO MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS: COLIFORMES E ENTEROBACTÉRIAS E SUA CORRELAÇÃO

Remili Cristiani Grando ¹

Jaqueline de Oliveira ²

Vanessa Gomes da Silva ³

Naiane Miriam Malherbi ⁴

Larissa Canhadas Bertan ⁵

Cátia Tavares dos Passos ⁶

Resumo:

O presente estudo teve por objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária de um laticínio produtor de leite pasteurizado, utilizando parâmetros microbiológicos de qualidade, e correlacionar os resultados obtidos com o intuito de sugerir novo parâmetro de qualidade. Foram realizadas três coletas de dados, em diferentes dias, sendo estas realizadas em duplicata. Os principais pontos de coleta das amostras foram de equipamentos, móveis, utensílios, produção e transporte do alimento. As coletas de amostras de superfícies foram realizadas por Swab, com padrão de 100 cm² ou 25 cm², e posteriormente. Para produção e transporte do alimento, foi coletado 200 mL de cada amostra. Para todos os pontos de coleta, fez-se análises de coliformes a 35°C e 45°C, e enumeração de enterobactérias. Por meio dos resultados obtidos, constatou-se presença de coliformes a 35°C e enterobactérias na tubulação do caminhão, porém essa contagem de coliformes a 35°C não significa que havia presença de contaminação fecal ou de enterobactérias patogênicas, mas indica que possuía necessidade de melhorar a higiene da linha de obtenção do produto. Obteve-se um bom coeficiente de correlação comparando a enumeração de enterobactérias e de coliformes a 35°C. O produto estava livre de contaminação por microrganismos patogênicos. A utilização de enterobactérias revelou-se como um bom indicador de qualidade higiênico sanitária em substituição a técnica tradicional da enumeração de coliformes, sendo uma ferramenta útil no controle de qualidade.

Palavras-chave: Leite pasteurizado; Controle de Qualidade; Enterobacteriaceae; Indicador de Qualidade.

Modalidade de Participação: Pesquisador

ANÁLISE DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE LATICÍNIO UTILIZANDO MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS: COLIFORMES E ENTEROBACTÉRIAS E SUA CORRELAÇÃO

¹ Aluno de pós-graduação. remili.grando@gmail.com. Autor principal

² Aluno de graduação. jaquelineoliveira1995ea@gmail.com. Co-autor

³ Técnico Administrativo em Educação. vanessaluizacunha@gmail.com. Co-autor

⁴ Aluno de pós-graduação. n.malherbi@gmail.com. Co-autor

⁵ Docente. larissa.bertan@uffs.edu.br. Co-autor

⁶ Docente. catia.passos@uffs.edu.br. Co-orientador



ANÁLISE DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE UM LATICÍNIO UTILIZANDO MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS: ANÁLISE DE COLIFORMES E ENTEROBACTÉRIAS E SUA CORRELAÇÃO

1. INTRODUÇÃO

O leite é um produto que apresenta elevado valor nutricional, pois contém vitaminas, gorduras, proteínas carboidratos, sais minerais e água. A contaminação do leite pode ocorrer durante ou após a ordenha, pelos microrganismos presentes nos tetos da vaca ou pela higienização e ordenha realizadas de forma incorreta. Além disso, também pode ocorrer durante o transporte, processamento, armazenamento e distribuição (SALVADOR et al., 2012).

O processo de pasteurização é de extrema importância para garantir a segurança microbiológica do produto e reduzir possíveis riscos de doenças veiculadas por alimentos. Esse processo visa a destruição de microrganismos patogênicos presentes no leite, de forma a não alterar significativamente as características sensoriais e intrínsecas do produto (LATORRE et al., 2010).

A qualidade microbiológica do leite pasteurizado depende tanto da qualidade da matéria-prima, quanto da adequada pasteurização, da adoção das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e, também, do controle da temperatura após o tratamento térmico. Portanto, é fundamental avaliar a qualidade do processo, através do uso de ferramentas de controle de qualidade, baseando-se nos seguintes parâmetros: condições de higiene em que foi preparado, riscos que pode oferecer à saúde do consumidor, vida útil requerida e se está dentro dos limites estabelecidos pela legislação vigente (ALMEIDA, 2006).

A utilização de grupo coliformes como indicador da qualidade higiênico-sanitária de alimentos é uma prática já consolidada e a presença desses em leite indica que as práticas de higiene adotadas durante a ordenha e nas etapas subsequentes foram precárias. Além disso, a detecção de coliformes termotolerantes é utilizada como um índice de contaminação recente e indica que microrganismos de origem fecal, inclusive patogênicos, possam estar presentes (OLIVEIRA, 2005; SALVADOR et al., 2012).

A indústria de lácteos utiliza o grupo de coliformes para indicar a presença de mais de 20 gêneros de bactérias Gram-negativas, bacilares, não formadores de esporos, que não têm a capacidade de sobreviver à tratamentos térmicos, como a pasteurização. Portanto, nestes casos, os coliformes atuam como indicadores de contaminação pós pasteurização (MASIELLO et al., 2016). Na Europa têm-se utilizado como indicador de qualidade em laticínios a família taxonômica *Enterobacteriaceae*, composto por bactérias Gram negativas, fermentadoras de glicose e termolábeis, estando associados a este grupo, microrganismos deteriorantes e o grupo coliformes, além de outros patogênicos entéricos (HERVERT, et al., 2016), tendo portanto, um maior espectro de detecção de patogênicos.

Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária de um laticínio produtor de leite fluido pasteurizado, utilizando parâmetros microbiológicos de qualidade e correlacionar os resultados encontrados, com o intuito de sugerir novo parâmetro de qualidade.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho investigou uma indústria processadora de leite fluido pasteurizado, com capacidade de produção de 50mil L.mês⁻¹. A coleta das amostras seguiu metodologia proposta por Santana et al. (2009) com modificações, onde foram realizadas 3 coletas, em dias diferentes. Todas as análises microbiológicas foram baseadas nas metodologias propostas pela APHA (*American Public Health Association*) e foram realizadas em duplicata. Todas as amostras foram acondicionadas em caixas térmicas com gelo e levadas ao laboratório, onde foram imediatamente analisadas, não ultrapassando 2h.

A Tabela 1, apresenta os pontos de coleta de amostras. As amostras das superfícies foram realizadas por *Swab*, utilizando um padrão de 100 cm² ou 25 cm², de acordo com o tamanho da superfície, sendo coletadas em tubos de diluição contendo água peptonada 0,1% e solução de tiosulfato de sódio 0,25%. Foram realizadas análises de coliformes 35°C e 45°C, utilizando *Petrifilm* EC (SILVA et al., 2010a).

Também foram coletadas amostras de 200 mL de leite cru, no caminhão e no tanque resfriador, em frascos estéreis, além de embalagens fechadas de leite pasteurizado. As análises de coliformes a 35°C e 45°C para estas coletas foram realizadas pela técnica dos tubos múltiplos. A enumeração de Enterobactérias para todos os pontos foi realizada utilizando ágar VRBG (35°C/24h).

Tabela 1: Pontos selecionados para coleta das amostras e respectivas análises microbiológicas.

Bloco	Ponto
Equipamentos, móveis e utensílios	Tanque do caminhão
	Tubulação do caminhão
	Resfriador
	Tubulação posterior ao pasteurizador
	Tanque pulmão
Produção e transporte do alimento	Leite cru – caminhão
	Leite cru – resfriador
	Leite pasteurizado

Fonte: Elaborados pelos autores.

3. RESULTADOS e DISCUSSÃO

Ao realizar a avaliação dos equipamentos, móveis e utensílios do laticínio, constatou-se que para os coliformes a 35°C e para as enterobactérias as maiores contagens foram encontradas na tubulação do caminhão ($1,87 \times 10^3$ NMP/cm² e $2,49 \times 10^3$ UFC/cm²), como apresentado na Tabela 2. Foram observadas as contagens de: $6,26 \times 10^2$ NMP/cm² e $1,53 \times 10^3$ UFC/cm² na tubulação anterior ao pasteurizador, seguidos de $1,43 \times 10^3$ NMP/cm² e $3,03 \times 10^2$ UFC/cm² no tanque do caminhão e de $1,07 \times 10^2$ NMP/cm² e $6,35 \times 10^1$ UFC/cm² no tanque resfriador. Na tubulação posterior ao pasteurizador e no tanque pulmão não houve contagem, similarmente ao que ocorreu com os coliformes a 45°C para todos os pontos, salvo para o tanque do caminhão ($3,33 \times 10^{-1}$ NMP/cm²).

No presente trabalho as médias para coliformes a 35 e 45°C foram $4,58 \times 10^2$ NMP/cm² e $5,55 \times 10^{-2}$ NMP/cm², respectivamente. Estes valores podem ser comparados com os de Silva et al. (2011), que avaliaram os equipamentos e

utensílios utilizados em dez laticínios da região do Rio Pomba, em Minas Gerais, e encontraram uma média de $1,49 \times 10^3$ NMP/cm² para coliformes a 35°C e $4,46 \times 10^2$ NMP/cm² para coliformes a 45°C. Desta forma, percebe-se que as contagens de coliformes a 35°C foram semelhantes em ambos os trabalhos, porém, a contagem de coliformes a 45°C no presente estudo foram inferiores. Isso pode indicar que, no laticínio investigado, o risco de contaminação por *Escherichia coli* foi menor. A contagem de coliformes a 35°C foi elevada, no entanto, isto não significa que havia contaminação fecal ou presença de enterobactérias patogênicas (FRANCO; LANDGRAF, 2008), mas indica que os processos de obtenção da matéria-prima, higienização do ambiente e dos equipamentos precisavam ser revisados e melhorados.

Tabela 2: Enumeração de coliformes a 35 e 45°C e de enterobactérias em diferentes superfícies de equipamentos do laticínio.

Amostras	Microrganismos		
	Coliformes 35°C (NMP/cm ²)	Coliformes a 45°C (NMP/cm ²)	Enterobactérias (UFC/cm ²)
Tanque do caminhão	$1,43 \times 10^2$	$3,33 \times 10^2$	$3,03 \times 10^2$
Tubulação do caminhão	$1,87 \times 10^3$	>10	$2,49 \times 10^3$
Resfriador	$1,07 \times 10^2$	>10	$6,35 \times 10^1$
Tubulação anterior ao pasteurizador	$6,26 \times 10^2$	>10	$1,53 \times 10^3$
Tubulação posterior ao pasteurizador	0,00	>10	$1,73 \times 10^0$
Tanque pulmão	0,00	>10	>10

Fonte: Elaborado pelos autores.

A fim de verificar a relação entre a contagem de coliformes a 35°C, e enterobactérias nas superfícies, realizou-se análise de correlação onde se obteve, conforme pode ser observado na Figura 1, um coeficiente de correlação (R^2) de 0,92, considerado bom, uma vez que Beloti et al., (2015) afirmam que coeficientes de correlação superiores 0,90 indicam forte correlação entre os dados. Esse resultado já era esperado, pois o grupo *Enterobacteriaceae* já tem sido utilizado em muitos países, principalmente da Europa, como substituto do grupo coliformes, no que diz respeito aos indicadores de qualidade higiênico-sanitária de indústrias processadoras de leite.

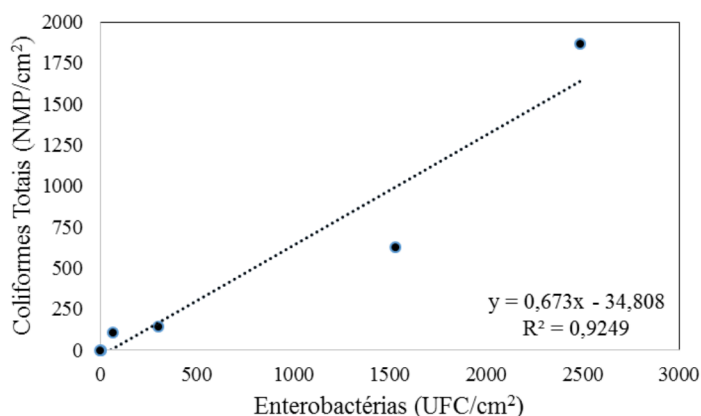


Figura 1. Comparação entre o número de coliformes totais (a 35°C) pelo método NMP e o número de enterobactérias pela contagem padrão em ágar VRBG.

A contagem de enterobactérias (Tabela 2) foi superior a contagem de coliformes a 35°C, indo ao encontro dos dados apresentados por Hervert et al. (2016), que explicam que a utilização da família *Enterobacteriaceae* como indicador do estado higiênico dos produtos lácteos e de ambientes de processamento é mais eficiente, quando comparada com o grupo coliformes, uma vez que este estudo comprovou que até 100% dos coliformes podem ser detectados por este método, além de detectar a presença de outros patógenos como *Yersinia*, *Salmonella* e *Shigella*.

A Tabela 3 apresenta os resultados das análises microbiológicas realizadas para o leite, como pode ser observado, o leite cru não apresentou contagem de coliformes a 45°C. Também não foram encontrados indicadores da presença de microrganismos patogênicos no tanque do caminhão. Logo, pode-se sugerir que os coliformes que foram encontrados nas superfícies estavam, provavelmente, aderidos a um biofilme, resultantes de contaminação de cargas anteriores e que não foram removidos nos processos de higienização. O contato do alimento com superfícies inertes, onde há aderência bacteriana, poderá resultar em contaminação dos mesmos, o que aumenta o risco de disseminação de doenças (BOWER; MCGUIRE; DAESCHEL, 1996; HOOD; ZOTTOLA, 1997; KUMAR; ANAND, 1998; STICKLER, 1999).

Tabela 3: Enumeração de coliformes a 35 e 45°C e enterobactérias em leite cru, coletado do caminhão e do tanque resfriador e em leite pasteurizado produzido no laticínio.

Amostra	Microrganismos		
	Coliformes 35°C (NMP/cm ²)	Coliformes a 45°C (NMP/cm ²)	Enterobactérias (UFC/cm ²)
Leite cru (caminhão)	8,87x10 ²	0,00	1,97 x10 ⁵
Leite cru (resfriador)	7,64 x10 ³	0,00	1,05 x10 ⁵
Leite pasteurizado	0,00	0,00	0,00

Fonte: Elaborado pelos autores.

Não há uma legislação que indique um limite máximo aceitável para enterobactérias. Entretanto, sua presença indica falhas no processo de produção e armazenamento do leite, e assim como para os coliformes, algumas enterobactérias são patogênicas e representam risco para a saúde pública (FRANCO; LANDGRAF, 2008; OLIVEIRA et al., 2012). Portanto, trabalhos que enfoquem a análise de enterobactérias em leite poderão colaborar para a consolidação de novos métodos oficiais de indicadores de contaminação, apresentando como vantagem a maior facilidade e rapidez na obtenção dos resultados com a aplicação deste método.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados mostraram que, embora o produto estivesse livre de contaminação, que a utilização de ferramentas de controle de qualidade são úteis para determinar o risco de contaminação de um estabelecimento produtor de alimentos. Também foi demonstrando que o uso das enterobactérias como indicadores da qualidade em laticínios é uma técnica viável, prática e que se

correlaciona bem com a contagem de coliformes a 35°C, apresentando, portanto, viabilidade para ser utilizada como análise de indicação da qualidade higiênico sanitária em laticínios, em substituição a técnica tradicional da enumeração de coliformes a 35°C.

5. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. O. DE. Controle rápido da eficiência e segurança do processo de pasteurização do leite (HTST – High Temperature Short Time). 113f.2006. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva) UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JULIO DE MESQUITA FILHO”, 2006.
- BELOTI, V. et al. Enumeração de microrganismos psicrotróficos e termodúricos psicrotróficos de leite: comparação de metodologias. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*, v. 70, n. 1, p. 17–23, 2015.
- BOWER, C. K.; MCGUIRE, J.; DAESCHEL, M. A. The adhesion and detachment of bacteria and spores on food-contact surfaces. *Trends in Food Science & Technology*, v. 7, 1996.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia dos Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.
- HERVERT, C. J. et al. Evaluation of different methods to detect microbial hygiene indicators relevant in the dairy industry. *Journal Dairy Science*, v. 99, p. 7033–7042, 2016.
- HOOD, S. K.; ZOTTOLA, E. A. Adherence to stainless steel by foodborne microorganisms during growth in model food systems. *International Journal of Food Microbiology*, v. 37, p. 145–153, 1997.
- KUMAR, C. G.; ANAND, S. K. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, v. 42, p. 9–27, 1998.
- LATORRE, A. A. et al. Biofilm in milking equipment on a dairy farm as a potential source of bulk tank milk contamination with *Listeria monocytogenes*. *Journal Dairy Science*, v. 93, n. 6, p. 2792–2802, 2010.
- MASIELLO, S. N. et al. Identification and characterization of psychrotolerant coliform bacteria isolated from pasteurized fluid milk. *Journal Dairy Science*, v. 99, p. 130–140, 2016.
- OLIVEIRA, R. P. DE S. Condições microbiológicas e avaliação da pasteurização em amostras de leite comercializadas no município de Piracicaba-SP. 97f.2005. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade de São Paulo, 2005.
- SALVADOR, F. C. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região. *Revista Fapciência*, v. 9, n. 5, p. 30–41, 2012.
- SILVA, N. B. N. DA et al. Avaliação microbiológica de equipamentos e utensílios utilizados em laticínios da região de Rio Pomba - MG. *Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes*, v. 66, n. 378, 2011.
- SILVA, N. et al. *Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água*. 4. ed. São Paulo: Varela, 2010a.
- STICKLER, D. Biofilms. *Current Opinion in microbiology*, v. 2, p. 270–275, 1999.