



Comparação microbiológica entre leites crus e leites pasteurizados adquiridos de propriedades rurais e do comércio local do município de Senador Amaral, Minas Gerais

Jaqueline da Fonseca¹ ; Pedro Otávio Marioto Xavier¹ ; Luiz Francisley de Paiva^{1*} 

Introdução: O consumo de leite é uma prática antiga e benéfica para a saúde. No entanto, a qualidade microbiológica do leite pode ser comprometida por práticas inadequadas de higiene, ordenha, refrigeração e armazenamento. A pasteurização controla a contaminação, mas o consumo de leite cru ainda é comum, o que pode aumentar os riscos de infecções. **Objetivo:** Analisar e comparar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado, adquirido no comércio local, e do leite cru, obtido diretamente de propriedades rurais, no município de Senador Amaral, Minas Gerais (MG). **Método:** Foram analisadas 10 amostras de leite cru adquiridas diretamente de propriedades rurais e cinco amostras de leite pasteurizado adquiridas no comércio local, totalizando 15 amostras. As amostras foram submetidas às análises para enumeração de Estafilococos coagulase positivo, coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. Os resultados foram analisados seguindo os critérios estabelecidos pelas instruções normativas nº 76/2018 e 58/2019. **Resultado:** Neste estudo, com exceção de uma amostra de leite pasteurizado, foram encontrados coliformes totais em todas as amostras, mas nenhuma apresentou *Salmonella* sp. *E. coli* foi detectada em cinco amostras de leite cru e quatro de leite pasteurizado. Estafilococos coagulase positiva foram encontrados em uma amostra de leite pasteurizado e oito de leite cru. O leite pasteurizado apresentou menor quantidade de *Staphylococcus* sp. que o leite cru, mas sem diferença estatística para coliformes. A presença de coliformes em quase todas as amostras, juntamente com *E. coli* e estafilococos coagulase positiva, indica problemas de higiene na produção e armazenamento.

Palavras-chave: Leite Bovino; Segurança Alimentar; Análise Microbiológica.

¹ Universidade do Vale do Sapucaí, Pouso Alegre, Minas Gerais, Brasil. *Endereço para correspondência: *E-mail:* francisleybiologo@yahoo.com.br.

Microbiological comparison between raw and pasteurized milks obtained from rural properties and local markets in Senador Amaral, Minas Gerais

Introduction: The consumption of milk is an ancient practice and beneficial to health. However, the microbiological quality of milk can be compromised by inadequate hygiene, milking, refrigeration, and storage practices. Pasteurization controls contamination, but the consumption of raw milk is still common, which can increase the risk of infections. **Objective:** To analyze and compare the microbiological quality of pasteurized milk purchased locally and raw milk obtained directly from rural properties in Senador Amaral, Minas Gerais (MG). **Method:** Ten raw milk samples obtained directly from rural properties were analyzed and five pasteurized milk samples were purchased from local markets, totaling 15 samples. The samples were subjected to analyses for the enumeration of coagulase-positive Staphylococci, total coliforms, thermotolerant coliforms, *Escherichia coli*, and *Salmonella* sp. The results were analyzed according to the criteria established by normative instructions No. 76/2018 and nº 58/2019. **Results:** In this study, with the exception of one pasteurized milk sample, total coliforms were found in all samples, but none presented *Salmonella* sp. *E. coli* was detected in five raw milk samples and four pasteurized milk samples. Coagulase-positive staphylococci were found in one pasteurized milk sample and eight raw milk samples. Pasteurized milk had a lower quantity of *Staphylococcus* sp. than raw milk, but there was no statistical difference for coliforms. The presence of coliforms in almost all samples, along with *E. coli* and coagulase-positive staphylococci, suggests hygiene problems in production and storage.

Keywords: Milk; Food Security; Microbiological Techniques.

Submetido em: 20/06/2024

Aceito em: 22/11/2024

INTRODUÇÃO

O leite é um líquido branco, opaco, ligeiramente doce e com odor suave. Desde tempos antigos, é consumido como fonte vital de nutrientes nas dietas humanas, sendo valorizado como um dos produtos mais nobres comercializados^{1,2}.

Atualmente no Brasil, há uma crescente produção leiteira na qual avançou de 5,2 milhões de toneladas por ano para 35,5 milhões de toneladas por ano entre o período de 1974 a 2021. Mesmo passado por oscilações significativas no ano de 2020, o estado de Minas Gerais liderou a maior produção com 27,34%, seguido de Paraná com 13,09% e Rio Grande do Sul com 12,10% da quantidade total produzida no Brasil^{3,4}.

Em regiões rurais o leite é consumido cru, muitas vezes chamado de leite "informal ou clandestino", refere-se a um produto que não passou

pelo processo de tratamento térmico e é transportado e vendido sem a devida refrigeração. Geralmente, esse tipo de leite é comercializado em estabelecimentos de pequeno porte ou entregue diretamente aos consumidores em suas residências⁵.

O leite possui uma composição repleta de nutrientes e pH neutro, o qual se torna um excelente meio para uma variedade de microrganismo como os patogênicos que são capazes de impactar em sua qualidade podendo ou não gerar riscos de toxinfecção alimentar⁶. A aparição de patógenos no leite ocorre por meio da proliferação de bactérias de origem fecal por meio da má higiene da ordenha, dos instrumentos dos manipuladores, refrigeração inadequada e pela incidência de animais comprometidos pela mastite bovina^{7,8}.

A inflamação das glândulas mamárias acometidas por agentes microbianas reduz a produção do leite decorrente da lesão causada no tecido mamário além de modificar a qualidade físico-

química do leite e de disseminar microrganismos patogênicos a outros animais e ao ser humano. Além disso, a mastite bovina pode ocasionar grandes perdas financeiras na produção leiteira⁸.

Alimentos suscetíveis à contaminação são frequentemente submetidos à pasteurização sempre que possível, sendo os métodos empregados eficazes na eliminação de microrganismos sem comprometer a qualidade nutricional dos alimentos. Entretanto, mesmo após a pasteurização, alguns microrganismos podem sobreviver e se reproduzir, colonizando todo o alimento. Por isso, é essencial complementar a pasteurização com outros métodos de conservação, como a refrigeração⁹.

No Brasil existe uma ampla produção e comercialização do leite, a qual é consumida em todas as fases da vida humana. No entanto, em zonas rurais é muito consumido o leite de forma cru sem o processo térmico por causa da facilidade, do custo reduzido e da teoria provinda da cultura brasileira de que o produto obtido diretamente do produtor rural é mais saudável do que aquele que passou por processos térmicos^{10,11}.

Diante do exposto, este estudo tem como objetivo analisar e comparar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado, adquirido no comércio local, e do leite cru, obtido diretamente de propriedades rurais, no município de Senador Amaral, em Minas Gerais.

MÉTODOS

Caracterização do estudo e das amostras

Foi realizado um estudo experimental transversal com abordagem quantitativa, buscando validar estatisticamente os dados coletados^{12,13}. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Pesquisas Básicas da Universidade do Vale do Sapucaí.

Foram analisadas dez amostras de leite cru e cinco amostras de leite pasteurizado. O leite cru foi adquirido diretamente com o produtor rural no período da manhã. As amostras foram acondicionadas em frascos estéreis, identificadas e acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo. O leite pasteurizado foi adquirido no comércio local

e acondicionado na mesma caixa. Todas as amostras foram coletadas sem apresentar alterações visíveis nas suas características macroscópicas e organolépticas, e estavam dentro do prazo de validade. O material foi imediatamente encaminhado para o laboratório para a realização das análises.

Preparo das amostras

Inicialmente, 25 g de cada amostra foram pesadas em frascos estéreis com tampa. Foram adicionadas 225 mL de água de diluição (água peptonada 0,1% estéril) e em seguida, os frascos foram fechados e homogeneizados por cinco minutos obtendo assim uma diluição de 1/10 (10^{-1}). Em seguida foi realizada uma diluição seriada em que foi transferido 1 mL da diluição (10^{-1}) para um tubo contendo 9 mL de água de diluição, obtendo uma diluição 1/100 (10^{-2}). Após homogeneização, repetiu-se o processo até a chegar à diluição de 10^{-5} .

Pesquisa de coliformes e *Escherichia coli*

Para verificação e quantificação de bactérias do grupo coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli*, o experimento foi realizado pelo método do número mais provável (NMP) utilizando uma bateria de três tubos em triplicatas.

Inicialmente, foi realizada a prova presuntiva para coliformes totais utilizando tubos com 10 mL do meio Caldo Lauril Sulfato Triptose contendo tubo de Durhan invertido. 1 mL de cada diluição foram dispensados em três tubos e incubados a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas. Após esse período, a partir dos tubos positivos, foi transferida uma alíquota de 10 μL para tubos com o meio Caldo Verde Brilhante de Bile 2% Lactose contendo tubo de Durhan invertido. Os tubos foram incubados por 24-48 horas a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e após esse período foi verificado se havia a presença de turbidez do meio com formação de gás, sendo esse o resultado confirmativo para coliformes totais.

Simultaneamente ao teste confirmativo para coliformes totais, a verificação da presença de coliformes termotolerantes foi realizada por meio da repicagem dos tubos Caldo Lauril Sulfato Triptose positivos em Caldo *Escherichia coli* (EC), contendo

tubo de Durham invertido. Depois de homogeneizados, os tubos foram incubados em banho-maria a $45,5 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 horas. A turvação e formação de gás nos tubos de Durham confirmou a presença de coliformes termotolerantes.

Os tubos de Caldo EC positivos para coliformes termotolerantes foram suspeitos da presença de *E. coli*. Para confirmação, uma alçada de cada tubo foi estriada em Ágar Eosina Azul de Metileno, meio seletivo diferencial para distinguir *E. coli* dos demais coliformes termotolerantes. A incubação foi de 24-48 horas a $35 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Após esse período, colônias típicas e atípicas foram repicadas em meio Ágar de Contagem em Placa (PCA) para posteriores provas bioquímicas.

Pesquisa de *Salmonella* spp.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp., inicialmente foi realizada uma incubação de pré-enriquecimento, utilizando o frasco contendo a diluição de 10^{-1} em água peptonada 0,1% como caldo de pré-enriquecimento não seletivo recomendado. Os frascos foram incubados com as tampas levemente afrouxadas a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Decorrido esse período, uma alíquota de 1 mL de cada frasco foi transferida para dois tubos: um contendo 10 mL de Caldo Selenito Cistina e outro com 10 mL de Caldo Tetracionato ambos meios de enriquecimento seletivo. Os tubos foram incubados a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas.

Após esse processo, os tubos foram agitados em agitador Vórtex, e alças dos tubos com crescimento positivo em foram estriadas em placas de Ágar Hectoen Entérico onde as colônias típicas apresentaram cor transparente, verde - azuladas, com ou sem centro preto; Ágar Bismuto Sulfito onde as colônias típicas apresentaram cores marrons ou pretas com ou sem brilho metálico e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato onde colônias típicas apresentaram cor transparente, cor de rosa escuro, com ou sem centros pretos.

Após o período de incubação, foi verificado o desenvolvimento de colônias típicas e atípicas de *Salmonella* sp. As cepas foram repicadas em meio PCA para posteriores provas bioquímicas de

identificação. O resultado para pesquisa de *Salmonella* sp. foi de abordagem qualitativa, ou seja, presença ou ausência.

Identificação bioquímica para Enterobacteriaceae

Colônias típicas e atípicas de *E. coli* e *Salmonella* spp. foram identificados por provas bioquímicas utilizando os meios EPM, Mili e Citrato. Esse conjunto contém três meios e oferece oito testes sendo eles a fermentação e produção de gás em glicose, produção de H_2S , hidrólise da ureia, desaminação do triptofano, motilidade, indol, descarboxilação da lisina e utilização de citrato como única fonte de carbono.

Inicialmente as colônias foram cultivadas em Ágar Triptona de Soja a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas. Em seguida, com auxílio de uma alça de agulha, as cepas foram inoculadas nos tubos testes com incubação de $35 \text{ }^\circ\text{C}$ e leitura após 24 horas.

Pesquisa de estafilococos coagulase positiva

Para a pesquisa de estafilococos coagulase positiva, foram inoculadas 100 μL de cada diluição sobre a superfície do meio de Agar Baird-Parker em duplicata. As placas foram identificadas e incubadas a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 - 48 horas. Após esse período, colônias com coloração cinzenta escura a preto, brilhantes, de tamanho médio, halos transparentes a circundar as colônias, foram contadas e submetidas aos testes de identificação. Foi considerado estafilococos coagulase positiva todas as culturas com as seguintes características: cocos em cacho Gram positivos, catalase positiva, coagulase positiva. Os resultados das contagens foram multiplicados, pela recíproca da diluição utilizada e os resultados foram expressos em unidade formadora de colônia por grama (UFC/mL).

Análise estatística

Os dados foram analisados com o programa Excel (Windows, 2019) por meio do suplemento Real Statistic. Foi realizada análise comparativa para duas amostras independentes utilizando o teste estatístico de Mann Whitney. Os resultados foram interpretados de acordo com os critérios estabelecidos pelas

Instruções Normativas nº 76 de 2018¹⁴ e nº 58 de 2019¹⁵.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, com exceção de *Salmonella*, todos os microrganismos pesquisados nas amostras de leite cru foram encontrados como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Qualidade microbiológica de leite cru adquiridas diretamente de propriedades rurais no município de Senador Amaral, Minas Gerais.

Amostras	Coliformes (NMP/mL)		<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	Estafilococos (UFC/mL)	
	Totais	Termotolerante			Coagulase (-)	Coagulase (+)
LC1	14	3,6	Positivo	Ausente	2,03x10 ⁴	< 100
LC2	290	< 3	Ausente	Ausente	6,8x10 ⁵	< 100
LC3	1100	< 3	Ausente	Ausente	9,6x10 ⁴	5x10 ³
LC4	240	< 3	Ausente	Ausente	< 100	7,6x10 ³
LC5	> 1100	15	Positivo	Ausente	< 100	2,5x10 ⁵
LC6	> 1100	9,2	Positivo	Ausente	< 100	6,4x10 ⁴
LC7	290	< 3	Ausente	Ausente	5,5x10 ³	5x10 ²
LC8	23	< 3	Ausente	Ausente	1,1x10 ³	2,4x10 ³
LC9	1.100	75	Positivo	Ausente	4,5x10 ³	5x10 ²
LC10	93	43	Positivo	Ausente	2,4x10 ³	9x10 ²

LC = Leite cru; NMP/mL = Número mais provável por mililitros; UFC/mL = Unidade formadora de colônia por mililitros. < 100 = Limite de detecção pela técnica *spread plate*.
Fonte: Autores.

As amostras deste estudo foram adquiridas logo após a ordenha e antes do processo de refrigeração. Embora as instruções normativas 76/2018¹⁴ e 58/2019¹⁵ se refiram especificamente aos leites crus refrigerados, é importante ressaltar que a contagem microbiana encontrada antes da refrigeração não é afetada pela baixa temperatura. O que se altera com a refrigeração é apenas o metabolismo dos microrganismos presentes e a capacidade de sua multiplicação.

Com relação à pesquisa para coliformes, neste estudo os coliformes totais foram encontrados

em todas as amostras de leite cru com valores que variam de 14 a >1.100 NMP/mL. Esses achados corroboram com os encontrados na literatura. Lima *et al.*¹⁶, ao analisarem amostras provenientes de três produtores leiteiros do município de Benevides, Pará, constataram uma alta contagem de coliformes totais e termotolerantes, indicando uma elevada contaminação. Pereira *et al.*¹⁷, ao analisarem sete amostras de leite cru comercializados na cidade de Tucuruí, Pará, detectaram que em todas as amostras houve contaminação por coliformes totais, entretanto, apenas uma amostra foi positiva para coliformes termotolerantes. Santos, Melo e Souza¹⁸

realizaram um estudo no município de Jequié, Bahia, em que analisaram amostras de leite *in natura* comercializado por vendedores informais locais sendo que todas as quatro amostras analisadas testaram positiva para coliformes termotolerantes. Já Souza *et al.*¹⁹, ao analisaram 12 amostras de leite cru comercializados informalmente no município de Ibirapuã, BA, encontraram coliformes totais em todas as amostras e coliformes termotolerantes em 10.

Neste estudo, a presença de *E. coli* foi verificada em cinco amostras de leite cru. Houve, portanto, falhas nos processos de higiene durante a ordenha, manuseio, armazenamento inadequado. Isso pode representar um risco para a saúde, pois algumas cepas de *E. coli* podem ser patogênicas e causar doenças, especialmente se consumidas em quantidades significativa. Em um estudo recente no Sul de Minas Gerais, Damasceno, Silva e Santos²⁰ analisaram 27 vacas de uma fazenda, e em oito amostras foram confirmadas a presença de *E. coli* no leite.

Salmonella spp. não foram encontradas em nenhuma amostra deste estudo, resultado semelhante ao encontrado por Luz *et al.*²¹, na cidade de Aquidauana, MS, região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense, que ao analisarem 120 amostras de leite cru, também não detectaram a presença deste microorganismo. Por outro lado, Pereira *et al.*¹⁷ realizaram o estudo na cidade Tucuruí e região, Pará, e ao analisarem sete amostras de leite cru em fazendas de ordenha, observaram que 25% das amostras testaram positivo para *Salmonella* sp.

Com relação à pesquisa de estafilococos, em todas as amostras analisadas foram encontradas cepas pertencentes ao gênero *Staphylococcus* sp. com valores que variam de 3×10^3 UFC/mL à 6×10^5 UFC/mL. Estafilococos coagulase positiva foi encontrada em 80% das amostras analisadas, resultado semelhante ao encontrado por Brites *et al.*²², que ao analisarem amostras coletadas de 37 tanques comunitários e individuais em Rio Pomba, MG, identificaram uma elevada taxa de contaminação por *S. aureus* em leite cru, sendo 81% das amostras testadas. Segundo o estudo de Martins; Araújo e Ribeiro²³, em Açailândia, MA, onde o comércio de leite cru ocorre informalmente, foram adquiridas as amostras de diferentes pontos

totalizado 120 amostras, e em todas as amostras foram encontradas *Staphylococcus* coagulase positiva. Entretanto, em um estudo conduzido por Luz *et al.*²¹, no Núcleo de Conservação dos Bovinos Pantaneiros (NUBOPAN), não foi encontrado esse microorganismo em nenhuma das 120 amostras testadas.

As instruções normativas nº 76/2018¹⁴ e nº 58/2019¹⁵ estabelecem como critério de qualidade microbiológica, a Contagem Padrão em Placas em que o valor máximo permitido é de 9×10^5 UFC/mL antes do seu processamento no estabelecimento industrial. Sendo assim, neste estudo, todas as amostras analisadas estão de acordo como demonstrada na Tabela 2.

Tabela 2. Contagem total de microorganismos encontrados em amostras de leite cru adquiridas diretamente de propriedades rurais no município de Senador Amaral, Minas Gerais.

Amostras	Contagem Total
LC1	$2,03 \times 10^4$ UFC/mL
LC2	$6,8 \times 10^5$ UFC/mL
LC3	$1,02 \times 10^5$ UFC/mL
LC4	$7,6 \times 10^3$ UFC/mL
LC5	$> 2,5 \times 10^5$ UFC/mL
LC6	$> 6,4 \times 10^4$ UFC/mL
LC7	$7,1 \times 10^3$ UFC/mL
LC8	$3,5 \times 10^3$ UFC/mL
LC9	$6,17 \times 10^3$ UFC/mL
LC10	$3,34 \times 10^3$ UFC/mL

LC = Leite cru; UFC/mL = Unidade formadora de colônia por mililitros.

Fonte: Autores.

É importante lembrar que as instruções normativas nº 76/2018¹⁴ e nº 58/2019¹⁵, não determinam limites para contagens específicas de microorganismos para o leite cru refrigerado,

entretanto, a detecção de cepas como *E. coli* e *S. aureus*, no leite cru, mesmo que dentro dos limites estabelecidos de 9×10^5 UFC/mL para Contagem Padrão em Placas, indica práticas inadequadas de higiene e saneamento durante a produção, processamento ou armazenamento do alimento. Essas falhas comprometem a integridade do produto, que pode ser consumido *in natura* ou servir como matéria-prima para outros alimentos, potencialmente colocando em risco a saúde pública. Esses microrganismos são indicadores de possível

contaminação e demandam atenção, já que sua presença sugere um ambiente propício para a propagação de outros agentes patogênicos, mesmo que em níveis aparentemente aceitáveis pelos padrões regulatórios.

Com relação a qualidade microbiológica do leite pasteurizado, quatro amostras estavam contaminadas por microrganismos patogênicos como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3. Qualidade microbiológica de leite pasteurizado adquiridas no comércio local no município de Senador Amaral, Minas Gerais.

Amostras	Coliformes (NMP/mL)		<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	Estafilococos (UFC/mL)	
	Totais	Termotolerante			Coagulase (-)	Coagulase (+)
LP1	< 3,0	< 3,0	Negativo	Ausente	< 100	< 100
LP2	210	3	Positivo	Ausente	< 100	< 100
LP3	23	3,6	Positivo	Ausente	< 100	< 100
LP4	> 1.100	3,6	Positivo	Ausente	< 100	< 100
LP5	> 1.100	7,4	Positivo	Ausente	< 100	$1,4 \times 10^3$

LP = Leite pasteurizado; NMP/mL = Número mais provável por mililitros; UFC/mL = Unidade formadora de colônia por mililitros. < 100 = Limite de detecção pela técnica *spread plate*.

Fonte: Autores.

Com relação ao leite pasteurizado, as instruções normativas nº 76/2018¹⁴ e nº 58/2019¹⁵ estabelecem como critério de qualidade microbiológica, uma contagem máxima de 10 UFC/mL para microrganismos pertencentes a família Enterobacteriaceae, sendo assim, neste estudo 80% das amostras analisadas estão em desacordo. Resultado semelhante aos encontrados por Schu e Zat²⁴, que ao analisarem seis amostras de leite pasteurizado integrais de duas marcas e lotes diferentes, vendido no Oeste do Paraná, confirmaram a presença de Enterobacteriaceae em cinco amostras analisadas com o resultado de 5×10^2 UFC/mL.

Em um estudo realizado por Lima *et al.*¹⁶, no município de Benevides, Pará, ao analisarem amostras de leite pasteurizado providas de três produtores leiteiros, submetidas ao processo de

pasteurização lenta (65 °C por 30 minutos), os autores obtiveram resultados negativos para a presença de coliformes totais e termotolerantes. Pereira *et al.*¹⁷, em Tucuruí, Pará, apresentaram descobertas distintas. Das sete amostras de leite UHT analisadas, apenas uma foi positiva para coliformes totais. Entretanto, todas as amostras foram negativas para coliformes termotolerantes. Oliveira, Oliveira e Moraes²⁵, na região metropolitana de Campinas, SP, analisaram seis marcas diferentes de leite pasteurizado comercializado em hipermercados, todas as amostras apresentaram resultados negativos tanto para coliformes totais quanto para termotolerantes.

Neste estudo, os microrganismos encontrados nas quatro amostras positivas para coliformes termotolerantes foram identificados como sendo da espécie *E. coli*. Em um estudo

recentemente publicado, Neto e Ribeiro²⁶ analisaram amostras de leite pasteurizado comercializado em Montes Carmelo, MG e identificaram uma possível contaminação fecal em todas as amostras analisadas, o que levanta grandes preocupações quanto qualidade microbiológica. Melo *et al.*²⁷, na região de Araguaína, TO, detectaram a presença de *E. coli* em nove amostras das 12 amostras analisadas.

Com relação a *Salmonella* sp. neste estudo, ela foi ausente em todas as amostras testadas, resultados satisfatórios e semelhantes aos encontrados na literatura. Melo *et al.*²⁷, ao analisarem leite pasteurizado comercializado em Araguaína, TO, não encontraram esse microrganismo. Pereira *et al.*¹⁷ realizarem o estudo na cidade Tucuruí, Pará, e ao analisarem sete amostras de leite pasteurizado adquirido em supermercados de diferentes fabricantes, não encontraram *Salmonella* sp. No entanto, o estudo de Moura²⁸, envolvendo 90 amostras de leite pasteurizado tipo C de 15 empresas de laticínios em 43 Municípios cearenses, revelou uma taxa positiva de 14% das amostras analisadas positivas para *Salmonella*.

Com relação à pesquisa de estafilococos, em apenas uma amostra foi encontrado a presença de *S. aureus*, resultado similar aos encontrados na literatura. Salvador *et al.*¹⁰ analisaram seis amostras de leite pasteurizado comercializado na região de Apucarana e os resultados demonstraram um baixo índice de contaminação por este microrganismo. Santos *et al.*²⁹, ao analisarem três amostras de leite pasteurizado tipo A da mesma marca, adquirida do comércio local de Porto-Velho, RO, encontraram em todas as amostras a presença de *Staphylococcus* sp. com valores entre 2×10^2 à $2,7 \times 10^5$ UFC/mL. Já Santos *et al.*³⁰, ao analisar 75 amostras de leite pasteurizado de cinco unidades de beneficiamento no estado do Alagoas, encontraram estafilococos coagulase positiva em apenas quatro amostras.

Segundo os estudos de Wörmann *et al.*³¹, os requisitos de tempo e temperatura para inativar completamente cepas de *Staphylococcus aureus* multirresistente no leite cru dependem do nível de contaminação inicial. Os resultados encontrados pelos autores sugerem que um tempo de retenção de 30 minutos em leite cru aquecido a 60°C é suficiente

para erradicar completamente os baixos níveis desse microrganismo (10^3 UFC/mL) no colostro e no leite cru. Contudo, dependendo da concentração inicial de *S. aureus*, o tratamento pode não ser suficiente para eliminar todos os microrganismos viáveis. Dessa forma, a contaminação por esse microrganismo pode ser decorrente desde falhas no processo de ordenha, animais com mastite, armazenamento inadequado até o pós-processamento, por meio da deficiência na esterilização das embalagens, ou da recontaminação decorrentes dos manipuladores.

Com relação a contagem total de microrganismos, as normas vigentes não determinam mais a contagem padrão em placa para o leite pasteurizado, somente pesquisa de Enterobacteriaceae. Entretanto, ainda que essa norma não mencione outros microrganismos, neste estudo foi encontrado em uma amostra alta contagem de estafilococos coagulase positiva ($1,4 \times 10^3$ UFC/mL), sugerindo desde falhas de higiene e manipulação durante a ordenha bem como processo de pasteurização ineficiente (Tabela 4).

Tabela 4. Contagem total de microrganismos encontrados em amostras de leite pasteurizado adquiridas no comércio local do município de Senador Amaral, Minas Gerais.

Amostras	Contagem Total (UFC/mL)
LP1	< 3,0
LP2	$2,1 \times 10^2$
LP3	$2,3 \times 10^1$
LP4	$> 1,1 \times 10^3$
LP5	$> 2,5 \times 10^3$

LP = Leite pasteurizado; UFC/mL = Unidade formadora de colônia por mililitros.
Fonte: Autores.

A comparação da qualidade microbiológica do leite cru com o leite pasteurizado foi realizada pelo teste estatístico de Mann Whitney e está demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5. Comparação da qualidade microbiológica de leite cru adquirido diretamente de propriedades rurais com o leite pasteurizado adquiridos no comércio local no município de Senador Amaral, Minas Gerais.

Variável	Média (UFC/mL)		Diferença significativa
	L. cru	L. pasteurizado	
Coliforme total	535	486,6	Não (U = 20,5; $p = 0,594$)
Coliforme termotolerante	14,58	3,52	Não U = 24,5; $p = 0,953$)
<i>Staphylococcus</i> sp.	114070	280	Sim (U = 0; $p > 0,001$)
Contagem total	115371	766,6	Sim (U = 0; $p > 0,001$)

UFC/mL = Unidade formadora de colônia por mililitros. Teste de Mann Whitney U.

Fonte: Autores.

A comparação da qualidade microbiológica entre o leite pasteurizado com o leite cru foi significativa para a presença de *Staphylococcus* sp. bem como a contagem total de microrganismos. Neste estudo, o leite cru apresentou maiores incidências e quantidades desse microrganismo. Entretanto, para os microrganismos pertencentes ao grupo dos coliformes, não houve diferença estatística significativa entre a quantidade e incidência encontrada no leite cru com o do leite pasteurizado.

A fim de comparar a qualidade microbiológica do leite pasteurizado com o do leite cru, foi determinado a contagem total de microrganismos de ambos os grupos (Tabela 2 e Tabela 4). A comparação foi realizada por meio do teste estatístico de Mann Whitney U para amostras independentes (Tabela 5). Neste estudo, após a realização do teste de Shapiro-Wilk, foi constatado que a os dados não atenderam a normalidade ($p < 0,001$). Sendo assim, foi realizado o teste não paramétrico se baseando na premissa de que testes paramétricos (teste t de *Student*) sigam a distribuição normal³².

Embora as instruções normativas n^o 76/2018¹⁴ e n^o 58/2019¹⁵ não determinam tipos específicos de microrganismo estudado, neste estudo foram encontradas em grandes quantidades em amostras de leite cru incluindo e em uma amostra de leite pasteurizado a presença da espécie *S. aureus*.

O *S. aureus* é uma bactéria comumente encontrada na pele, nariz e garganta de humanos e

animais³³. Em algumas situações, pode ser introduzido no leite por meio da manipulação inadequada durante a ordenha ou devido à contaminação de equipamentos³⁴. Neste estudo, nove amostras estavam contaminadas com esse microrganismo. A presença do *S. aureus* no leite não é incomum, mas a sua presença em níveis elevados pode ser preocupante, pois algumas cepas desse microrganismo podem produzir toxinas que, se ingeridas em quantidades significativas, podem causar intoxicação alimentar³⁴.

Na pesquisa de *Salmonella*, em nenhuma amostra de leite cru e de leite pasteurizado foram encontrados esses microrganismos, resultado encorajador ressaltando assim a importância da boa higiene em todo o processamento do leite desde a fazenda até a mesa do consumidor final.

CONCLUSÃO

Este estudo revela preocupações com a qualidade microbiológica do leite cru e pasteurizado comercializado em Senador Amaral, MG. As amostras de leite cru apresentaram contaminação significativa por coliformes totais e *E. coli*, indicando falhas de higiene. A pasteurização reduziu alguns microrganismos, mas Enterobacteriaceae foram encontradas em 80% das amostras de leite pasteurizado. A ausência de *Salmonella* é positiva, mas *Staphylococcus aureus* foi detectado em 80% das amostras de leite cru e em uma amostra de leite pasteurizado, sugerindo a necessidade de melhores

práticas de higiene e controle de qualidade em toda a cadeia produtiva para garantir a segurança alimentar.

Esses resultados destacam a importância da implementação de boas práticas de higiene e controle de qualidade na cadeia produtiva do leite, visando garantir a segurança alimentar e a saúde dos consumidores.

É fundamental educar os consumidores sobre os perigos do leite cru e as vantagens da pasteurização por meio de campanhas informativas. Além disso, a realização de treinamentos, *workshops* e a promoção de incentivos para a certificação de qualidade aos produtores rurais, podem facilitar a adoção de práticas mais seguras, como a pasteurização. Para garantir a segurança do alimento, é necessário combinar esforços educacionais, apoio técnico e uma regulamentação eficaz, incentivando os consumidores e produtores a preferirem métodos de produção de leite mais seguros e higiênicos.

FINANCIAMENTO

Nada a declarar.

CONFLITOS DE INTERESSE

Nada a declarar.

FUNÇÕES DOS AUTORES

Paiva, L. F.: Conceptualização, metodologia, curadoria de dados, análise formal, primeira redação, revisão e aprovação da versão final do trabalho.

Fonseca, J.: Administração do projeto, metodologia, curadoria de dados, revisão e aprovação da versão final do trabalho.

Xavier, P. O. M.: Metodologia, curadoria de dados, revisão e aprovação da versão final do trabalho.

REFERÊNCIAS

- Barbosa HP, Barbosa de Lima CUG, Santana AMF, Lins AA, Polizelli M, Martins PS. Caracterização físico química de amostras de leite in natura comercializados no estado da Paraíba. *Rev Ciênc Saúde Nova Esperança*. 2014;12(2):5–15. Available from: <https://revista.facene.com.br/index.php/revistane/article/view/456>.
- Pereira FP, Santos OAR, Resende RCM, Henriques BO. Avaliação comparativa da composição nutricional do leite de soja em relação ao leite de vaca com e sem lactose. *Rev Acadêmica Conecta FASF* [Internet]. 2017;2(1):378–92. Available from: <https://revista.fasf.edu.br/index.php/conecta/article/view/72>.
- Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Leite: produção e pesquisa, uma evolução constante. In: EMBRAPA. Anuário do Leite 2022. p. 50, 2022. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1144110/anuario-leite-2022-pecuaria-leiteira-de-precisao>.
- Junior WCP, Hott MC, Andrade RG. Produção de leite por Estados e regiões em 2020. In: EMBRAPA. Anuário do leite 2022. p. 36–37;2022. Available from: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1144110/anuario-leite-2022-pecuaria-leiteira-de-precisao>.
- Fagnani R, Eleodoro JI, Zanon EO. Milk-borne infections awareness and the health status of consumers: An on-line survey. *Int Dairy J* [Internet]. 2019; 96(1):85–92. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958694619301086?via%3Dihub> DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.04.013>.
- Yoon Y, Lee S, Choi KH. Microbial benefits and risks of raw milk cheese. *Food Control* [Internet]. 2016;63(1):201–15. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0956713515302863?via%3Dihub> DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.11.013>.
- Goulart VC, Botelho LFR, Oliveira RS, Ferreira MA. Comparação de métodos qualitativos para a detecção de peróxido de hidrogênio em leite cru e UHT. *Rev Comeia* [Internet]. 2019;1(1):51–60. Available from: <https://revistas.unipam.edu.br/index.php/revistadocomeia/article/view/4996>.
- Linhares JC, Landin APM, Ribeiro, LF. Avaliação das boas práticas agropecuárias (BPA's) na ordenha em relação à qualidade do leite. *Rev Getec* [Internet]. 2021;10(32):10–36. Available from: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/2527>.
- Polegatti LP, Cardoso AR. Comparativo de análise físico-química e microbiológica em leite cru e leite pasteurizado. *Arq bras med vet zootec* [Internet]. 2019;2(2):192–201. Available from:

<https://ojsrevistas.fag.edu.br/index.php/ABMVFAG/article/view/337/428>.

- 10- Salvador FC, Burin AS, Frias AAT, Oliveira FS, Fails N. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado comercializado em Apucarana-PR e região. *Revista F@pciência* [Internet]. 2012;9(5):30–41. Available from: https://www.fap.com.br/fap-ciencia/edicao_2012/005.pdf.
- 11- Sovinski AI, Cano FG, Raymundo NKL, Barcellos VC, Bersot LS. Situação da comercialização do leite cru informal e avaliação microbiológica e físico-química no município de Cafelândia, Paraná, Brasil. *Arq bras med vet zootec* [Internet]. 2014;17(3):161–65. Available from: <https://www.revistas.unipar.br/index.php/veterinaria/article/view/4938> DOI: <https://doi.org/10.25110/arqvet.v17i3.4938>.
- 12- Gil AC. Como elaborar projeto de pesquisa. 6.ed. São Paulo: Atlas; 2017.
- 13- Mussi RFF, Mussi LMPT, Assunção ETC, Nunes CP. Pesquisa Quantitativa e/ou Qualitativa: distanciamentos, aproximações e possibilidades. *Sustinere* [Internet]. 2019; 7(2):414-430. Available from: <https://www.e-publicacoes.uerj.br/index.php/sustinere/article/view/41193> DOI: <https://doi.org/10.12957/sustinere.2019.41193>.
- 14- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018. *Diário Oficial da União, Brasília, 2018. ed. 230, seção 1, página, 9*. Available from: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750141/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-77-de-26-de-novembro-de-2018-52749887.
- 15- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 58, de 6 de novembro de 2019. *Diário Oficial da União, Brasília, DF. 2019. ed.216, seção 1, página, 18*. Available from: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-58-de-6-de-novembro-de-2019-226514189>.
- 16- Lima LNC, Torres LS, Silva LKB, Santos RS, Cruz TMS, Figueiredo EL. Avaliação microbiológica do leite cru e pasteurizado comercializado no município de Benevides-PA. *Sci Plena* [Internet]. 2016; 12(6):1–6. Available from: <https://www.scienciaplenu.org.br/sp/article/view/3054> DOI: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2016.069907>.
- 17- Pereira MFBC, Gomes PWP, Simões MC, Martins LHS, Sarmiento PSM. Avaliação microbiológica no leite de vaca in natura e pasteurizado comercializado na cidade de Tucuruí, Pará. *Biota Amazon* [Internet]. 2019; 9(3):52–56. Available from: https://www.researchgate.net/publication/341035296_Avaliacao_microbiologica_no_leite_de_vaca_in_natura_e_pasteurizado_comercializado_na_cidade_de_Tucuruí_Para DOI: <http://dx.doi.org/10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v9n3p52-56>.
- 18- Santos IP, Melo TA, Souza FM. O. Análise microbiológica e identificação de adulterantes em leite in natura e pasteurizado comercializado em Jequié-BA. *RI* [Internet]. 2019; 7(1):66–82. Available from: <https://periodicos.unipe.br/index.php/interscientia/article/view/1004> DOI: <https://doi.org/10.26843/interscientia.v7i1.1004>.
- 19- Souza CS, Souza GOP, Alcântara TM, Fortuna JL. Análise microbiológica e físico-química de leite cru comercializado informalmente no município de Ibirapuã-Ba. *Rev Higiene Alimentar* [Internet]. 2021; 35(293):1.064. Available from: <https://higienealimentar.com.br/wp-content/uploads/2021/09/1064-Analise.pdf> DOI: <https://doi.org/10.37585/HA2021.02analise>.
- 20- Damasceno VS, Silva FM, Santos HCAS. Análise do perfil microbiológico de agentes causadores de mastite bovina e sua relação com a qualidade do leite em uma fazenda do Sul de Minas Gerais. *Braz J of Develop* [Internet]. 2020;6(11):91409-91421. Available from: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/20386/16306> DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n11-522>.
- 21- Luz DF, Bicalho FA, Oliveira MVM, Simões ARP. Avaliação microbiológica em leite pasteurizado e cru refrigerado de produtores da região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense. *Agrarian* [Internet]. 2011;4(14):367–74. Available from: <https://ojs.ufgd.edu.br/index.php/agrarian/article/view/1232>.
- 22- Brites ASS, Martins ML, Martins EMF, Talma SV, Barbosa JB, Ribeiro RAP. Enumeração, isolamento, caracterização e controle da multiplicação de *Staphylococcus aureus* isolado de leite cru granelizado. *Persp Online: Biol & Saúde* [Internet]. 2013;9(3):28–36. Available from: https://ojs3.perspectivasonline.com.br/biologicas_e_saude/article/view/135/68.
- 23- Martins AGA, AraújoCOM, Ribeiro CL. Avaliação da suscetibilidade antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* isolados de leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia/MA. In: *Ciência e Tecnologia de Alimentos: o avanço da ciência no Brasil*. São Paulo:

- Editora Científica Digital, 2023. Available from: <https://www.editoracientifica.com.br/books/chapter/230312563> DOI: <https://doi.org/10.37885/230312563>.
- 24- Schu KM, Zat LHS. Qualidade microbiológica de leites pasteurizados comercializados em um município do Oeste do Paraná. *Rev JRG Estud Acad* [Internet]. 2023; 6(13):639-647. Available from: <https://zenodo.org/records/8023953> DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.8023953>.
- 25- Oliveira F, Oliveira TFC, Moraes JFMA. Análise microbiológica de leite UHT e leite Pasteurizado comercializados no município de Campinas-SP. *Revista Health Sci Inst* [Internet]. 2021;39(2):79–85. Available from: https://repositorio.unip.br/wp-content/uploads/tainacan-items/34088/81177/01V39_n2_2021_p79a85.pdf.
- 26- Neto ACR, Ribeiro LF. Contagem de *Escherichia Coli* em Leite Pasteurizado. *Rev Getec* [Internet]. 2024;16(1):100-106. Available from: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/3382>.
- 27- Melo IA, Paiva MJM, Azevedo SB, Guerra RC. Avaliação da qualidade microbiológica do leite pasteurizado tipo C produzido na região de Araguaína-TO. *Braz J of Develop* [Internet]. 2020;6(9):68009-68016. Available from: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/16554/13529> DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-293>.
- 28- Moura LB. Análise microbiológica de leite pasteurizado tipo c destinado ao programa leite é saúde no Ceará. *Revista Verde* [Internet]. 2012;7(5):87–90. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=7424630>.
- 29- Santos DG, Gazola HQGB, Silva OB, Matos NB. Análise Microbiológica de Leite Produzido em Rondônia e Comercializados no Município de Porto Velho – RO. *South Am J Basic Educ* [Internet]. 2017;4(1):79–89. Available from: <https://periodicos.ufac.br/index.php/SAJEBTT/article/view/1101/806>.
- 30- Santos JK, Barros LSS, Medeiros ES, Silva TMS, Soares KDA, Silva AE. Caracterização fenotípica de biofilme e resistência antimicrobiana de estafilococos coagulase positiva presentes em leite pasteurizado sob inspeção estadual. *Rev bras hig sanid anim* [Internet]. 2018;12(2):190–97. Available from: <http://www.higieneanimal.ufc.br/seer/index.php/higieanimal/article/view/442/2326>.
- 31- Wörmann ME, Bhatte A, Wichmann-Schauer H, Tenhagen B.-A, Lienen T. Heat Inactivation of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains from German Dairy farms in Colostrum and Raw Milk. *Animals* [Internet]. 2023;13(22):3549. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/22/3549> DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13223549>.
- 32- Alves A. *Estatística aplicada: Análise de dados (Volume 1: Análise)*. São Paulo: Aprender estatística fácil; 2021.
- 33- Gehrke A-KE, Gai C, Gómez MI. *Staphylococcus aureus* Adaptation to the Skin in Health and Persistent/Recurrent Infections. *Antibiotics* [Internet]. 2023;12:1520. Available from: <https://www.mdpi.com/2079-6382/12/10/1520> DOI: <https://doi.org/10.3390/antibiotics12101520>.
- 34- Deddefo A, Mamo G, Leta S, Amenu K. Prevalence and molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* in raw milk and milkproducts in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *Int J Food Contam* [Internet]. 2022;9(8):1–21. Available from: <https://foodsafetyandrisk.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40550-022-00094-5> DOI: <https://doi.org/10.1186/s40550-022-00094-5>.