

## ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DE IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA PRESENTES EM PRODUTOS LÁCTEOS PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NA BACIA LEITEIRA DE PELOTAS- RS

LETÍCIA FRIDHIN DA COSTA<sup>1</sup>; WESLEY PORTO DE OLIVEIRA<sup>2</sup>; BRUNA GAROFALI SIMONE DRABER<sup>2</sup>; DANIELE BONDAN PACHECO<sup>2</sup>; NATACHA DEBONI CERESER<sup>3</sup>; HELENICE GONZALEZ DE LIMA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>[Universidade Federal de Pelotas – leticiafc@gmail.com](mailto:leticiafc@gmail.com)

<sup>2</sup>[Universidade Federal de Pelotas – mvetwesley@gmail.com](mailto:mvetwesley@gmail.com)

<sup>2</sup>[Universidade Federal de Pelotas –bruna.draber@gmail.com](mailto:bruna.draber@gmail.com)

<sup>2</sup>[Universidade Federal de Pelotas – danielebondan@outlook.com](mailto:danielebondan@outlook.com)

<sup>3</sup>[Universidade Federal de Pelotas –natacha.cereser@ufpel.edu.br](mailto:natacha.cereser@ufpel.edu.br)

<sup>3</sup>[Universidade Federal de Pelotas – helenice@ufpel.edu.br](mailto:helenice@ufpel.edu.br)

### 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui um dos maiores rebanhos produtivos do mundo, ocupando lugar de destaque na produção mundial de leite. Para chegar ao consumidor, o leite e seus derivados passam por diversas etapas, que vão desde a ordenha das vacas nas propriedades rurais até a sua distribuição no comércio. Todos esses produtos devem ser inspecionados por uma das autoridades competentes das esferas federal, estadual ou municipal, que irão fiscalizar as práticas higiênico-sanitárias utilizadas em toda a cadeia produtiva. Porém, sabe-se que, atualmente, ainda existe a venda e consumo de leite e derivados que não foram inspecionados (clandestinos), o que pode acarretar em riscos à saúde da população (FLORINDO, 2021).

Muitas são as enfermidades que podem ser transmitidas por esses alimentos sem inspeção, como, por exemplo, a salmonelose e a listeriose. O fato se agrava tendo em vista que o leite e os produtos lácteos compõem a dieta de muitas crianças, idosos e pessoas imunocomprometidas, o que pode tornar esse quadro mais grave (MARTINS, 2013).

Um número significativo de consumidores ainda não está atento às informações sobre essas enfermidades que podem ser transmitidas por alimentos. A vigilância sanitária tem como missão promover e proteger a saúde da população, com ações capazes de eliminar ou prevenir riscos à saúde, decorrentes da alimentação (SIRTOLI e COMARELLA, 2018).

Por outro lado, as bactérias ácido lácticas (BAL) pertencem a um grupo de diferentes bactérias não patogênicas largamente encontradas na natureza, que são micro-organismos gram positivo, catalase negativo, podendo apresentar-se na forma de cocos ou bacilos. Esse grupo de bactérias é bastante empregado na produção de alimentos, como leites fermentados, iogurtes e queijos, bem como no processamento de carnes e bebidas alcoólicas. Alguns micro-organismos desse grupo podem contribuir para a extensão da vida útil do alimento, além de modificar suas propriedades sensoriais, interferindo na intensidade do sabor e aroma dos alimentos fermentados (FREIRE E FERREIRA, 2021).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo analisar leite in natura, queijos e manteigas sem inspeção para isolamento de bactérias de importância em saúde pública e BALs, oriundos de propriedades de produção leiteira, feiras de comercialização de produtos da agricultura familiar e estabelecimentos comerciais da região da bacia leiteira de Pelotas-RS.

## 2. METODOLOGIA

O experimento foi conduzido no Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal da Universidade Federal de Pelotas (LIPOA-UFPEL). Foram coletados e analisados um total de 24 amostras, entre eles, 16 queijos, 5 manteigas e 3 leites in natura, por meio de busca ativa, em unidades de produção de leite, feiras de comercialização de produtos da agricultura familiar e estabelecimentos comerciais da região da bacia leiteira de Pelotas-RS.

As coletas de leite ou queijo foram feitas preferencialmente na sua embalagem de origem, ou de forma asséptica em um recipiente previamente esterilizado, em quantidade de no mínimo 100 ml ou 100 g. As amostras foram identificadas numericamente, acondicionadas em caixa isotérmica com gelo retornável, assegurando temperatura menor que 7°C e protegidas da luz, até que sejam encaminhadas em no máximo 48 horas ao LIPOA-UFPEL, para realização das análises microbiológicas.

Durante o momento da coleta da amostra, foi preenchida uma ficha com intuito de numerar, identificar a origem da amostra láctea (município/propriedade), data de fabricação, modo e temperatura de acondicionamento no momento da coleta.

Para as análises microbiológicas das amostras de leite e queijo para bactérias potencialmente patogênicas, foram realizadas as exigidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Essas análises foram realizadas conforme a exigência para cada tipo de produto: para queijo foi realizada a pesquisa de *Salmonella* spp., e de *Listeria monocytogenes*, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli* e de Bolores e Leveduras e, no caso de leite cru, contagem de Enterobactérias (ANVISA, 2019).

Para as amostras líquidas, foram realizadas diluições seriadas conforme a recomendação da metodologia, e, para amostras sólidas, foram realizadas a homogeneização, em stomacher, de 25g da mesma em 225ml de água peptonada tamponada, considerando como diluição  $10^{-1}$ , para então dar seguimento às diluições e processamento.

Quanto ao isolamento de bactérias ácido lácticas, foi realizado conforme metodologia recomendada pela EMBRAPA (THIELMANN & ARCURI, 2000), da seguinte maneira: uma alíquota de vinte e cinco gramas ou mL da amostra láctea foi adicionada à 225 mL de água peptonada 0,1%. Após homogeneização, foram realizadas diluições seriadas da amostra até a diluição  $10^{-5}$ . Para isolamento das bactérias ácido lácticas, com o auxílio de uma alça de Drigalski, foi realizada a inoculação de 0,1ml de cada diluição na superfície dos meios MRS. As placas foram incubadas a 30°C em microaerofilia por 72 horas. Os isolados de coloração Gram positiva que apresentaram reação negativa ao teste da catalase foram considerados presuntivamente BAL e armazenados (em meio Litmusmilk sob congelamento a -20 °C) para posterior análise pela Embrapa Gado de Leite - Juiz de Fora.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Da amostra de leite analisada foi contabilizado  $5,3 \times 10^5$  UFC/ml para *Enterobacteriaceae*, comparando com o limite estabelecido para leite pasteurizado que é de no máximo 5 UFC/ml, segundo a IN60/2019 da Anvisa, esta amostra encontra-se fora dos padrões exigidos para consumo.

Das amostras de queijo analisadas, para contagem de *Escherichia coli*, 1 amostra apresentou contagem superior ao permitido que é de  $10^2$ , 5 estavam dentro do padrão estabelecido, e as demais amostras não foram analisadas (IN 60/2019).

Para contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*, 10 amostras estavam com contagem superior ao permitido pela legislação, e as demais estavam dentro dos padrões (IN 60/2019). Segundo SCHER (2018) em um trabalho com amostras de alimentos comercializados informalmente apresentaram percentual de contaminação por *Escherichia coli* de 77,77% e quanto a presença de bactérias do gênero *Staphylococcus sp*, apresentaram resultado positivo 6 das 9 amostras informais/artesanais (66,66 %).

Com relação a contagem de bolores e leveduras, 12 apresentaram contagens maiores que o permitido, 2 estavam dentro dos padrões, e as demais amostras não foram analisadas. Em comparação, em m trabalho realizado por RIBAS em 2019, a contagens de bolores e leveduras para oito queijos analisados indicaram variação entre  $1,75 \times 10^3$  UFC/g a  $9,30 \times 10^4$  UFC/g, com média de  $2,25 \times 10^4$  UFC/g. (Ribas, 2019).

Na pesquisa de *Salmonella*, para das amostras de queijos foi possível isolar em um dos produtos comercializados. Ressaltando que a legislação se determina ausência do mesmo em 25g de queijo (IN 60/2019). No trabalho de CLAUDINO (2018), foi realizado uma pesquisa em feiras livres em Garanhuns- PE onde foi isolada *Salmonella spp* em, 8 do total de 12 amostras de queijo coalho (66,7%).

Para pesquisa de *Listeria monocytogenes*, 13 apresentaram ausência da mesma e 2 amostras não foram analisadas. No trabalho de SOUZA, 2020 sobre queijo Coalho produzidos e comercializados em uma cidade do interior da Paraíba, 4 amostras das 7 analisadas estava presente a *Listeria monocytogenes*.

Quanto ao isolamento de bactérias ácido lácticas, foram utilizadas 17 amostras incluindo queijos, manteigas, leites e colostros. Para cada amostra que houve crescimento bacteriano em placas, foram selecionadas colônias para posterior análise de catalase, coloração de gram e avaliação da morfologia bacteriana. Ao total foram 85 colônias testadas, das quais 49 foram selecionadas presuntivamente como BAL, 9 isolados com a morfologia de cocos, 22 isolados foram cocobacilos e com morfologia de bacilo foram 18 isolados.

#### 4. CONCLUSÕES

Foram encontradas bactérias de interesse em saúde pública em alimentos para o consumo humano, o que pode significar que houve uma falha na manipulação ou preparo desses alimentos. A presença de bactérias patogênicas como a *E. coli*, *Salmonella spp*. e uma alta contagem *Staphylococcus coagulase positiva* em alimentos podem acarretar problemas a saúde do consumidor.

Sendo assim, é indispensável que a vigilância sanitária continue promovendo campanhas e divulgação de pesquisas como essa, com a intenção de educar e orientar a população, no que se refere aos riscos de consumir alimentos manipulados da forma incorreta e sem uma supervisão dos sistemas de inspeção podem trazer a saúde do consumidor.

Foram identificadas presuntivamente BALS em alguns leites crus e queijos sem inspeção. Esses isolados podem vir a ser identificados como úteis para a produção de iogurtes, leites fermentados e outros produtos lácteos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CLAUDINO, Aline Raaby Ferreira. Pesquisa de Salmonella spp. em queijos de coalho comercializados em feiras livres de Garanhuns - PE. 2018. 49 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Medicina Veterinária) – Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2018.

FLORINDO, A.S.M. Avaliação do Consumo de Leite e Derivados Informais, no Município de São Carlos, Brasil. ARS Veterinária, Jaboticabal, SP, v.37, n.2, 074-082, 2021. Acesso em 14/07/2022. Disponível em: <http://arsveterinaria.org.br/ars/article/view/1402/1357>

FREIRE, T. T.; SILVA, A. L. T. e .; FERREIRA, B. K. O. .; SANTOS, T. M. dos . Lactic acid bacteria its characteristics and importance: review. Research, Society and Development, [S. l.], v. 10, n. 11, p. e513101119964, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i11.19964. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/19964>. Acesso em: 19 jul. 2022.

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 60, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2019. Disponível em: [https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2019/IN\\_60\\_2019\\_COMP.pdf](https://bvsm.sau.gov.br/bvs/sau/legis/anvisa/2019/IN_60_2019_COMP.pdf)

MARTINS, A.M.C.V. Avaliação do Consumo do Consumo de Leite e Produtos Lácteos Informais e do Conhecimento da População Sobre Os Seus Agravos a Saúde Pública, em um Município do Estado de São Paulo, Brasil. B. Industr.anim., N. Odessa,v.70, n.3, p.221-227, 2013.

RIBAS, M.M. Avaliação Microbiológica de Queijos Coloniais Produzidos no Município de Roque Gonzales, Rio Grande do Sul. Cerro Largo, 2019.

SIRTOLI, D. B. e COMARELLA. L. Papel da Vigilância Sanitária na Prevenção das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento** vol.12, n.10, 2018. Disponível em: <https://revistasuninter.com/revistasau/revistasau/index.php/sau/Desenvolvimento/article/view/878>

SCHER, D. D. et al. Ocorrência de Escherichia coli e Staphylococcus sp. em queijos do tipo minas frescal comercializados em feiras livres e supermercados no Oeste do Paraná. Brazilian Journal of Food Research, Campo Mourão, v. 9, n. 4, p. 105-120, out./dez. 2018. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rebrapa>

SOUSA, M. L. F. de .; SOUSA, M. . M. de .; PAZ, E. . de O. .; CAVALCANTI, M. da S. Microbiological evaluation of handicraft cheese produced and commercialized in a city in the interior of Paraíba. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 8, p. e999986663, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i8.6663. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/6663>. Acesso em: 10 aug. 2022.