

MICRORGANISMOS ISOLADOS DE LEITE CRU PRODUZIDO EM DRACENA-SP: AERÓBIOS MESÓFILOS E FUNGOS. Juliana Lopes, Maria Luiza Poiatti, Aline Buda dos Santos, Giovana Rodrigues Hidalgo, Natália Thaís Gonçalves Koiyama. – Faculdade de Zootecnia – UNESP – Campus de Dracena

O leite é considerado o mais nobre dos alimentos, por sua composição rica em proteína, gordura, carboidratos, sais minerais, vitaminas, umidade, pH próximo da neutralidade e alta digestibilidade. Sendo assim, torna-se susceptível ao ataque de um grande número de microrganismos provenientes do próprio animal, do homem e dos utensílios da ordenha. É considerado como um meio de cultura natural e bastante favorável à reprodução ativa das bactérias (GONÇALVES e FRANCO, 1998).

A qualidade do leite cru é influenciada por muitas variáveis, dentre as quais estão os fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético dos rebanhos e aqueles relacionados à obtenção e armazenagem do leite. A temperatura e o período de armazenamento do leite antes da pasteurização determinam, de maneira seletiva e pronunciada, a intensidade de desenvolvimento das diversas espécies microbianas contaminantes, entre eles fungos e bactérias, constituindo-se em risco à saúde pública (ARCURI et al., 2006).

Os cuidados higiênicos para evitar a contaminação devem ser iniciados desde a ordenha e continuados até a obtenção do produto final. Através da contagem de bactérias presentes no leite é possível avaliar os procedimentos de ordenha adotados e a qualidade microbiológica do leite. No Brasil, tem-se adotado a coleta de leite a granel, no qual o leite cru, armazenado em tanques de expansão a 4°C por até 48 horas, é transportado para a indústria em caminhão com tanque isotérmico. Recentemente, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou a Instrução Normativa nº 51, que estabelece o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite Tipo A, do Leite Tipo B, do Leite Tipo C e do Leite Cru Refrigerado (BRASIL, 2002). No regulamento constam novos requisitos de qualidade, incluindo a contagem padrão de bactérias do leite. O limite máximo a ser aceito para o leite cru refrigerado, de produtores individuais das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste foi estabelecido em 1.000.000 UFC/ml, com redução gradativa a partir de 2008, até chegar ao limite de 100.000 UFC/ml em 2011. No entanto, até o momento, existem poucos dados sobre a situação dos produtores de leite em relação a esse aspecto.

Considerando os aspectos mencionados o presente trabalho foi proposto com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do leite cru produzido em Dracena-SP, entregue para as indústrias de beneficiamento de produtos lácteos, através da presença de bactérias aeróbias mesófilas (contagem padrão) e relação dessa enfermidade com o desenvolvimento de fungos e bolores no úbere dos animais.

Foram analisadas quatro propriedades de exploração leiteira, de um total de vinte, do Município de Dracena, localizado na Região da Alta Paulista, estado de São Paulo. Nos rebanhos estudados o sistema de criação era extensivo, alimentação a pasto e água procedente de poços e açudes. Os animais, aparentemente sadios, provenientes de rebanhos mestiços, eram ordenhados uma ou duas vezes ao dia, manualmente (A, B e C) e por ordenhadeira mecânica (propriedade D). As amostras de leite (150 mL) foram colhidas assepticamente, em frascos estéreis, após lavagem e desinfecção do úbere e enviadas sob condições de refrigeração ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Zootecnia, Campus Experimental de Dracena. Foram realizadas diluições seriadas até 10^{-4} tanto para a detecção de bactérias como para a de fungos. Meios de cultura PCA, Verde Brilhante e Macconkey (Difco®), foram utilizados e as amostras semeadas em duplicatas, incubadas a 35-37°C, por 24-48 horas (MARSHALL, 1992). As colônias bacterianas obtidas foram submetidas aos esfregaços segundo a metodologia de Gram. Para fungos utilizou-se Ágar Sabouraud (Difco®) e após cinco dias, em temperatura ambiente, foi observado o crescimento das colônias. Os fungos foram classificados por gêneros, levando-se em conta o aspecto visual das colônias bem como as estruturas microscópicas, a partir dos micélios aéreos e vegetativos.

Os resultados parciais das análises bacteriológicas e de fungos estão apresentados na Tabela 1.

TABELA 1 – Médias de contagem padrão de microrganismos aeróbios mesófilos e fungos no leite cru produzido em Dracena-SP

Propriedades Produtoras	Bactérias aeróbias mesófilas (UFC/ml)	Fungos (UFC/ml)
A	$0,5 \times 10^4$	$3,0 \times 10^4$
B	$1,4 \times 10^5$	$3,5 \times 10^4$
C	$5,3 \times 10^6$	$5,0 \times 10^4$
D	$5,1 \times 10^5$	$4,5 \times 10^4$

Como pode ser observado, a maior média de contagem bacteriana foi evidenciada na propriedade C e não atende aos requisitos da Instrução Normativa 51 do MAPA (BRASIL, 2002), que estabelece $<1,0 \times 10^6$ UFC/ml para contagem padrão em 2005/2008. As propriedades B e D atenderiam à proposta de $<7,5 \times 10^5$ UFC/ml em 2008/2011 e a propriedade A atenderia à exigência de $<1,0 \times 10^5$ UFC/ml a partir de 2011. Resultados similares foram encontrados por NERO et al. (2004), cuja investigação a respeito do leite cru produzido em diferentes regiões brasileiras indicou aderência ao requisito de $<10^6$ UFC/ml da IN 51 em Viçosa-MG, Londrina-PR, Pelotas-RS e Botucatu-SP, de 80,8%, 52,4%, 42,0% e 32,0%, respectivamente. A maioria dos produtores necessita, portanto, canalizar esforços na melhoria das condições higiênicas durante a ordenha e o armazenamento do leite, e na sua refrigeração rápida na temperatura de 4°C, para reduzir os níveis de contaminação microbiana e atender ao padrão definitivo para 2011.

O Gram das colônias bacterianas mostrou características sugestivas de pertencerem aos gêneros: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* e bastonetes Gram negativos, necessitando de outros testes bioquímicos para a sua confirmação.

Os resultados para fungos evidenciaram crescimento de diferentes colônias em todas as propriedades estudadas: *Penicillium* sp., *Neurospora* sp., *Aspergillus* sp., *Mucor* sp. e leveduras. As propriedades C e D evidenciaram maior crescimento do gênero *Neurospora*. A presença de leveduras e o gênero *Aspergillus* tiveram maior crescimento na propriedade B. A menor quantidade de microrganismos fúngicos foi observada na propriedade A. O crescimento de fungos pode estar associado às práticas de ordenha insatisfatórias e a possíveis falhas na limpeza e desinfecção do ambiente de obtenção do leite. MARTINS et al. (1995) encontraram 1,54% de fungos filamentosos associados a casos de mastite subclínica, indicando haver correlação desses agentes na contaminação da glândula mamária.

O leite obtido em três (A, B e D) das quatro propriedades rurais avaliadas apresentou qualidade microbiológica satisfatória quando comparada aos padrões da legislação vigente.

A utilização do leite cru para confecção de produtos lácteos artesanais pode trazer risco à saúde pública, principalmente pela possibilidade de ocorrência de estirpes potencialmente toxigênicas causadoras de toxinfecções alimentares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCURI, E.F., BRITO, M.A.V.P., BRITO, J.R.F., PINTO, S.M., ANGELO, F. F., SOUZA, G. N. Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. **Arq.Bras.Med.Vet.Zootec.**, v.58, n.3, p.440-446, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa no. 051, de 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília, 20 set. 2002. Seção 1, p.13-22.

GONÇALVES, R. M. S; FRANCO, R. M. Determinação da carga microbiana em leite pasteurizado tipos “B” e “C”, comercializados na cidade do Rio de Janeiro. São Paulo, **Rev. Hig. Alim**, 12 (53): 61-65, 1998.

MARSHALL, R.T. **Standard methods for the examination of dairy products**. 16.ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992. 546p.

MARTINS, L.; CARDOSO, C. M.; SANTIAGO, V.; LADEIRA, S. Agentes causadores de mastite em bovinos no sul do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 1995, Santos. **Resumos...** Santos, 1995. p. 129.

NERO, L.A.; FRANCO, B.D.G.M.; MATTOS, M.R. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela instrução normativa nº51. In: DURR, J.W.; CARVALHO, M.P.; SANTOS, M.V. (Eds.). **O compromisso com a qualidade do leite no Brasil**. Passo Fundo, RS: UFP Editora, 2004. p.189-194.