

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO LEITE *in natura* COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE ALEGRE – ES

Mirian de Souza Seixas¹, Marina Lima da Silveira¹, Enrico Mariano Fioresi Lacerda², Mariana Costa Milan¹, Gabriel de Oliveira Moura¹, Mariana Drummond Costa Ignachiti¹, Juliana Alves Resende^{1,2}

¹Universidade Federal do Espírito Santo - UFES, Departamento de Farmácia e Nutrição/CCENS, Av. Alto Universitário, s/n, Guararema - 29.500-000 - Alegre - ES, Brasil, mirianseixas18@gmail.com, marinals2708@gmail.com, marianoenrico91@gmail.com, marianacostamilan@gmail.com, gabrieloliveiramoura@gmail.com, marianadci@gmail.com

²Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – PPGCV, Alto Universitário, s/n – Guararema, 29.500.000 - Alegre - ES, Brasil, marianoenrico91@gmail.com, juliana.resende@ufes.br.

Resumo

O leite desempenha um papel importante na economia brasileira. Contudo, o consumo do leite sem passar por processos de pasteurização ou tratamento térmico adequado, pode representar sérios riscos à saúde pública. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite *in natura* comercializado no município de Alegre, Espírito Santo. Para tanto, foram coletadas cinco amostras de leite diretamente de vendedores em feiras livres e de domicílios. Os resultados indicaram que, embora a contagem de células somáticas nas amostras tenha permanecido abaixo do limite regulamentar de 500.000 CS/mL, a contagem bacteriana total excedeu significativamente os limites aceitáveis, comprometendo a qualidade microbiológica do leite. Além disso, foi observada uma elevada contagem bacteriana psicrotófica, o que compromete a conservação do produto. Também foram detectados resíduos de antimicrobianos, incluindo quinolonas, tetraciclina e betalactâmicos, sugerindo um uso inadequado de medicamentos veterinários e a falta de observância dos períodos de carência, evidenciando a necessidade de controle mais rigoroso e boas práticas na produção leiteira.

Palavras-chave: Contagem de células somáticas. Contagem bacteriana total. Contagem de bactérias psicrotóxicas. Antimicrobianos.

Área do Conhecimento: Ciências da Saúde - Farmácia.

Introdução

O leite é essencial na alimentação humana, pois apresenta alto valor nutritivo e é fonte de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (Müller; Rempel, 2021). A produção de leite no Brasil é uma atividade significativa em termos de geração de emprego e rentabilidade para o país. A pesquisa agropecuária mais recente, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), revelou que existem, no Brasil, 1,8 milhão de propriedades produtoras de leite, sendo imprescindível salientar que a atividade leiteira é importante, e está presente em cerca de 40% das propriedades rurais do país (EMBRAPA, 2021).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite (MAPA, 2024). Desse modo, apesar de sua destacada posição no ranking global, o país enfrenta desafios substanciais em termos de produtividade e qualidade do leite cru. Os principais problemas estão relacionados à elevada contaminação microbiana, que causa uma rápida deterioração do leite (Marioto *et al.*, 2020). A qualidade do leite *in natura* é determinada por vários fatores interconectados, como o zootécnico, que inclui as práticas de cuidado e higiene dos animais, a alimentação balanceada e nutritiva das vacas. Além disso, a genética dos rebanhos pode afetar as características do leite, o sabor e a composição (Rosa *et al.*, 2017).

Em virtude do elevado consumo de leite no país, a qualidade do produto se tornou uma questão de saúde pública e industrial. Diante disso, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) publicou em 26 de novembro de 2018 a Instrução Normativa nº 76 (IN 76), que estabelece padrões de produção, identidade e qualidade do leite. Esta normativa abrange o manejo da ordenha, resfriamento,

transporte, parâmetros físico-químicos, microbiológicos e contagem de células somáticas, aumentando as exigências para propriedades rurais e indústrias (BRASIL, 2018).

Para avaliar a qualidade do leite é utilizado o método de quantificação de bactérias (Wnuk; Lewinska, 2021). Dessa forma, a contagem bacteriana total (CBT) e contagem de bactérias psicrótróficas (CBP) são métodos essenciais para avaliar a qualidade do leite cru refrigerado. Os resultados desses testes são influenciados por vários fatores, incluindo a ausência de um espaço específico para a ordenha, falta de higiene desde a coleta até a estocagem e o armazenamento do leite em temperatura inadequada (Gualberto *et al.*, 2022).

A contagem de células somáticas no leite (CCS) é uma ferramenta para avaliar o padrão do leite e a saúde das vacas (Lopes *et al.*, 2011). O aumento da contagem de células somáticas (CCS) no leite são indicadores de mastite no rebanho que é uma inflamação da glândula mamária em resposta a infecções bacterianas causada por microrganismos do ambiente, alterando as propriedades físico-químicas do leite (Tito, 2022). A técnica envolve a quantificação das células somáticas, provenientes da descamação das glândulas mamárias e das células leucocitárias (Mendonça *et al.*, 2022).

A presença de resíduos antimicrobianos no leite pode afetar a saúde humana, ocasionando resistência microbiana e desequilíbrio da microbiota intestinal dos consumidores. Essas substâncias químicas podem ser encontradas no leite devido aos tratamentos que foram realizados nos bovinos de maneira indiscriminada ou aplicação incorreta de produtos veterinários. O uso de antimicrobianos é importante para a saúde do animal, prevenindo de zoonoses ou doenças alimentares que podem acometer a saúde da população (Pereira; Scussel, 2017; Carvalho *et al.*, 2020).

Portanto, o objetivo geral deste estudo foi avaliar a qualidade higiênico-sanitária do leite *in natura* comercializado informalmente no município de Alegre – ES. Isso incluiu a análise das amostras quanto à CCS, CBT, CBP e presença de resíduos antimicrobianos, a fim de determinar se o leite é próprio para o consumo humano e se pode representar potencial fonte de agentes patogênicos.

Metodologia

Foram coletadas 5 amostras diferentes de leite *in natura* adquiridos diretamente dos vendedores de feiras livres e em domicílio no município de Alegre – ES, onde são comercializados informalmente. As amostras coletadas foram armazenadas em caixas isotérmicas com gelo e encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas, campus Alegre, onde os testes foram realizados.

A CCS foi realizada utilizando o kit comercial IDEXX Somaticell SCC (São Paulo, Brasil) de acordo com metodologia do fabricante. Foram adicionados 2 mL do reagente Somaticell e 2 mL de leite a um tubo, evitando a formação de espuma. A mistura foi homogenizada com uma haste por 10 movimentos verticais. O tubo foi fechado com uma tampa calibrada e deixado em repouso antes de ser invertido e escurrido por 20 segundos, cronometrados. Após 15 segundos de espera, a leitura visual do número de células somáticas foi feita diretamente na escala do tubo graduado, conforme os critérios de qualidade do leite.

Para a CBT e CBP foram realizadas as diluições 10^{-2} a 10^{-5} , e 0,1 mL de cada diluição inoculado na superfície de placas de Petri contendo Ágar Caseína-Soja, em duplicata, pela técnica de semeadura de superfície. As placas CBT foram incubadas à $32,5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ por até cinco dias. As placas CBP foram incubados a $7\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 dias. Após o crescimento, utilizando a média aritmética das placas foi calculado o número de unidades formadoras de colônias por mililitro de amostra (UFC/mL).

A detecção de resíduos de antimicrobianos no leite foi realizada utilizando o kit BetaStar® Combo (Neogen, Esher, Inglaterra), seguindo as instruções do fabricante. Este teste rápido, baseado em imunocromatografia com ouro coloidal, permite a identificação simultânea de resíduos de antimicrobianos dos grupos betalactâmicos, tetraciclina e quinolonas. O procedimento envolveu a abertura do tubo, remoção e tampamento do micro poço, seguido pela adição de 200 μL de leite no micro poço. A amostra foi misturada com o reagente por 10 pipetagens e incubada por 3 minutos. Posteriormente, a tira teste foi inserida no micro poço novamente por 7 minutos e retirada para a análise dos resultados.

Resultados

Foram analisadas 5 amostras de leite *in natura* do município de Alegre – ES. Os resultados obtidos para CCS, CBT, CBP e a presença de resíduos de antimicrobianos estão detalhados na Tabela 1. Os

dados obtidos foram comparados com o valor de referência estabelecido pela IN 76 (BRASIL, 2018), quanto aos padrões a presença de CCS no leite deve ser inferior a 500.000 CS/mL (quinhentas mil células por mililitro), CBT inferior a 300.000 UFC/mL (trezentas mil unidades formadoras de colônia por mililitro).

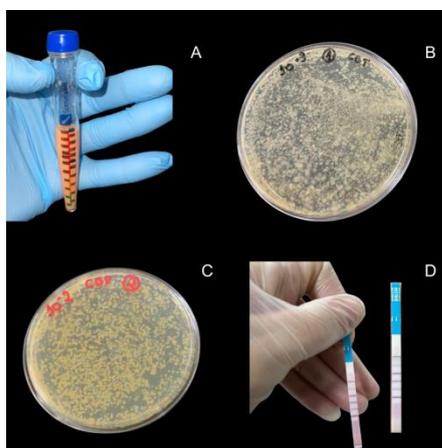
Tabela 1- Resultados das análises microbiológicas e de resíduos de antimicrobianos nas amostras de leite *in natura*, incluindo contagem de células somáticas (CCS), contagem bacteriana total (CBT), contagem de bactérias psicotróficas (CBP) e presença de resíduos de antimicrobianos.

Amostras	CCS (CS/mL)	CBT (UFC/mL)	CBP (UFC/mL)	Resíduos de antimicrobianos
1	400.000	4,40 x 10 ⁵	2,66 x 10 ⁵	Quinolona
2	350-360.000	2,76 x 10 ⁷	1,58 x 10 ⁶	Tetraciclina e Quinolona
3	300.000	5,10 x 10 ⁶	5,0 x 10 ⁴	Betalactâmico
4	250.000	Incontáveis	Incontáveis	Tetraciclina e Quinolona
5	170.000	7,48 x 10 ⁷	3,80 x 10 ⁷	Quinolona

Fonte: Os autores.

A Figura 1 ilustra os resultados das análises microbiológicas e de resíduos de antimicrobianos encontradas nas amostras de leite *in natura*. A Figura 1A mostra o tubo utilizado para a medição da contagem de células somáticas (CCS), com a escala de referência indicando a concentração de células somáticas por mililitro de leite. A Figura 1B ilustra os resultados da contagem bacteriana total (CBT) e na Figura 1C, são apresentados os resultados da contagem de bactérias psicotróficas (CBP). Finalmente, a Figura 1D demonstra a detecção de resíduos de antimicrobianos utilizando o teste BetaStar® Combo (Neogen).

Figura 1 –Imagens ilustrativas dos resultados das análises; contagem de células somáticas (A), contagem de bactérias totais (B), contagem de bactérias psicotróficas (C) e resíduos de antimicrobianos (D).



Fonte: Os autores.

Discussão

A contagem de CCS é um importante indicador da qualidade do leite, refletindo a presença de células descamadas do epitélio secretor e leucócitos. Níveis elevados de CCS podem ser indicativos de mastite subclínica, uma inflamação da glândula mamária frequentemente associada a infecções bacterianas (Jamás *et al.*, 2018). A legislação brasileira estabelece um limite máximo de 500.000

células por mililitro (CS/mL) para a CCS no leite. Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que todas as amostras analisadas estavam abaixo desse limite, atendendo aos padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 76 (BRASIL, 2018). Este resultado está em concordância com o estudo de Dos Santos *et al.* (2022), que encontrou 75% das amostras dentro dos padrões legais em Castanhal – PA.

A CBT avalia o número total de microrganismos aeróbicos presentes no leite, fornecendo uma medida da sua qualidade microbiológica (Jamas *et al.*, 2018). No presente estudo, a CBT de todas as amostras excedeu significativamente o limite máximo permitido de 300.000 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL). A amostra 4 apresentou uma contagem bacteriana total (CBT) tão elevada que foi classificada como "incontável", indicando uma densidade de colônias bacterianas que impossibilitou a quantificação precisa. Esse resultado sugere uma contaminação bacteriana severa, refletindo uma proliferação excessiva de microrganismos e comprometendo significativamente a qualidade do leite. Fatores como temperatura e tempo de armazenamento do leite são críticos para o controle da multiplicação microbiana (Gualberto *et al.*, 2022). Estudos de Arbello *et al.* (2021) e Neta *et al.* (2021) também relataram níveis elevados de CBT, evidenciando falhas em práticas de higiene e manejo adequado durante a ordenha, bem como condições inadequadas de estocagem e transporte.

A CBP reflete a presença de microrganismos que proliferam em temperaturas de refrigeração, afetando a conservação do leite. Embora não haja uma legislação específica para a CBP, níveis superiores a 100.000 UFC/mL podem comprometer a qualidade do leite e resultar em perdas na composição (Müller; Rempel, 2021). No presente estudo, apenas a amostra 3 apresentou uma CBP abaixo desse limite, o que indica uma melhor conservação em comparação com as outras amostras. Resultados semelhantes foram encontrados por Arcuri *et al.* (2008) e Zhang *et al.* (2020), que também observaram níveis elevados de bactérias psicotróficas no leite cru, destacando a importância das práticas de higiene e das condições de armazenamento para manter a qualidade do leite. A alta contagem de bactérias psicotróficas está associada a alterações bioquímicas nos componentes do leite, reduzindo sua vida útil (Arcuri *et al.*, 2008).

A presença de resíduos de antimicrobianos, incluindo quinolonas, tetraciclina e betalactâmicos, foi detectada nas amostras analisadas. Silva (2023) encontrou classes de antimicrobianos semelhantes em leite da região Centro-Oeste. A detecção desses resíduos sugere o uso inadequado de medicamentos veterinários ou a não observância dos períodos de carência recomendados, o que constitui uma violação grave das normas sanitárias. A presença desses resíduos pode causar alterações na microbiota intestinal dos consumidores, resultando em problemas digestivos e aumento do risco de infecções secundárias. A exposição a antimicrobianos também pode induzir reações alérgicas em indivíduos sensíveis. A conformidade com as normas sanitárias é, portanto, essencial para garantir a segurança do leite e proteger a saúde dos consumidores, exigindo a implementação de medidas rigorosas de controle e monitoramento na produção de leite (Pereira; Scussel, 2017; Carvalho *et al.*, 2020).

Conclusão

O estudo revelou que, embora todas as amostras de leite *in natura* analisadas apresentassem CCS abaixo do limite regulamentar de 500.000 CS/mL, indicando conformidade com os padrões estabelecidos, a CBT excedeu significativamente o limite em todas as amostras. Ainda, a CBP também foi elevada comprometendo a conservação do leite. Adicionalmente, resíduos de antimicrobianos, incluindo quinolonas, tetraciclina e betalactâmicos, foram detectados, apontando para uso inadequado de medicamentos veterinários e não observância dos períodos de carência. Esses resultados indicam a necessidade urgente de melhorar as práticas de manejo e controle para garantir a qualidade microbiológica do leite e a segurança alimentar no município.

Referências

ARBELLO, D. D. R. *et al.* Análise microbiológica e físico-química do leite produzido na cidade de Santana do Livramento–Rio Grande do Sul. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, p. e24310615561-e24310615561, 2021.

ARCURI, E. F. *et al.* Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v. 38, p. 2250-2255, 2008.

BRASIL. Instrução Normativa Nº 76, de 26 de Novembro de 2018. **Diário Oficial da União**, p. 10, 2018.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Mapa do Leite - Políticas públicas e privadas para o leite. 2024. Disponível em <[CARVALHO, R. N. G. *et al.* Detecção de resíduos de antibióticos em leite cru em fazendas de Aquidabã–Sergipe. **Pubvet**, v. 14, p. 138, 2020.](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20terceiro,de%204%20milh%C3%B5es%20de%20pessoas.>https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite#:~:text=O%20Brasil%20%C3%A9%20o%20terceiro,de%204%20milh%C3%B5es%20de%20pessoas.>> Acesso em: 25 jul. 2024.</p></div><div data-bbox=)

DOS SANTOS, P. H. C. *et al.* Contagem de células somáticas do leite bovino produzido no município de Castanhal-PA. **Revista Multidisciplinar do Amapá**, Castanhal, v. 2, n. 1, p. 108-120, 2022.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Importância Econômica e Social**. 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/criacoes/gado_de_leite/pre-producao/politicas/importancia-economica-e-social>. Acesso em: 25 jul. 2024.

GUALBERTO, I. M. C.; BRITO, I. B.; VIEIRA, Í. S. Influência do tempo e da temperatura de armazenamento na contagem bacteriana total e no teor de sólidos do leite cru refrigerado. **Revista de Ciências da Faculdade Univértix Faculdade Vértice - Univértix**, Matipó, v. 1, n. 1, abr. 2022.

JAMAS, L. T. *et al.* Parâmetros de qualidade do leite bovino em propriedades de agricultura familiar. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Botucatu, v. 38, n. 4, p. 573-578, abr. 2018.

LOPES, M. A. *et al.* Influência da contagem de células somáticas sobre o impacto econômico da mastite em rebanhos bovinos leiteiros. **Arquivos do Instituto Biológico**, Minas Gerais, v. 78, n. 4, p. 493-499, dez. 2011.

MARIOTO, L. R. M. *et al.* Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicrotrófica, termodúrica e esporulada do leite cru. **Ciência Animal Brasileira**, v. 21, p. e-44034, 2020.

MENDONÇA, P. P. *et al.* **Tópicos Especiais em Ciência Animal XI**. Alegre: Caufes, 2022. 415 p.

MÜLLER, T.; REMPEL, C. Qualidade do leite bovino produzido no Brasil – parâmetros físico-químicos e microbiológicos: uma revisão integrativa. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, Lajeado, v. 9, n. 3, p. 122-129, 31 ago. 2021.

NETA, Z. F. B. *et al.* Perfil da qualidade do leite de cooperados de um laticínio com S.I.F. na região metropolitana de Belo Horizonte. **Sinapse Múltipla**, v. 10, n.1, p. 163-165, 16 jul. 2021.

PEREIRA, M. N.; SCUSSEL, V. M. Resíduos de antimicrobianos em leite bovino: fonte de contaminação, impactos e controle. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 16, n. 2, p. 170-182, 20 jun. 2017.

ROSA, P. P. *et al.* Fatores etiológicos que afetam a qualidade do leite e o Leite Instável Não Ácido (LINA): etiologic factors affecting milk quality, milk unstable and not acid (lina). **Revista Eletrônica de Veterinária**, Pelotas, v. 18, n. 12, p. 1-17, 2017.

SILVA, E. O. **Análise de dados do PNCRC sobre resíduos de antimicrobianos em leite da região Centro-Oeste, entre 2019 e 2021**. 2023. 19 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Centro Universitário do Planalto Central Aparecida dos Santos - Uniceplac, Gama, 2023.

TITO, M. S. **A importância do controle dos fatores da qualidade do leite bovino produzidos na agricultura familiar, uma revisão.** 2022. 29 f. Monografia (Especialização) - Curso de Qualidade e Produção Animal, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2022.

WNUK, M.; LEWINSKA, A. Imaging flow cytometry-based analysis of bacterial profiles in Milk samples. **Food and Bioproducts Processing**, v. 128, p. 102-108, 2021.

ZHANG, D. *et al.* Identification and selection of heat-stable protease and lipase-producing psychrotrophic bacteria from fresh and chilled raw milk during up to five days storage. **Food Science and Technology**, v. 134, p. 110165, 2020.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), a Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (EDITAL FAPES/SEDU Nº 12/2023 - Programa de Iniciação Científica Júnior do Espírito Santo – Pesquisador do Futuro (PICJr 2024) e EDITAL FAPES Nº 11/2023 - EXTENSÃO TECNOLÓGICA - FAIXA I - IES/P/T), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.