

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LEITES BENEFICIADOS, DISTRIBUIDOS AO CONSUMO NA CIDADE DE SÃO PAULO, DURANTE O VERÃO

JOSÉ CEZAR PANETTA
Professor Livre-Docente
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

RAPHAEL VALENTINO RICCETTI
Professor Livre-Docente
Faculdade de Medicina Veterinária
e Zootecnia da USP

PANETTA, J.C. & RICCETTI, R.V. Avaliação microbiológica de leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão. *Rev.Fac.Med.vet.Zootec.Univ.S. Paulo*, 18(1): 69-78, 1981.

RESUMO: Procurou-se quantificar os germes pertencentes aos grupos microbianos de maior significado como tradutores da qualidade higiênico-sanitária de alguns tipos de leite distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977. Assim, os leites tipos "B", "C" e "reconstituído magro" foram analisados segundo o seu conteúdo em mesófilos, termófilos e psicrófilos aeróbios; enterococos; coliformes; fungos e leveduras e *Pseudomonas*. Foram contrastadas cinco marcas de cada tipo, concluindo-se pela: a) flagrante variação das propriedades microbiológicas; b) discordância do padrão regulamentar; c) benevolência da legislação no que tange à relação mesófilos/psicrófilos; d) indicação de fungos e leveduras como qualificadores higiênicos dos leites pasteurizados; e) eficácia dos enterococos como indicadores de poluição fecal para os leites beneficiados, mormente quando estes são submetidos à armazenagem; f) adoção do exame quantitativo de coliformes totais em substituição ao exame de presença.

UNITERMOS: Leite, consumo*; Leite, higiene*; Leite, contaminação*.

INTRODUÇÃO

A carga microbiana dos leites beneficiados atinge, no verão, (21 de dezembro a 21 de março), seu índice crítico, em decorrência principalmente da elevação das temperaturas ambientais observadas no período. Essa condição, aliada à eventual desproteção do leite nas fases de produção, beneficiamento e comercialização, induz a microflora habitual a uma multiplicação intensa, levando-a a apresentar-se acima dos limites toleráveis e inculcando no público temeridade pelo produto.

Nessa estação é incrementado o aparecimento de microrganismos não sistematicamente considerados como componentes da flora lática habitual, revestindo-se de extrema importância a identificação e a quantificação dessa flora microbiana, como fator corroborador da avaliação higiênico-sanitária do leite distribuído, assim como a viabilização de indicadores microbianos mais eficientes para a qualificação dos leites beneficiados distribuídos à população, os quais oferecidos aos serviços oficiais de controle, poderão contribuir para a comercialização adequada de leite e a redução das ameaças à saúde pública.

A qualidade bacteriológica do leite está intimamente ligada a numerosos fatores, entre os quais os correlacionados à produção merecem atenção especial, uma vez que influem decisivamente sobre as fases subsequentes. Enquadrados nesta linha de pesquisa, merecem citação os trabalhos de SHAW e NAMBUDRIPAD¹⁸ e THOMAS e col.²⁴, que demonstraram a influência do método de ordenha, manual ou mecânica, sobre o conteúdo microbiano do leite, concluindo que a utilização de ordenhadores mecânicos e a lavagem das mesmas com soluções alcalinas aquecidas reduzem decisivamente o nível de contaminação. Ainda nessa linha, RUFFO¹⁶, estudou a questão do pagamento diferenciado do leite, como fator para incrementar a produção de melhor qualidade; THOMAS e col.²³, pesquisaram intensivamente a microflora ocorrente nos tanques de refrigeração de leite das usinas e das granjas, enquanto JACKSON e CLEGG⁷ identificaram como grupos bacterianos predominantes nesses tanques os *Micrococcus* (67,8%) e os *Streptococcus* (16,3%).

Na mesma linha de pesquisa, ROGICK e BURG—NALD¹⁵ estimaram o número de psicrófilos no leite em aproximadamente um terço da contagem global de germes; DESAI e CLAYDON⁵ encontraram a relação de 1/6 de psicrófilos em relação ao cômputo global de germes, qualificando um bom leite como aquele cuja flora psicrófila não ultrapassa 10% da contagem total; LÜCK⁹ admitiu a possibilidade de obter-se leite cru refrigerado com carga de bactérias psicrófilas inferior a 5×10^3 /ml, quando se trabalha adequadamente a nível de produção.

SAMAGH e CUNNINGHAM¹⁷, trabalhando com 653 culturas de organismos psicrófilos tipo 'alcaligenes' isolados de leite cru, pasteurizado e de creme, no Canadá, identificaram 28% como pertencentes ao gênero *Pseudomonas*, enquanto os trabalhos taxonômicos de STANIER e col.²⁰, permitiram demonstrar que a *Pseudomonas fluorescens* é a mais importante espécie psicrófila contaminante do leite de consumo.

Relativamente ao controle sanitário do leite reconstituído, são primordiais os estudos de OVEJERO e col.¹², os quais inferiram de suas pesquisas que, embora pequena a porcentagem de estirpes enterotoxígenas no leite em pó e a baixa proporção de estafilococos/grama ($\bar{x} = 370$), o maior perigo está em manter à temperatura ambiente o leite reconstituído e maior risco ainda ao reconstituir-se industrialmente o leite em pó, maciçamente e em climas quentes.

A higiene do leite é matéria orientada no Brasil pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal³, pelas 'Normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para leite e produtos lácteos'⁴ e, ainda, pelos documentos internacionais de saúde, como o 'Code of Principles Concerning Milk and Milk Products and Associated Standards' (6th. ed., 1968), 'Food and Agricultural Organization' e Organização Mundial da Saúde.

Contagens de *Escherichia coli* e enterococos foram determinadas por KALINA e col.⁸, em leites cru, pasteurizado e empacotado. No leite cru as médias de *E. coli* e enterococos foram de 10^3 e 10^5 /ml; no leite pasteurizado os enterococos estiveram entre 10 e 10^3 /ml; no leite empacotado percebeu-se inicialmente um incremento do teor de *E. coli*, mas não no de enterococos; todavia, no leite empacotado e estocado, os enterococos (*Str. faecalis* e *Str. faecium*) multiplicaram-se de 10 a 100 vezes. Concluíram os autores que os enterococos podem servir, tanto quanto a *E. coli*, como indicadores da eficiência da pasteurização. GOGOV⁶ constatou ligeira coincidência nos títulos de enterococos e coliformes unicamente nas amostras de leite pasteurizado que haviam sido mantidas rigorosamente sob refrigeração. Entretanto, quando as condições de conservação não foram adequadas, os enterococos suplantaram os coliformes, sendo as espécies mais frequentes ainda o *Str. faecalis* e o *Str. faecium*.

Em trabalho anterior¹³, foi estabelecida a incidência de germes dos grupos coliforme e enterococo no leite beneficiado e em alguns de seus derivados, ficando patente a supremacia de enterococos sobre coliformes, mormente nos produtos cuja tecnologia de beneficiamento ou preparação implicava no emprego de temperaturas elevadas.

A existência de uma legislação específica e atualizada para o leite e laticínios foi defendida, no Brasil, por OLIVEIRA¹¹, o qual atribuiu ao tradicionalismo arraigado da indústria e à falta de normas e padrões mais consuetâneos com as modernas técnicas de processamento e preservação dos produtos lácteos, a responsabilidade pela morosidade na evolução de sistemas industriais mais modernos e produtos de qualidade superior.

Relativamente à qualidade microbiológica do leite de consumo, TEIXEIRA²¹ comparou o padrão americano para o verão e para o inverno com o padrão adotado no Brasil, através a análise de amostras de leite de duas usinas de beneficiamento de leite 'C' de Salvador, Bahia, evidenciando 95% das amostras com teor de coliformes superior a 100 por 100 ml de leite e, portanto, fora das condições de consumo, de acordo com as normas da Associação Americana de Saúde Pública e Organização Mundial da Saúde. O padrão americano é reconhecido para o verão, enquanto para o inverno deve ser obedecido o volume em coliformes de 10

por 100 ml.

A legislação nacional³ apresenta critério diferente em relação a presença de coliformes: estabelece tolerância da presença dos mesmos em volumes fixados em 0,5 ml para o leite tipo 'B' e 0,2 ml para o leite tipo 'C', pressupondo-se ausência nos volumes imediatamente inferiores, embora o Regulamento não registre esta suposição. Sob este aspecto, notou-se apenas que quatro amostras (de um total de 228), não revelaram coliformes em nenhum dos tubos semeados com 0,1 ml de leite tipo 'C'.

MATERIAL E MÉTODOS

A. Material.

Três tipos de leites beneficiados, pasteurizado 'B', pasteurizado 'C' e pasteurizado 'reconstituído magro', colecionados segundo esquema já adotado em trabalho anterior¹⁴ e num total de 315 amostras, constituíram o material para o presente trabalho.

B. Amostragem.

Cada amostra foi representada pela embalagem plástica ou cartonada de um litro, de cada um dos tipos de leites mencionados, colhidos obedecendo à seguinte rotina: a) sorteava-se um, dentre os quarenta e cinco bairros existentes na cidade de São Paulo; b) percorria-se uma das ruas principais do bairro sorteado e em estabelecimentos comerciais, escolhidos ao acaso, compravam-se amostras de diferentes marcas de um mesmo tipo de leite; c) quando não se conseguiam todas as marcas num só estabelecimento, percorriam-se outros, do mesmo bairro, até completar a colheita do dia; d) no estabelecimento comercial anotava-se a hora da colheita e determinava-se a temperatura na qual o leite era mantido em condições de varejo; e) transportavam-se imediatamente as amostras ao laboratório, utilizando-se recipientes de isopor com gelo, no qual a temperatura oscilava entre 3° a 5° C. O período de tempo consumido para o transporte das amostras ao laboratório variou entre 30 e 120 minutos.

A rotina descrita replicou-se igual e periodicamente para todos os tipos de leite estudados, pelos cinco dias da semana (segunda a sexta feira) e por dezessete semanas consecutivas, entre 6 de dezembro de 1976 e 31 de março de 1977, período que englobou toda a estação do verão (21 de dezembro de 1976 a 21 de março de 1977), tendo a colheita sido conduzida com a colaboração da Delegacia Regional do Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal, em São Paulo, e da Associação Brasileira dos Produtores de Leite 'B'.

Foram contrastadas quinze marcas, consoante o tipo específico de leite estudado, assim distribuídas: leite pasteurizado tipo 'B', cinco marcas; leite e leite pasteurizado 'reconstituído magro', cinco marcas.

C. Exames microbiométricos.

Os meios de cultura utilizados para o estudo das características microbiométricas dos diversos tipos de leites estudados, foram os recomendados pelo Manual de Microbiologia Merck¹⁰, assim especificados: a) o agar-peptona de ca-

seína-glicose extrato de carne (número de referência 10.128), para a enumeração dos microrganismos aeróbios mesófilos, termófilos e psicrófilos; b) o caldo azida-glicose (número de referência 1.590) e o caldo púrpura de bromocresol-azida (número de referência 3.032) para a enumeração, respectivamente, presuntiva e confirmativa do grupo enterococo; c) o caldo-lactose (número de referência 7.661) e o caldo-bile verde-brilhante-lactose (número de referência 5.454), para a enumeração, respectivamente, presuntiva e confirmativa do grupo coliforme; o caldo bile verde-brilhante-lactose foi usado, também, para os testes de presença de coliformes em volumes fixados de leite, como determina o Regulamento de Inspeção Sanitária³; d) o agar-levedo (número de referência 5.448), para a determinação numérica de fungos e leveduras; e) o agar seletivo - GSP - agar glutamato-amido-vermelho de fenol (número de referência 10.230) para a enumeração do grupo *Pseudomonas*.

D. Metodologia.

A técnica microbiológica adotada foi apoiada no preceituado pelo 'Standard Methods for the Examination of Dairy Products'¹ e por THATCHER e CLARK²².

E. Tratamento estatístico.

Para a avaliação estatística dos resultados referentes ao conteúdo dos grupos microbianos estudados, foi aplicado o teste de BARTLET, mencionado por SNEDECOR¹⁹, entre as marcas e dentro de cada marca. Quando este teste revelou-se não significativo recorreu-se à análise da variância, modelo simples².

Tendo em vista o interesse em estabelecer-se o confronto direto entre os grupos psicrófilo e enterococo, psicrófilo e coliforme, psicrófilo e fungos, enterococo e coliforme, enterococo e fungos, e coliformes e fungos, apelou-se ainda uma vez para o teste de BARTLET, aplicado aos valores registrados para os grupos microbianos referentes aos leites pasteurizados tipos 'B', 'C' e 'reconstituído magro'.

Finalmente, conduziu-se análise percentual com o propósito de correlacionar as médias apresentadas pelos grupos microbianos e comparar a presença de coliformes em volumes de leites fixados pelo Regulamento de Inspeção Sanitária³ (0,5 ml para o leite pasteurizado tipo 'B' e 0,2 ml para os leites pasteurizados tipos 'C' e 'reconstituído magro') com o número de coliformes totais (colimetria, computada pelo método estatístico do número provável¹).

Durante todo o tratamento estatístico, foi utilizado como nível de significância $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Nos quadros de números 1, 2 e 3 estão registradas as médias aritméticas correspondentes a 21 determinações, dos valores microbianos detectados em amostras de leites pasteurizados tipo 'B', pasteurizado tipo 'C' e pasteurizado tipo 'reconstituído magro' e referentes às cinco marcas contrastadas e distribuídas ao consumo na cidade de São Paulo, durante os meses de verão.

A ocorrência de microrganismos pertencentes ao grupo coliforme traduzido em termos de presença e colimetria e estabelecida em 105 amostras de leites pasteurizados tipos

'B', 'C' e 'reconstituído magro', encontra-se detalhado nas TABELAS de números 1, 2 e 3, respectivamente.

A correlação entre a média aritmética e os valores percentuais, concernente ao conteúdo microbiano quantificado nos leites beneficiados referidos, está evidenciado na TABELA número 4, enquanto o teste de BARTLET, aplicado às características microbianas determinadas nos leites analisados, obedecendo-se as cinco marcas estudadas, encontra-se na TABELA número 5.

DISCUSSÃO

Ao analisaram-se os resultados da aplicação do teste de BARTLET às características microbianas das cinco marcas de leite pasteurizado tipo 'B' (QUADRO No. 1 e TABELA No. 5), é surpreendente as diferenças estatisticamente significantes constatadas entre as médias aritméticas correspondentes ao conteúdo em mesófilos, termófilos, psicrófilos, enterococos, coliformes, fungos e leveduras, uma vez que o achado denota, implicitamente, grande variação da qualidade bacteriológica do leite das diferentes marcas, o que não deveria ocorrer para leites inspecionados sob a égide de um mesmo padrão sanitário e que concorre, no mercado, nas mesmas condições. Fato idêntico ocorreu com relação às marcas estudadas do leite pasteurizado tipo 'C' e tipo 'reconstituído magro', situação que leva à conjectura imediata de que o leite está sendo inadequadamente protegido na fase de comercialização, o que redundará numa exacerbação do conteúdo microbiano, situação concorde e bem demonstrada por KALINA e cols.⁸, SHAW e NAMBU DRIPAD¹⁸ e THOMAS e cols.^{23, 24}.

Relativamente ao conteúdo microbiano do leite tipo 'B', a contagem de mesófilos ($\bar{x} = 134.454$), termófilos ($\bar{x} = 7.330$) e psicrófilos ($\bar{x} = 23.583$), suplantou significativamente os limiares tolerados (respectivamente 40.000, 4.000 e 4.000), evidenciando completa discordância com os padrões nacionais existentes e referendando os achados de TEIXEIRA²¹. A relação mesófilos/termófilos/termófilos/psicrófilos foi, aproximadamente, de 20:1:3, enquanto a relação mesófilos/psicrófilos foi de 6:1, concordando plenamente com a correlação encontrada por DESAI e CLAY-DON⁵, porém estando muito acima da proporção em psicrófilos, adotada por LUCK⁹, para considerar um leite como de boa qualidade.

No que concerne aos limites bacteriológicos estabelecidos para o leite tipo 'C', em função das marcas estudadas (QUADRO No. 2 e TABELA No. 5), houve diferença estatisticamente significativa tão somente em relação à quantidade de termófilos (6.387), quando comparado com o padrão (15.000), estando situado estes teores dentro da faixa tolerável.

Contraditoriamente, porém, a quantidade de mesófilos amostrados e o padrão não apresentaram diferença estatística, embora fosse bastante superior ao limite legal (226.321 para 150.000), condição suficiente para se condenar o leite 'C' para consumo humano. O mesmo pode ser repetido em relação aos microrganismos psicrófilos, cuja amostra apresentou média de 21.692/ml para um padrão de 15.000 germes/ml de leite. Estas médias situam-se muito acima dos limites tolerados pela maioria dos códigos de higiene do

leite^{1, 4, 10}, revelando a necessidade de um maior rigor no controle da condição microbiológica do leite 'C', distribuído ao consumo na cidade de São Paulo.

Quanto ao leite tipo 'reconstituído magro' (QUADRO No. 3), pode-se repetir as considerações anteriores, quanto à fuga ao padrão em relação ao limite de mesófilos ($\bar{x} = 189.796$) e psicrófilos ($\bar{x} = 25.395$), circunstância que analisa à luz das conclusões de OVEJERO e cols.¹², impõe a necessidade de permanente vigilância sanitária particularmente para este tipo de leite, que na opinião daquele autor, oferece riscos ao consumidor, mormente quando desprotegido na fase de comercialização e quando a reconstituição se processa industrialmente e em regiões quentes. Tal vigilância, na opinião de OLIVEIRA¹¹, somente é conseguida através de padrões atuais e uma legislação sanitária animal consentânea.

Concerentemente ao estudo dos grupos microbianos detectados nos vários tipos e marcas de leites pesquisados, são altamente significativos os dados constantes da TABELA No. 4, cujos resultados, estatisticamente significantes pelo teste de BARTLET, revelam haver diferenças entre todos os grupos analisados. Em síntese, qualquer dos grupos é totalmente diferente de todos os demais (todos os dezessete valores de χ^2 são estatisticamente significantes). Essa mesma, ao registrar as médias encontradas para os vários grupos de microrganismos, eleitos para a pesquisa por terem sido considerados os mais representativos para qualificar higienicamente o leite de consumo (JACKSON e CLEGG⁷, LUCK⁹, STANIER e cols.²⁰), permite dimensionar a correlação entre os mesmos, através dos valores percentuais atribuídos a cada grupo microbiano.

Assim, parecem bastante significativos, para fins de controle higiênico, as relações entre os mesófilos e os outros grupos: os termófilos representam perto de 1/20 daqueles, enquanto os psicrófilos 1/6; a relação mesófilos/psicrófilos encontrada para o leite pasteurizado tipo 'B', coincide com aquela fixada por DESAI e CLAYDON⁵, mas discorda daquela encontrada por ROGICK e BURGNALD¹⁵, que chegaram à relação de 1/3 de psicrófilos em comparação com a contagem global; a relação coliformes/enterococos encontrada foi de 1:2, semelhante àquela fixada por KALINA e cols.⁸.

Certamente, o comportamento quantitativo dos grupos microbianos estudados merece especial atenção, tendo em vista a discussão existente entre os especialistas acerca da aplicabilidade dos mesmos como indicadores das condições higiênicas do leite produzido. Assim, a média de coliformes encontrada para os leites 'B', 'C' ou 'reconstituído magro' (respectivamente 1,7889, 2,6566 e 1,7810 x 10⁴/ml) situa-se bastante acima da encontrada por RUFFO¹⁶, ao passo que, para os mesmos tipos de leite, os títulos de enterococos superaram sobremodo os de coliformes, contrariando os achados de GOGOV⁶, o qual constatou ligeira coincidência dos títulos, porém unicamente para os leites que haviam sido mantidos rigorosamente sob temperatura baixa, na fase de comercialização. O achado comprova, de um lado a conclusão de KALINA e cols.⁸, que constatou patente recrudescimento do grupo enterococo em leites estocados e, de outro, enaltece a necessidade de se manter o leite sob temperatura baixa na fase de varejo, além de coadunar-se com

os resultados obtidos anteriormente¹³, no qual os enterococos mostraram-se superiores aos coliformes como indicadores de poluição, especialmente para os alimentos processados pelo calor (como os leites beneficiados).

Na mesma linha, deve-se atentar para as médias encontradas para o grupo psicrófilo, na análise dos leites pasteurizados tipos 'B', 'C' e 'reconstituído magro' (respectivamente $\bar{x} = 2,3583$, $\bar{x} = 2,1692$, $\bar{x} = 2,5395 \times 10^4$ /ml), localizadas bem acima do que DESAI e CLAYDON⁵ aceitaram como limites (105/ml) para considerarem-se insatisfatórias as condições de produção do leite de consumo.

A aplicabilidade dos psicrófilos como indicadores de poluição, em substituição aos enterococos ou aos coliformes, ou mesmo como complementadores, deve ser considerada como questão em aberto, tendo em vista as dificuldades de se posicionar o grupo em face dos regulamentos sanitários e, também, pela discordância em se considerarem os gêneros *Pseudomonas* e *Flavobacterium* como de importância higiênica para o leite. Os resultados encontrados no presente trabalho não justificam a pesquisa e enumeração exclusivas de *Pseudomonas* para a qualificação higiênica do leite, tendo em vista que as médias encontradas estão abaixo das médias estabelecidas para psicrófilos em geral, e mesmo, para enterococos ou coliformes, parecendo preferível optar-se pela definição de SAMAGH e CUNINGHAM¹⁷, segundo os quais, os psicrófilos importantes para a indústria de laticínios são, indiscriminadamente, os microrganismos capazes de se multiplicar à temperatura de 70°C.

Nesta linha de raciocínio, consideração especial deve ser dispensada aos coliformes, pois embora alguns autores discutam a validade desse índice, quando utilizado para alimentos processados, como o leite pasteurizado^{6, 13}, a maioria dos códigos de controle do leite de consumo exige a sua detecção e/ou a sua enumeração para avaliar a qualidade sanitária do produto^{1, 3, 4}.

O padrão brasileiro preconiza a pesquisa de coliformes em 0,5 ml (para o leite pasteurizado tipo 'B') e em 0,2 ml (para os leites pasteurizados tipo 'C' e 'reconstituído magro'), exigência que não parece suficiente para a avaliação, nem tampouco própria a linguagem utilizada no código: tolera-se para o leite 'B' a presença de coliformes em 0,5 ml, porém pelo fenômeno óbvio da distribuição irregular das bactérias, não se poderia esperar que num leite que tenha exatamente 2.000 coliformes/litro (ou 1 coliforme/0,5ml), ainda que agitado adequadamente, todas as porções de 0,5 ml fossem positivas; poder-se-á constatar porções de 0,5ml negativas e porções inferiores positivas, o que releva a impropriedade da linguagem, que deveria exigir uma média (no caso, 2 coliformes/ml), expressa pelo número mais provável.

Estas considerações, que pressupõem a imprecisão da prova, foram plenamente comprovadas no presente estudo: ao analisarem-se os resultados da TABELA 1, que compara a presença de coliformes totais com a colimetria, em 105 amostras de leite pasteurizado tipo 'B', surpreendeu-se que em 33,33% dos casos houve negatividade para a presença de coliformes (medida em 0,5ml de leite) mas positividade para a colimetria, o que revela um erro significativo da prova e exige maior atenção no controle dos coliformes.

Ademais, quando se verificou a presença de coliformes num volume imediatamente inferior a 0,5 ml (0,4 ml), o erro foi ainda maior (50,47%), como se verifica na TABELA 1.

Fato semelhante foi constatado para os leites pasteurizados tipos 'C' e 'reconstituído magro', para os quais os erros foram, respectivamente, de 32,38% e 27,61%, quando se utilizou volume de 0,2 ml, como preconiza o Regulamento (3). Quando, porém, foi testado o volume imediatamente inferior (0,1 ml), os erros ascenderam, respectivamente, para 43,80% e 38,09% (TABELAS 2 e 3).

CONCLUSÕES

Consoante a metodologia adotada e os resultados obtidos e analisados, parece lícito extrair as seguintes conclusões: 1) urge atualizar os padrões microbiológicos do leite tipo 'reconstituído magro', como condição básica para o adequado controle sanitário do mesmo e para salvaguardar ao consumidor o direito por um produto hígido e economicamente justo; 2) amostras de leite pasteurizado tipos 'B', 'C' e 'reconstituído magro', distribuídas ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977, independentemente de marcas, apresentaram grande variação da qualidade microbiológica, fato inadmissível para leites controlados sob a égide de um mesmo padrão e concorrentes, no mercado, às mesmas condições; 3) amostras de leite pasteurizado tipos 'B', 'C' e 'reconstituído magro', apresentaram-se discordantes com o padrão regulamentar, respectivamente com relação ao conteúdo de mesófilos, termófilos e psicrófilos ('B'); mesófilos e psicrófilos ('C') e mesófilos e psicrófilos ('reconstituído magro'); 4) a legislação em vigor parece demasiadamente benévola ao tolerar para os leites pasteurizados tipos 'B', 'C' e 'reconstituído magro', um conteúdo em psicrófilos da ordem de 1/10 dos mesófilos, parecendo mais precisa a relação 1/6 a qual, todavia, deve merecer investigações ulteriores; 5) a correlação encontrada entre o conteúdo de microrganismos mesófilos e o conteúdo de fungos e leveduras, parece sugerir a eficácia dos últimos para a qualificação higiênica dos leites pasteurizados, exigindo-se investigações mais específicas a esse respeito; 6) a correlação encontrada entre o conteúdo de coliformes e enterococos (aproximadamente 1:2), nas amostras analisadas de leites pasteurizados, embora não apresentasse diferença estatisticamente significativa, justifica a aplicação dos últimos como indicadores de poluição para esses produtos, mormente quando submetidos à armazenagem; 7) o exame da presença de microrganismos coliformes, preconizado pela legislação em vigor (0,5 ml para leite pasteurizado tipo 'B' e 0,2 ml para leites pasteurizados tipos 'C' e 'reconstituído magro'), não se revela rigorosamente preciso, parecendo aconselhável a adoção do exame quantitativo correspondente (2.000 coliformes/litro para o leite pasteurizado tipo 'B' e 5.000 coliformes/litro para os leites pasteurizados tipos 'C' e 'reconstituído magro').

SUMMARY: During the summer of 1977, there was realized a research with the purpose to evaluate quantitatively the bacteria belonging to the microbiological groups of major importance in revealing. The hygienic-sanitary quality of same types of milks distributed in São Paulo city. They were determined the content in aerobic mesophilic, thermophilic and psychrophilic; enterococcus; coliform; fungus and yeast and *Pseudomonas*. There were contrasted five marks from each type and the conclusions were: a) flagrant variation in the microbiological properties; b) disagreement of the regulamentar standard; c) benevolence of the legislation relatively to mesophilic/psychrophilic; d) to indicate the fungus and yeast as hygienic parameter to pasteurized milk; e) efficacy of enterococcus as indicator of fecal pollution, for processed milks; mainly when they are stored; f) the adoption of quantitative examination of total coliforms substituting its test of presence.

UNITERMS: Milk, consumption*; Milk, hygiene*; Milk, contamination*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Standard methods for examination of dairy products. Microbiological and chemical.** 12.ed. New York, W.C. Gualter, 1967.
- 2- BOLETIM ESTATÍSTICO SEMESTRAL. (Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal) Brasília, DF - Brasil, 2º semestre, 1976.
- 3- BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento Nacional de Produção Animal. **Regulamento de inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.** Aprovado pelo Dec.nº. 1.255 de 25 de junho de 1962.
- 4- BRASIL. Ministério da Agricultura. Departamento de Defesa e Inspeção Agropecuária. **Normas higiênico-sanitárias e tecnológicas para leite e produtos lácteos.** Rio de Janeiro, 1967.
- 5- DESAI, M.N. & CLAYDON, T.J. Preliminary incubation of raw milk samples as an aid in evaluating bacteriological quality. **J. Milk Food Technol.**, 27: 333-8, 1964.
- 6- GOGOV, I. Studies on Enterococci in milk. **Vet. med. Nauki**, 12(8): 67-74, 1975.
- 7- JACKSON, H. & CLEGG, L.F.L. The microflora of raw bulk tank milk. **Canad.J.Microbiol.**, 12(3): 429-32, 1966.
- 8- KALINA, G.P.; KOROLEVA, N.S.; SEMENIKHINA, V.F. Enterococci in raw and pasteurized milk. **Moloch.Prom. SSSR.**, (1): 8-11, 1973 apud **Dairy Sci.Abstr.**, 36(4): 1595, 1974.
- 9- LUCK, H. Bacteriological quality tests for bulk-

PANETTA, J.C. & RICCETTI, R.V. Microbiological evaluation of processed milks, distributed for consumption in São Paulo city during summer. **Rev.Fac.Med.vet.Zootec.Univ.S. Paulo**, 18(1): 69-78, 1981.

- cooled milk. *Dairy Sci. Abstr.*, 34(2): 101-22, 1972.
- 10- MANUAL DE MICROBIOLOGIA. Trad. por Antonio Nuñez Cachazea. Darmstadt, E. Merck, s.d. 457p.
- 11- OLIVEIRA, J.S. Necessidade de atualização da legislação sobre laticínios. *Bol. Inst. Tecnol. Aliment.*, 27: 41-6, 1971.
- 12- OVEJERO, S.; SUAREZ, G.; SANTOS, A. Significado higienico de la presencia de estafilococos patógenos o suas toxinas en leche en polvo. *Microbiol. esp.*, 24: 287-302, 1971.
- 13- PANETTA, J.C. Contribuição para o estudo da incidência de germes dos grupos coliforme e enterococo no leite e em alguns de seus derivados. *Rev. Fac. Med. Vet. Univ. S. Paulo*, 8(1): 215-41, 1969.
- 14- PANETTA, J.C. & RICCETTI, R.V. Características físico-químicas de leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo durante o verão. (Enviado para publicação, à *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 1980).
- 15- ROGICK, F.A. & BURGNALD, L.H. Some factors which contribute to the psychrophilic bacterial count in market milk. *J. Milk Food Technol.*, 15: 181-5, 1952.
- 16- RUFFO, G. Ricerche sulla classificazione del latte alimentare. *Latte*, 39(6/7): 435-44, 513-8, 1965.
- 17- SAMAGH, B.S. & CUNNINGHAM, J.D. Numerical taxonomy of the Genus *Pseudomonas* from milk and milk products. *J. Dairy Sci.*, 55(1): 19-24, 1972.
- 18- SHAW, A.A. & NAMUDRIPAD, K.N. Bacteriological quality of milk obtained by different methods of milking. *Indian J. Dairy Sci.*, 18(2): 83-6, 1964.
- 19- SNEDECOR, G.W. *Statistical methods: applied to experiments in agriculture and biology*. 5.ed. Ames, Iowa State University Press, 1962.
- 20- STANIER, R.Y.; PALLERONI, N.J.; DOUDOROFF, M. The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. *J. gen. Microbiol.*, 43: 159-71, 1966.
- 21- TEIXEIRA, E.N. Colimetria do leite pasteurizado para consumo em Salvador. *Bol. Inst. Biol. Bahia*, 13(1): 90-5, 1974.
- 22- THATCHER, F.S. & CLARCK, D.S. *Microorganisms in food: their significance and methods of enumeration*. Toronto, University of Toronto Press, 1968. p.23.
- 23- THOMAS, S.B.; DRUCE, R.G.; DAVIES, A.; BEAR, J.S. Bacteriological aspect of bulk milk collection. *J. Soc. Dairy Technol.*, 19(3): 161-9, 1966.
- 24- THOMAS, S.B.; DRUCE, R.G.; JONES, M. Influence of production conditions on the bacteriological quality of refrigerated farm bulk tank milk. A review. *J. appl. Bact.*, 34: 659-77, 1971.

Recebido para publicação em: 26-08-80.
Aprovado para publicação em: 23-02-81.

QUADRO 1 — Média aritmética (de 21 determinações) dos valores microbianos detectados em amostras de leite pasteurizado tipo 'B', correspondentes a cinco marcas e distribuídas ao consumo na cidade de São Paulo durante o verão de 1977. (Resultados x 10⁴/ml).

Grupo Microbiano Marca	Mesófilos	Termófilos	Psicrófilos	Enterococos NMP	Coliformes totais NMP	Fungos e Leve- duras	Pseudomonas
1	3,1180	0,6448	0,4541	1,2388	0,5745	1,1730	0,3339
2	5,9682	0,4040	0,7715	2,1024	0,9338	0,9920	0,5072
3	25,1000	0,9877	3,8625	6,4967	3,7833	3,5935	0,9445
4	20,4399	0,9151	3,5152	4,2026	1,7514	2,2910	0,9277
5	12,5907	0,7112	3,1881	3,5876	1,9016	3,0157	0,8204

QUADRO 2 – Média aritmética (de 21 determinações) dos valores microbianos detectados em amostras de leite pasteurizado tipo 'C', correspondentes a cinco marcas e distribuídas ao consumo na cidade de São Paulo durante o verão de 1977. (Resultados x 10⁴/ml).

Grupo Microbiano	Mesófilos	Termófilos	Psicrófilos	Enterococos NMP	Coliformes totais NMP	Fungos e Leveduras	Pseudomonas
1	12,7974	0,6760	1,6844	3,1076	1,7695	1,2170	0,8710
2	16,4227	0,8510	2,0167	4,3419	2,0514	1,8632	0,5081
3	32,0369	0,5274	3,4341	5,9476	3,2572	1,4409	1,1709
4	27,5575	0,5387	2,4730	6,6963	3,7190	3,1407	0,3669
5	24,3461	0,6003	1,2379	5,3348	2,4857	1,7666	0,3471

QUADRO 3 – Média aritmética (de 21 determinações) dos valores microbianos detectados em amostras de leite pasteurizado tipo 'reconstituído magro', correspondentes a cinco marcas e distribuídas ao consumo na cidade de São Paulo durante o verão de 1977. (Resultados x 10⁴/ml).

Grupo Microbiano	Mesófilos	Termófilos	Psicrófilos	Enterococos NMP	Coliformes totais NMP	Fungos e Leveduras	Pseudomonas
1	14,9535	0,2795	6,4710	2,9967	1,3593	0,9400	0,3027
2	21,3452	0,4513	1,7610	3,2017	1,6542	1,1220	0,2509
3	20,0472	0,4508	4,8219	1,9245	1,9245	1,1957	0,2345
4	13,0398	0,3155	0,9959	3,4279	1,3321	1,8563	1,7340
5	25,5123	1,0427	2,1119	5,0104	2,6350	1,2850	0,1207

TABELA 1 – Ocorrência de coliformes totais (presença e colimetria), em 105 amostras de leite pasteurizado tipo 'B', distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.

PRESENÇA DE COLIFORMES TOTAIS	0,5 ml +		0,5 ml -		0,4 ml +		0,4 ml -	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
COLIMETRIA								
+	53	50,47	35	33,33	34	32,38	53	50,47
-	2	1,90	15	14,28	3	2,85	15	14,28

TABELA 2 – Ocorrência de coliformes totais (presença e colimetria), em 105 amostras de leite pasteurizado tipo 'C', distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.

PRESENÇA DE COLIFORMES TOTAIS	0,2 ml +		0,2 ml -		0,1 ml +		0,1 ml -	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
COLIMETRIA								
+	56	53,33	34	32,38	44	41,90	46	43,80
-	1	0,95	14	13,33	2	1,90	13	12,38

TABELA 3 – Ocorrência de coliformes totais (presença e colimetria), em 105 amostras de leite pasteurizado tipo 'reconstituído magro', distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.

PRESENÇA DE COLIFORMES TOTAIS	0,2 ml +		0,2 ml -		0,1 ml +		0,1 ml -	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
COLIMETRIA								
+	58	55,23	29	27,61	44	41,90	40	38,09
-	3	2,85	15	14,28	3	2,85	18	17,14

TABELA 4 - Conteúdo microbiano (média aritmética \bar{X} 10^4 /ml e valores percentuais) quantificado em leites beneficiados, distribuídos ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.

GRUPO MICROBIANO	TIPO DE LEITE		QUANTIDADE DE MICROORGANISMOS			
	PASTEURIZADO "B"	PASTEURIZADO "C"	RECONSTITUÍDO MAGRO			
MESÓFILOS	13,4454	54,73	22,6321	59,90	18,9796	64,32
TERMÓFILOS	0,7330	2,98	0,6387	1,69	0,5080	1,72
PSICRÓFILOS	2,3583	9,59	2,1692	5,75	2,5395	8,61
ENTEROCÓCCOS	3,3256	13,54	5,0856	13,46	3,8917	13,18
COLIFORMES	1,7889	7,28	2,6566	7,03	1,7810	6,04
FUNGOS E LEVEDURAS	2,2130	9,00	1,8857	4,99	1,2798	4,34
PSEUDOMONAS	0,7067	2,88	2,7121	7,18	0,5285	1,79
TOTAL	24,5709	100,00	37,7800	100,00	29,5082	100,00

TABELA 5 – Teste de Bartlet aplicado às características microbianas determinadas em amostras de leite pasteurizado tipo “B”, pasteurizado tipo “C” e pasteurizado tipo “reconstituído magro”, correspondentes às marcas de 1 a 5 distribuídas ao consumo na cidade de São Paulo, durante o verão de 1977.

TIPO DE LEITE	MARCA	X ²
Pasteurizado “B”	1	77,2264*
Pasteurizado “B”	2	176,7249*
Pasteurizado “B”	3	280,5817*
Pasteurizado “B”	4	309,4286*
Pasteurizado “B”	5	171,0330*
Pasteurizado “C”	1	216,4911*
Pasteurizado “C”	2	244,2851*
Pasteurizado “C”	3	375,2351*
Pasteurizado “C”	4	353,4417*
Pasteurizado “C”	5	386,9612*
Pasteurizado “reconstituído magro”	1	406,8647*
Pasteurizado “reconstituído magro”	2	404,3649*
Pasteurizado “reconstituído magro”	3	391,1774*
Pasteurizado “reconstituído magro”	4	286,5870*
Pasteurizado “reconstituído magro”	5	441,1290*

(*) Diferença estatisticamente significante, $\alpha = 0,05$.

ERRATA

No trabalho da página 79 da **Rev.Fac.Med.vet.Zootec.Univ.S. Paulo, 18(1) 1981**, onde se lê **SUA ESPÉCIE**, leia-se **SUAS ESPÉCIES**