

**ASSOCIAÇÃO RANIERI DE EDUCAÇÃO E CULTURA
FACULDADES INTEGRADAS DE BAURU – FIB
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

JOÃO PEDRO MARTINS DO VALLE

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Escherichia coli* EM AMOSTRAS DE LEITE
IN NATURA VENDIDOS INFORMALMENTE POR PRODUTORES RURAIS
NA REGIÃO DE BARIRI – SP.**

**BAURU – SP
2022**

JOÃO PEDRO MARTINS DO VALLE

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Escherichia coli* EM AMOSTRAS DE LEITE
IN NATURA VENDIDOS INFORMALMENTE POR PRODUTORES RURAIS
NA REGIÃO DE BARIRI – SP.**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Graduação em
Agronomia como requisito para
obtenção do título de bacharel em
Agronomia das Faculdades Integradas de
Bauru – FIB.

Orientadora: Ma. Marina Lais Sabião
de Toledo Piza

AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *Escherichia coli* EM AMOSTRAS DE LEITE *IN NATURA* VENDIDOS INFORMALMENTE POR PRODUTORES RURAIS NA REGIÃO DE BARIRI – SP

João Pedro Martins do Valle¹; Marina Lais Sabião de Toledo Piza²;

¹Aluno de Agronomia – Faculdades Integradas de Bauru – FIB –
joao.martinsvalle@hotmail.com;

²Professora do curso de Agronomia – Faculdades Integradas de Bauru – FIB
marinalstpiza@gmail.com.

RESUMO

O leite é um dos principais alimentos ingeridos pelo homem e dessa forma além de ser rico em nutrientes que auxiliam na funcionalidade do nosso organismo junto com eles pode estar incluso bactérias que acaba contaminando o consumidor final do produto e seus derivados. Devido tal argumento, a realização deste trabalho visa mostrar para os consumidores a importância do não consumo do leite cru e optar pelo consumo do leite que siga as normas legislativas estabelecidas para o consumo humano. Dessa forma o objetivo dessa pesquisa foi verificar a qualidade microbiológica visando encontrar a presença de coliformes em 10 amostras coletadas com produtores rurais distintos na cidade de Bariri – SP. Conclui-se que 100% das amostras que foram coletas mediante comercialização informal de leite estão contaminadas com a bactéria *Escherichia coli* acima do permitido pela instrução normativa N°76 de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), podendo assim ser um risco a saúde do consumidor.

Palavras-chave: Legislação, consumir, coliformes.

ABSTRACT

Milk is one of the main foods ingested by man and therefore, in addition to being rich in nutrients that help in the functionality of our organism, together with them, it may include bacteria that end up contaminating the final consumer of the product and its derivatives. Due to this argument, this work aims to show consumers the importance of not consuming raw milk and opting for the consumption of milk that follows the legislative standards established for human consumption. Thus, the objective of this research was to verify the microbiological quality in order to find the presence of coliforms in 10 samples collected from different rural producers in the city of Bariri - SP. All samples collected showed *Escherichia coli* contamination with values from 2×10^1 CFU to 2.21×10^2 , which may indicate poor hygiene in the collection process. It is concluded that the consumption of pasteurized milk following the legislation is safer compared to the consumption of raw milk that does not follow current legislation.

Keywords: Legislation, consume, coliforms.

1. INTRODUÇÃO

O leite é uma commodities agropecuário mais importante e diariamente são consumidos bilhões de litros. Esse consumo é devido ao seu alto teor de nutrientes e um custo-benefício elevado. O leite pode servir como refeição principal (leite UHT) bem como ingrediente de receitas para seus derivados, tais como queijos, bolos, leite condensado, iogurtes assim como vários outros produtos da agroindústria (SIRQUEIRA, 2019).

Cerca de um bilhão de pessoas dependem do leite para a sobrevivência, dessa forma 10% da população mundial dependem da comercialização da produção leiteira (MOORE, 2016). No ano de 2021 a produção de leite registrada no Brasil foi de 35,3 bilhões de litros, tais números mostram que não houve um aumento em comparação ao ano de 2020 (BELANDI, 2022). Desde 2014, indicadores do consumo do leite estão estagnados no Brasil, sendo assim, a produção de leite também. Entre os anos de 2000 a 2014 a produção de leite no Brasil aumentou 5,2%, já nos anos de 2014 a 2020 o crescimento foi de apenas 0,5% (RENTEIRO, 2021).

Além de o leite ser uma fonte de renda para parte da população mundial, o leite é uma fonte de nutrientes importante devido a sua concentração de macro e micronutrientes como cálcio, magnésio, selênio, riboflavina, vitamina B12 e ácido pantotênico (vitamina B5) (SIRQUEIRA, 2019).

A baixa qualidade do leite *in natura* é conhecida nacionalmente e o principal parâmetro para se analisar a qualidade do leite fazendo análise microbiológica (NERO et al, 2009). A má qualidade do leite pode ser causada pela falta de higiene antes, durante ou até pós ordenha, e como consequência observa-se a presença de a mastite bovina. O Brasil por muito tempo apresentou problemas relacionados a produção leiteira como por exemplo a falta de qualidade na produção de leite *in natura*, baixa produtividade e sazonalidade na oferta. O leite de má qualidade pode acarretar grandes prejuízos para as empresas de laticínios que podem perder aproximadamente 7,6% da produção total de leite (LINHARES et al, 2021)

A mastite tem a capacidade de alterar a composição do leite e a quantidade de leite produzido, que apresenta redução de porcentagens de gorduras, lactose e caseína assim como outras composições (RODRIGUES, 2009). Mais de 90% das mastites estão relacionados a inflamações mamárias e podem ser causadas por fungos, leveduras entre outros. (LINHARES et al, 2021)

Para o grupo de bactérias Coliformes, existe mais de 25 espécies bacterianas que podem ser encontradas em ambientes naturais ou algumas que são originárias do trato gastrointestinal, assim como a *Escherichia coli*. Essas bactérias quando encontradas em alimentos podem ser prejudiciais à saúde e podem ter como parâmetros a qualidade microbiológica dos alimentos (CASTRO, 2018).

Com as existências dessas bactérias nos alimentos, tanto coliformes totais quanto coliformes termotolerantes, podem indicar alguma falha no processo de higiene e após a coleta do produto, mas também a ausência de coliformes não significa que o produto pode estar livre de contaminantes (CASTRO, 2018).

Para garantir a qualidade do leite e seus derivados, deve ser implementados procedimentos que são adequados para todas as etapas da produção do leite, tais procedimentos são conhecidos como Boas Práticas na Pecuária do Leite (BPPL). Essas práticas garantem que o leite seja oriundo de animais saudáveis e de forma sustentável. (FAO, 2013).

Pode se destacar alguns pontos da BPPL tais como: saúde do animal estabelecendo que o rebanho seja resistente a doenças, prevenir a entrada de doenças na propriedade e utilizar produtos químicos e medicamentos conforme orientação técnica; higiene da ordenha, garantir que a ordenha não lesione o animal e garantir que o leite seja manipulado após a ordenha; nutrição dos animais para garantir que os alimentos fornecidos sejam de fontes sustentáveis, na quantidade e qualidade adequada, controlar as condições do armazenamento e rastreio dos alimentos; bem estar dos animais que segue cinco pilares conhecidos como “cinco liberdades” que seria livre de sede, fome e desnutrição, livres de desconfortos, livres de dor, injúrias e doenças, livres de medo e livres para viver com comportamento animal com padrões normais; Meio Ambiente, para garantir que a produção de leite seja conduzida respeitando o equilíbrio do meio ambiente da propriedade e da região (FAO, 2013).

Visto isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a presença de *Escherichia coli* em leites que são comercializados informalmente na região de Bariri – SP.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento e toda a análise das amostras do leite foram realizados no laboratório da Faculdades Integradas de Bauru (FIB) na cidade de Bauru - SP. Os produtores rurais foram escolhidos aleatoriamente para a coleta das 10 amostras que

foram utilizadas e foram realizadas três repetições das análises para realização deste trabalho.

Foi calculada a massa de meio de cultura sólido em relação ao volume de meio líquido que se foi feito, logo após foi pesado os meios de cultura. Transferir as amostras para um erlenmeyer ou um frasco duram com tampa, ambos foram limpos e esterilizados antes do procedimento.

Foi acrescentar o volume de água aos poucos e agitados em movimentos circulares logo após para finalizar a completa dissolução foi levado para o micro-ondas ou em um bico de Bursen.

Após a dissolução foi levado à autoclave e colocado os fracos no cesto do equipamento e fechado com as presilhas com movimentos de ziguezague. Em seguida foi aberta a válvula de vapor e aguardado as gotículas de água saírem em seguida fechado a válvula e aguardado até que a autoclave atingisse uma temperatura de 121°C e uma pressão de 1 ATM, por 15 minutos.

Depois dos 15min foi aberta a válvula e aguardado até que todo o vapor contido dentro saísse e em seguida utilizando uma luva térmica para retirado dos fracos da autoclave e aguardado que eles atingissem uma temperatura onde foi possível segurar os mesmos por 3 segundos. Próximo ao bico de Bunsen foi transferido cerca de 25ml do meio líquido para as placas de Petri de Plástico e aguardar que a mesma solidifique que foi com uma temperatura de aproximadamente 25°C.

Para preparar as amostras e plaqueamento das amostras foi esterilizado os erlenmeyers de 250ml com 225ml de solução fisiológica ou água peptonada, depois adicionado 25ml da amostra homogeneizada com movimentos circulares e contínuos em seguida pipetamos cerca de 1ml das amostras em uma placa de Petri contendo o meio de cultura PCA e foi espalhado com auxílio de uma alça de Drigalski com movimentos de asteriscos.

Nas placas onde contêm Agar Cled e MacConkey foi espalhado 10 microlitros de amostras nas placas com o auxílio de uma alça de platina com movimentos de Z. Em seguida foram levadas as placas até a estufa bacteriológica a 37°C +/- 2 em um período de 24 a 48 horas.

Logo após o horário estabelecido as placas foram retiradas da estufa e realizada a contagem manual das UFCs com auxílio de lupa e caneta permanente.

3. RESULTADO E DISCUSSÕES

Todas as dez amostras coletadas com os produtores estão contaminadas com a bactéria *Escherichia coli*, variando entre 2×10^1 UFC até $2,21 \times 10^2$ UFC podendo ser proveniente do manuseio irregular da ordenha, armazenamento ou transporte do leite cru. Os resultados mostram a importância em não se consumir produtos de origem animal que não passem por inspeção por órgãos competentes. Apesar de proibido, ainda é frequente o comércio de leite cru, principalmente em regiões interioranas. A manipulação desses produtos, por serem comercializados de maneira informal, não seguem normas exigidas na lei, podendo trazer riscos à saúde do consumidor.

A instrução normativa N°76 de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) contempla a análise da presença de Enterobacteriaceae para o leite pasteurizado com limite de 10 UFC/mL (BRASIL, 2018). Porém, devido à proibição do comércio de leite cru, não há uma legislação vigente para o mesmo e, por essa razão, os resultados obtidos na presente pesquisa foram comparados com a legislação vigente de leites que são inspecionados e comercializados legalmente.

Tabela 1. Quantificação de *Escherichia coli* em amostras de leite *in natura* comercializado de maneira informal na região de Bariri – SP, em Unidades Formadoras de Colônia por mililitro de leite (UFC/ml).

Produtores	Contagem <i>E.coli</i>
Produtor 1	$1,20 \times 10^2$ UFC
Produtor 2	$1,76 \times 10^2$ UFC
Produtor 3	$5,3 \times 10^1$ UFC
Produtor 4	$6,1 \times 10^1$ UFC
Produtor 5	$1,76 \times 10^2$ UFC
Produtor 6	2×10^1 UFC
Produtor 7	$2,20 \times 10^2$ UFC
Produtor 8	$1,20 \times 10^2$ UFC
Produtor 9	$2,17 \times 10^2$ UFC
Produtor 10	$2,21 \times 10^2$ UFC

Segundo pesquisa semelhante a esse trabalho feito por Souza (2021) foram coletadas 12 amostras de leite cru no município de Ibirapuã-BA e todas apresentaram contaminação por coliformes totais e termotolerantes variando entre 2×10^1 UFC e 1.1×10^2 UFC.

Na avaliação realizado por Barbosa (2020) do leite cru em silos de estocagem no estado de Goiás também foi encontrado contaminação por *E.coli* nas amostras coletadas, variando entre 1×10^2 UFC/ml até 8×10^2 UFC/mL.

Arbelo et. al. (2021) realizaram uma análise microbiológica com 15 amostras em leite cru na cidade de Santana do Livramento - RS e na Contagem Padrão de Placas foram encontradas altas níveis de bactérias, que variam entre $4,2 \times 10^3$ UFC até $6,3 \times 10^6$ UFC, com esses resultados pode se notar que a falta de higiene é significativa em alguns produtores rurais.

Em março de 2022 Sobreira et al (2022) diagnosticou em sua pesquisa sobre análise microbiológica em leite cru no Sertão Sergipano que nas 12 amostras coletadas em 3 propriedades rurais diferentes, também apresentaram um valor elevado de bactérias na Contagem Padrão de Placas, mostrando 3×10^1 UFC até $6,08 \times 10^1$ UFC.

Araujo (2017) fez coletas de leite cru entre o período de janeiro/2013 e dezembro/2015 em indústrias do nordeste brasileiro, as coletas eram feitas mensalmente e obtiveram uma média de $8,31 \times 10^4$ UFC na contagem de bactérias.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que 100% das amostras que foram coletas mediante comercialização informal de leite estão contaminadas com a bactéria *Escherichia coli* acima do permitido pela instrução normativa N°76 de 2018 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), podendo assim ser um risco a saúde do consumidor.

5. REFERENCIAS

ARAUJO, V. T., **Qualidade do Leite Cru Refrigerados em indústrias de Laticínios**, Recife, setembro de 2017.

ARBELO, D. D. R; BRACCINI, V, P; JIMÉNEZ, M. E; ERHARDT, M. M; RICHARDS, N. S. P.S, **Análise microbiológica e físico-química do leite produzido na cidade de Santana do Livramento – Rio Grande do Sul**, 29 de maio de 2021

BARBOSA, V., **Avaliação da Qualidade do Leite Cru Refrigerado de Silos de Estocagem em Laticínios do Estado de Goiás**, Goiânia, 2020.

BELANDI, C., **Pesquisa da Pecuária Municipal**, Fonte: Agência IBGE, 22 de Setembro de 2022.

CASTRO, M. T., **Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes: qual a diferença?** Food Safety Brazil, 31 de outubro de 2018.

FAO, **Guia de Boas Práticas na Pecuária do Leite**, 2013

GOV.BR, **Diário Oficial da União**, Fonte: Ministério da Agricultura pecuária e abastecimento, 26 de novembro de 2018.

LIN HARES, J. C.; LANDIN, A. P. M, RIBEIRO, L. F. **Avaliação das boas Práticas Agropecuária (BPA'S) na ordenha em Relação a Qualidade do Leite**, 2021.

MOORE, D., **Diário de todo dia ao redor do mundo. Plataforma Global de Lácteos.** Fonte: **Plataforma Global de Lácteos**, 2016.

NERO, L. A.; VIÇOSA, G. N.; PEREIRA, F. E. V., **Qualidade microbiológica do leite determinada por características de produção**, abril - junho de 2009

RENTEIRO, N, **Anuário leite 2021**. São Paulo: Embrapa, 2021

RODRIGUES, A, **Influência da Mastite na Qualidade do Leite *in natura***: Revisão Literária. p.17, Recife – PE, 2009

SIRQUEIRA, K, **Mercado consumidor de leite e derivados**. Juiz de Fora, MG: EMBRAPA, 2019.

SOBREIRA, A.C .F; SILVA, B. S; BUENO, T. M; MELO, D. S; FERNANDES, P. E; SILVA, L. C. A; SÁ, J. P. N. (março de 2022). **Perfil físico-químico e microbiológico de leite cru refrigerado** Perfil físico-químico e microbiológico de leite cru refrigerado, março de 2022.

SOUSA, C. S.; SOUZA, G. O. P; ALNCÂNTRA, T.M; FORTUNA, J. L. **Análise Microbiológica e Físico-química de Leite Cru Comercializado Informalmente no Município de Ibirapuã - BA**, 2021.