AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DO LEITE CRU COMERCIALIZADO NAS VIAS PÚBLICAS DO MUNICÍPIO DE AÇAILÂNDIA – MA POR *Staphylococcus* coagulase POSITIVA.

André Gustavo Lima de Almeida Martins ✉
Instituto Federal do Maranhão – Campus Açailândia – MA

Adenilde Ribeiro Nascimento
Universidade Federal do Maranhão – São Luís – MA

Denise Silva do Amaral
Instituto Federal do Maranhão – Campus Açailândia – MA

Nestor Everton Mendes Filho
Universidade Federal do Maranhão – São Luís – MA

Abel Batista de Oliveira
Instituto Federal do Maranhão – Campus Açailândia – MA

✉ andremartins@ifma.edu.br

RESUMO

No Brasil, o leite cru é um dos principais produtos agropecuários, devido principalmente ao seu elevado comércio e consumo. O crescimento desse comércio e consumo está relacionado com a importância econômica e nutricional que esse produto representa, pois, além de gerar empregos e renda, o leite desempenha um importante papel na alimentação humana. Uma das consequências do consumo do leite cru é a possibilidade de veicular doenças transmitidas por alimentos. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a contaminação do leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia/MA *Staphylococcus* coagulase positiva. Foram analisadas cento e vinte amostras coletadas no período de março a outubro de 2014. Os resultados evidenciaram que 100% das amostras analisadas apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva. A ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva potencialmente enterotoxigênicos no leite cru representa um problema de Saúde Pública devido ao risco de causar intoxicação alimentar, além de ressaltar a necessidade de reavaliação dos padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira para este produto.

Palavras-chave: *Leite cru. Segurança alimentar. Staphylococcus coagulase positiva*

ABSTRACT

In Brazil, the fresh milk is one of the main agricultural products, mainly due to its high trade and consumption. The growth of this trade

and consumption is related to the economic and nutritional importance that this product is because, in addition to generating jobs and income, milk plays an important role in human nutrition. One of the consequences of the consumption of fresh milk is the possibility of vehicular foodborne illness. In this context, this study aimed to identify the presence of coagulase-positive Staphylococci in raw milk marketed informally in the municipality of Açailândia/MA. Were analyzed hundred and twenty samples collected in the period from March to October 2014. The results showed that 100% of the samples were contaminated by Staphylococcus coagulase positive. The occurrence of potentially enterotoxigenic Staphylococcus coagulase positive in fresh milk poses a public health problem because of the risk of causing food poisoning, and underline the need for reevaluation of the microbiological standards established by the Brazilian legislation for this product.

Keywords: *Raw milk. Food security. Coagulase-positive Staphylococci.*

INTRODUÇÃO

O leite é um alimento com excepcional valor nutritivo e amplamente consumido pela população mundial, entretanto, é, também, um excelente meio de cultura para muitos micro-organismos, logo, a existência de problemas relacionados a condições higiênicas deficientes durante os processos de obtenção, manipulação e conservação vêm sendo considerada como uma das principais razões para a perda de qualidade do leite (BONFOH et al., 2003).

A comercialização informal do leite sem qualquer tratamento térmico, controle de qualidade e inspeção sanitária é comum e ocorre em algumas regiões do Brasil. Embora o mercado ofereça muitas opções, uma parcela da população ainda adquire e consome leite cru. O hábito de consumir leite cru, por uma parcela considerável da população, está diretamente relacionado a conceitos previamente formados de que este produto possui boa qualidade, além de desconhecimento dos riscos que esse produto pode oferecer (SILVEIRA; BERTAGNOLLI, 2014).

O comércio de leite cru é proibido no Brasil desde a década de 1950 pela Lei nº 1.283, de 18/12/1950 e pelo Decreto nº 30.691 de 29/03/1952 (BRASIL, 1997). Entretanto, a comercialização de leite clandestino cresceu significativamente a partir do início da década de 1990 uma vez que, durante esse período, a cadeia produtiva do leite passou por um profundo processo de transformação, tanto em termos estruturais como operacionais, exigindo diversos ajustes e adaptações para se aproximar do nível de qualidade, volume e regularidade que o varejo e as empresas laticinistas passaram a demandar (OLIVAL, SPEXOTO, 2004).

Dentre os diversos gêneros de micro-organismos patogênicos que podem ser transmitidos através do leite e derivados, destaca-se o *Staphylococcus*, cuja importância na epidemiologia das doenças veiculadas por alimentos decorre de sua alta prevalência e do risco de produção, nos alimentos contaminados, de toxinas causadoras de gastrenterites alimentares. Entre as espécies de *Staphylococcus* enterotoxigênicos coagulase positiva, estão o *Staphylococcus aureus* responsável por surtos de intoxicação alimentar pela habilidade de produzirem exotoxinas superantigênicas (PTSAg), como as enterotoxinas que estimulam a proliferação não-específica de células T. Outras espécies produtoras de coagulase, como *Staphylococcus intermedius* e *Staphylococcus hyicus*, também produzem enterotoxinas e estão envolvidas em surtos de intoxicações alimentares (STAMFORD et al., 2006).

No município de Açailândia - MA, o comércio informal de leite cru, em virtude do mesmo não passar por nenhum tratamento térmico é considerado um problema de Saúde Pública, sendo consumido, principalmente, pela população de baixa renda em função do baixo custo. Neste contexto, esta pesquisa teve como objetivo avaliar a contaminação do leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia - MA por *Staphylococcus* coagulase positiva.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras

As coletas foram realizadas semanalmente no período de março a outubro de 2014, onde cento e vinte amostras de leite cru foram adquiridas de diferentes vendedores distribuídos em vários pontos de venda previamente identificados pela pesquisa de campo nos bairros do município de Açailândia - MA. As amostras foram coletadas nas próprias embalagens de venda do leite (saco plástico transparente e liso com capacidade para 1kg), em seguida identificadas, acondicionadas em caixas isotérmicos e transportadas para o Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão, Campus Açailândia, onde foram realizadas as análises pertinentes. As temperaturas das amostras foram medidas no ato da coleta, utilizando-se um termômetro digital infravermelho portátil. As análises microbiológicas foram realizadas segundo a metodologia descritas no *Compêndio of Methods for the Microbiological Examination of Foods* (VANDERZANT; SPLITISTOESSER, 2001).

Contagem e identificação de *Staphylococcus* coagulase positiva

Após a realização da assepsia da embalagem, foram pipetados assepticamente 25mL de cada amostra e adicionados em um erlenmeyer contendo 225mL de solução salina 0,85% NaCl estéril (diluição 10^{-1}). A partir desta diluição, foram preparadas as séries de diluições sucessivas até a diluição 10^{-4}, utilizando-se tubos de ensaio contendo 9mL do mesmo diluente. Em seguida, retirou-se de cada diluição uma alíquota de 0,1mL as quais foram semeadas em placas de Petri contendo o Agar Baird-Parker com auxílio da alça de Drigalsky (Técnica "Spread Plate"). As placas foram incubadas 37ºC por 24/48 horas. Após o período de incubação, as placas contendo entre 30 e 300 colônias foram contadas e as colônias típicas isoladas em tubos contendo o Agar Triptona de Soja inclinado com incubação a 37ºC por 24 horas. Em seguida, as colônias típicas foram submetidas aos testes de coloração de Gram, coagulase e catalase para a identificação das cepas de *Staphylococcus* como sendo coagulase positiva ou negativa.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O leite cru apresentou elevada contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva e *Staphylococcus* sp. em 100% das amostras. Os resultados evidenciaram que do total de 420 cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, isoladas a partir do leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia - MA e submetidas ao teste de coagulase, 389 colônias (92,61%) apresentaram positividade. Os resultados referentes aos valores mínimos, máximos e médios para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus* sp. e as medidas das temperaturas de comercialização do leite, estão expressas na Tabela 1.

Os valores para as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva variaram de $2{,}8x10^{3}$UFC/mL a $2{,}3x10^{6}$UFC/mL, com média de $4{,}6x10^{5}$UFC/mL. Este nível de contaminação é considerado alto e pode favorecer a produção de enterotoxinas sob condições ambientais adequadas. Esta contaminação pode ser explicada pela diversificação de sistemas de produção e de manejos utilizados pelos produtores, o que leva à maior ou menor contaminação do leite por *Staphylococcus* devido à mastite e/ou por contaminação pelos ordenhadores portadores assintomáticos. Já para o *Staphylococcus* sp. o valor médio foi de $9{,}0x10^{6}$UFC/mL, o mínimo de $7{,}2x10^{3}$UFC/mL e máximo de $2{,}3x10^{8}$UFC/mL. Segundo Jay (2005), amostras que apresentam contagem de *Staphylococcus* sp. acima de 10^{3}UFC/g são inaceitáveis para o consumo.

Com relação à temperatura na qual o leite estava sendo comercializado à média foi de 29°C, a mínima de 28°C e a máxima de 30°C (Tabela 1). Maciel et al. (2008) ao avaliarem a qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA, verificaram que a temperatura do leite cru, no momento da coleta, variou de 26,2°C a 31,9°C, tendo em vista que a população de Itapetinga preferia comprar esse tipo de leite não refrigerado no período da manhã, aproximadamente, das 7:30 às 11 horas. Dados que corroboram com os encontrados nesta pesquisa.

Segundo, Fagundes e Oliveira (2004), o *Staphylococcus* é classificado como um micro-organismo mesófilo, porém, pode apresentar crescimento em temperaturas compreendidas entre 7°C e 48,7°C. As enterotoxinas estafilocócicas, por outro lado, são produzidas entre 10°C e 46°C e apresentam elevada resistência térmica, podendo sobreviver nos tratamentos térmicos comumente aplicados ao leite, como a pasteurização.

Embora o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), na Instrução Normativa N° 62, de 29 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011), não estabeleça padrão microbiológico para *Staphylococcus* coagulase positiva em leite cru, os valores identificados nesta pesquisa são preocupantes, podendo o produto causar intoxicação alimentar.

Scabin et al. (2012), ao testarem

Tabela 1 - Valores médios, mínimos e máximos, referentes à contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus* sp. e as medidas das temperaturas de comercialização do leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia/MA no período de março a outubro de 2014.

PARÂMETROS	MÉDIA	MÍNIMO	MÁXIMO
Staphylococcus coagulase positiva (UFC/mL)	$4{,}6x10^{5}$	$2{,}8x10^{3}$	$2{,}3x10^{6}$
Staphylococcus sp. (UFC/mL)	$9{,}0x10^{6}$	$7{,}2x10^{3}$	$2{,}3x10^{8}$
Temperatura de comercialização (T°C)	29	28	30

Nota: UFC/mL: Unidade Formadora de Colônia por mililitro de leite; T°C: Temperatura em graus centígrados

a qualidade microbiológica do leite cru durante o processo de obtenção e após o resfriamento, encontraram contagens de *Staphylococcus aureus* (coagulase positiva) superiores a 10^6UFC/mL, sendo que esta contaminação correspondeu a 76,6% das amostras. Quintana e Carneiro (2006), ao avaliarem a qualidade do leite cru comercializado clandestinamente no município de Morrinhos, GO, evidenciaram contagens para *Staphylococcus* coagulase positiva superiores a 10^4UFC/mL em 28,5% das amostras. Resultados semelhantes aos achados nesta pesquisa. Alves et. al. (2009) em um estudo realizado para avaliar a qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA, constataram que 31% das amostras apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva, com contagens variando de 10^5 a 10^6UFC/mL, faixas que correspondem aos níveis de contagens necessárias para elaboração de toxina estafilocócica.

A alta incidência de *Staphylococcus* coagulase positiva nas amostras de leite cru analisadas nesta pesquisa, pode ser conseqüência, entre outros fatores, da mastite bovina, pois o *Staphylococcus* é o agente mais frequentemente isolado em animais com esse tipo de enfermidade. O *Staphylococcus* coagulase positiva, tem também como reservatório natural, a pele dos quartos do úbere e tetos da vaca e pode ser veiculado pelo ordenhador de um animal para o outro durante a ordenha. Todavia, cepas advindas de outras origens também podem ser disseminadas. Outro fator agravante é que o leite, quando exposto ao consumidor em estabelecimentos comerciais ou comercializado nas ruas, não é mantido sob temperatura de refrigeração (4°C), o que favorece o desenvolvimento de *Staphylococcus* e de outros micro-organismos, tais como os coliformes a 45°C, acarretando possíveis riscos ao consumidor (SILVA et al., 2000).

De acordo com Nero, Maziero e Bezerra (2003), o hábito de consumir leite cru, por uma parcela considerável da população, está diretamente relacionado a conceitos previamente formados de que este produto possui boa qualidade, além de desconhecimento dos riscos que esse produto pode oferecer. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), dezesseis doenças bacterianas e sete viróticas são veiculadas pelo leite cru, dentre elas a tuberculose, a brucelose e as gastroenterites, sendo esta uma grave consequência da baixa qualidade do leite proveniente do mercado informal (AGNESE et al., 2002).

A qualidade microbiológica do leite cru é um fator muito importante a ser considerado e depende da saúde da glândula mamária, das condições de manejo do rebanho, da higiene na obtenção do leite e da sala de ordenha, equipamentos e utensílios usados, do estado de saúde do ordenhador e das condições de estocagem. Se estes parâmetros não forem considerados e não haver a realização das normas de boas práticas de produção, a população bacteriana irá aumentar e este aumento é indesejável para o consumidor, pois coloca em risco a saúde do mesmo devido à maior probabilidade de veiculação micro-organismos, muitas vezes de alta patogenicidade e para a indústria, devido a problemas na estocagem e no processamento do leite, além de características sensoriais indesejáveis (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesta pesquisa evidenciam que, a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva no leite cru comercializado nas vias públicas do município de Açailândia - MA, representa implicações importantes em Saúde Pública, sendo um risco em potencial para quem o consome diretamente ou na forma de seus derivados, tendo em vista que este micro-organismo é produtor de toxinas as quais podem ser excretadas no leite e permanecer estáveis no produto oferecido ao consumidor, mesmo após o processo de cocção.

Diante do exposto, torna-se evidente a necessidade de um permanente controle higienicossanitário do leite para consumo humano nas etapas de produção, industrialização e comercialização, contribuindo na inocuidade dos alimentos.

REFERÊNCIAS

AGNESE, AP; NASCIMENTO, AMD; VEIGA, FHA; PEREIRA, BM; OLIVEIRA, VM. Avaliação físico-química do leite cru comercializado informalmente no município de Seropédica/RJ. **Rev Hig Alimentar**, v.16, n.94. p.58-61, 2002.

ALVES, LMC; AMARAL, LA; CORRÊA, MR; SALES, SS. Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA. **Pesquisa em Foco**, v.17, n.2, p.01-13, 2009.

BONFOH, B; WASEM, A; TRAORE, AN; FANE, A; SPILLMANN, H; SIMBE, CF; ALFAROUKH, IO; NICOLET, J; FARAH, Z; ZINSSTAG, J. Microbiological quality of cows' milk taken at different intervals from udder to the selling point in Bamako-Mali. **Food Control**, v.14, n.7, p.495-500, 2003.

BRASIL. Instrução Normativa N° 62, de 29 de dezembro de 2011. Aprovar o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. **DO.** Brasília, p.1-24 dez. 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura.

Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos n°s. 1255, de 25 de junho de 1962, n. 1236, de 2 de setembro de 1994, n. 1812, de 8 de fevereiro de 1996, e n. 2.244, de 4 de junho de 1997. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal-RIISPOA. Brasília, DF, 1997.

FAGUNDES, H; OLIVEIRA, CAF. Infecções intramamárias causadas por *Staphylococcus aureus* e suas implicações em saúde pública. **Rev Ciênc Rural**, v.34, n.4, p.1315-1320, 2004.

JAY, JM. **Microbiologia dos Alimentos**. 1ª. Ed, Porto Alegre: Editora Artmed, 2005. p 710.

LEITE, CC; GUIMARÃES, AG; ASSIS, PN; SILVA, MD; ANDRADE, CSO. Qualidade bacteriológica do leite integral (tipo C) comercializado em Salvador/Bahia. **Rev Bras de Saúde e Produção Animal**, v.3, n.1, p.21-25, 2002.

MACIEL, JF; CARVALHO, EA; SANTOS, LS; ARAÚJO, JB; NUNES, VS. Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA. **Rev Bras de Saúde e Produção Animal**, v.9, n.3, p.443-448, jul/set, 2008.

NERO, LA; MAZIERO, D; BEZERRA, MMS. Hábitos alimentares do consumidor de leite cru de Campo Mourão/PR. **Rev Ciênc Agrárias**, v.24, n.1, p.21-26, jan/jun. 2003.

OLIVAL, AA; SPEXOTO, AA. Leite informal no Brasil: aspectos sanitários e educativos. **Rev Hig Alimentar**, v.18, n.119. p.12-17, 2004.

QUINTANA, RC; CARNEIRO, LC. Avaliação do leite *in natura* comercializado clandestinamente no município de Morrinhos, GO. **Rev do Inst Adolfo Lutz**, v.65, n.3, p.194-198, set.-dez. 2006.

SILVA, WP; DESTRO, MT; LANDGRAF, M; FRANCO, BDGM. Biochemical characteristics of typical and atypical *Staphylococcus aureus* in mastitic milk and environmental samples of Brazilians dairy farms. **Brazilian Journal Microbiology**, v.31, p.103-106, 2000.

SILVEIRA, MLR; BERTAGNOLLI, SMM. Avaliação da qualidade do leite cru comercializado informalmente em feiras livres no município de Santa Maria/RS. **Rev Vigilância Sanitária em Debate**, n.2, v.2, p.75-80, 2014.

SCABIN, KEM; ANDREANI, DIK; FRIAS, DFR. Qualidade microbiológica do leite *in natura* durante o processo de obtenção e após o resfriamento. **Rev CES Medic Vet e Zootec**, v.7, n.1, 2012.

STAMFORD, TLM; SILVA, CGM; MOTA, RA; CUNHA NETO, A. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* sp. isolados de leite *in natura*. **Ciênc Tecnol Aliment**, Campinas, v.26, n.1, p.41-45, jan.-mar. 2006.

VANDERZANT, C; SPLITTSTOESSER, DF. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3 ed. Washington: American Public Health Association – APHA, 2001.

NA CRISE, REDES DE *FAST FOOD* CORTAM PREÇOS EM ATÉ 50%.

As redes de fast food estão promovendo uma guerra de preços para segurar os clientes em meio à crise econômica. No caso do McDonald's, o diretor de marketing Roberto Gnypek explica que a rede está mais orientada a promoções do que em tempos de bonança. Outra empresa que limitou os preços foi o Habib's, "estamos indo ao limite do preço, da margem", diz André Marques, diretor de marketing. A rede Giraffas lançou também uma promoção que reduz ainda mais seus preços para o cliente que for à loja com um acompanhante. Para a Abrasel, associação que reúne bares e restaurantes no País, o brasileiro vive um momento em que está trocando suas conquistas de consumo por opções mais baratas, mesmo em segmentos de renda mais alta, a troca por opções mais em conta é uma realidade (Maria Gazzoni Fernando Scheller, Estadão, abril/16).