

Avaliação microbiológica de doce de leite pastoso

Microbiology quality evaluation of pasty *doce de leite*

RIALA6/1139

Cláudio D. TIMM*, Rita de Cássia S. CONCEIÇÃO, Francisco José O. COELHO, Talita B. ROOS, Talita S. TEJADA, Pedro S. QUEVEDO, Andréa HENTGES, Nathalia D.A. BRASIL

*Endereço para correspondência: * Inspeção de Leite e Derivados, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, CEP 96010-900, Pelotas, RS/Brasil. E-mail: inspleit@ufpel.tche.br.
Recebido: 13/06/2007 – Aceito para publicação: 28/09/2007

RESUMO

A manipulação inadequada e a exposição ao meio ambiente aumentam o risco de contaminação do doce de leite oferecido ao consumidor. O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do doce de leite fracionado para venda a varejo. Foram realizadas pesquisa de *Salmonella* e contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, de coliformes termotolerantes e de bolores e leveduras em 28 amostras de doce de leite. Uma amostra apresentou *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Typhimurium em 25 g do produto. Essa cepa foi resistente aos antimicrobianos cloranfenicol e sulfametoxazol/trimetoprim, apresentou resistência parcial à tetraciclina e foi sensível aos demais. Todas as amostras analisadas apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva < 10 UFC/g. As contagens de coliformes termotolerantes apresentaram resultados < 3 NMP/g, com exceção de duas amostras coletadas de dois supermercados, que apresentaram 0,4 e 2,1 NMP/g. Apenas uma amostra apresentou contagem de bolores e leveduras com valores aceitáveis pelas normas brasileiras. Todas as demais apresentaram contagens acima de $1,0 \times 10^2$ UFC/g. O doce de leite pastoso fracionado nos estabelecimentos comerciais pode ser fonte de microrganismos patogênicos para humanos, o que justifica a adoção de rigoroso controle na inspeção e fiscalização do comércio deste alimento.

Palavras-chave. doce de leite, *Salmonella* Typhimurium, microbiologia.

ABSTRACT

The inadequate foods handling and the exposition of them to environment increase the hazard of contamination of the *doce de leite* offered to consumers. The aim of the present study was to evaluate the microbiology quality of pasty *doce de leite* sliced into pieces to be sold by retail. *Salmonella* detection, and coagulase-positive *Staphylococci*, thermotolerant coliforms, mould and yeast counting were performed in 28 samples of *doce de leite*. *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotype Typhimurium was detected in 25g of one sample. This strain was resistant to chloramphenicol and sulphamethoxazole-trimethoprim, and partially resistant to tetracycline, but susceptible to the other antimicrobial agents. All of the samples showed coagulase-positive *Staphylococci* counting < 10 CFU/g. Results from thermotolerant coliforms counting were < 3 MPN/g, except two samples collected from two supermarkets which showed 0.4 and 2.1 MPN/g, respectively. One unique sample showed mould and yeast counting with values accepted by Brazilian legislation; the other samples showed counts over 1.0×10^2 CFU/g. As the pasty *doce de leite* have been sliced into pieces in the markets this procedure should be the source of pathogenic microorganisms to humans, which justify the establishment of an stringent control on the inspection and the surveillance of this kind of food.

Key words. doce de leite, *Salmonella* Typhimurium, microbiology.

INTRODUÇÃO

Doce de leite é o produto obtido por concentração e adição do calor ao leite, com ou sem adição de sólidos de origem láctea e/ou creme adicionado de sacarose¹. O doce de leite é típico do sul da América Latina, de amplo consumo, porém tem sido pouco utilizado como objeto de estudo².

Embora o doce de leite não seja um produto favorável ao crescimento de microorganismos por apresentar alta concentração de carboidratos e, conseqüentemente, baixa atividade de água, a possibilidade de veicular bactérias patogênicas não está excluída. A presença de microorganismos, como *Salmonella*, *Staphylococcus*, coliformes, bolores e leveduras, em doce de leite tem sido motivo de preocupação por parte dos órgãos responsáveis pela inspeção de alimentos e saúde pública, os quais têm estabelecido limites de tolerância para a ocorrência destes microorganismos no produto. Cuidados higiênico-sanitários no processamento e manuseio do doce de leite estão entre as principais medidas preventivas para evitar sua contaminação.

No comércio, é prática comum o fracionamento do doce de leite para venda a varejo. Manipulação inadequada e exposição ao meio ambiente aumentam o risco de contaminação do produto oferecido ao consumidor, o que torna importante sua avaliação microbiológica.

O objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do doce de leite pastoso fracionado para venda a varejo em supermercados da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul (RS), Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 28 amostras de doce de leite, comercializadas a varejo, obtidas em seis supermercados da cidade de Pelotas, RS. As amostras, embaladas nos mesmos potes em que estavam colocados à venda, foram encaminhadas

ao Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal (LIPOA) da Universidade Federal de Pelotas e imediatamente analisadas. Foram realizadas pesquisa de *Salmonella* e contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva, de coliformes termotolerantes e de bolores e leveduras. Os ensaios foram executados de acordo com FDA (1992)³.

Os isolados de *Salmonella* obtidos foram enviados ao Departamento de Bacteriologia do Laboratório de Enterobactérias da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) para sorotipagem. Foram também testados quanto à sensibilidade a antimicrobianos pelo Método de Difusão em Disco, usando ágar Mueller-Hinton (Acumedia, USA) e incubação a 37°C por 18-24 h, de acordo com o National Committee Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Os antimicrobianos utilizados foram ampicilina (10µg), cloranfenicol (30µg), norfloxacina (10µg), tetraciclina (30µg), ácido nalidixico (30µg), ceftriaxona (30µg), ciprofloxacina (5µg) e sulfametoxazol/trimetoprim (25µg) (Sensidisc, DME, São Paulo).

RESULTADOS

Uma amostra (3,6%) de doce de leite apresentou *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Typhimurium em 25 g do produto. Essa cepa foi resistente aos antimicrobianos cloranfenicol e sulfametoxazol/trimetoprim, apresentou resistência parcial à tetraciclina e foi sensível aos demais antimicrobianos testados. Não foi isolada *Salmonella* das demais amostras.

Todas as amostras analisadas (100%) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva < 10 UFC/g.

As contagens de coliformes termotolerantes apresentaram resultados < 3 NMP/g, com exceção de duas amostras (7,1%) de dois supermercados, que apresentaram 0,4 e 2,1 NMP/g.

As contagens de bolores e leveduras das amostras obtidas nos seis supermercados variaram de $1,4 \times 10^1$ a $6,0 \times 10^4$ UFC/g. As médias das contagens estão demonstradas na Figura 1.

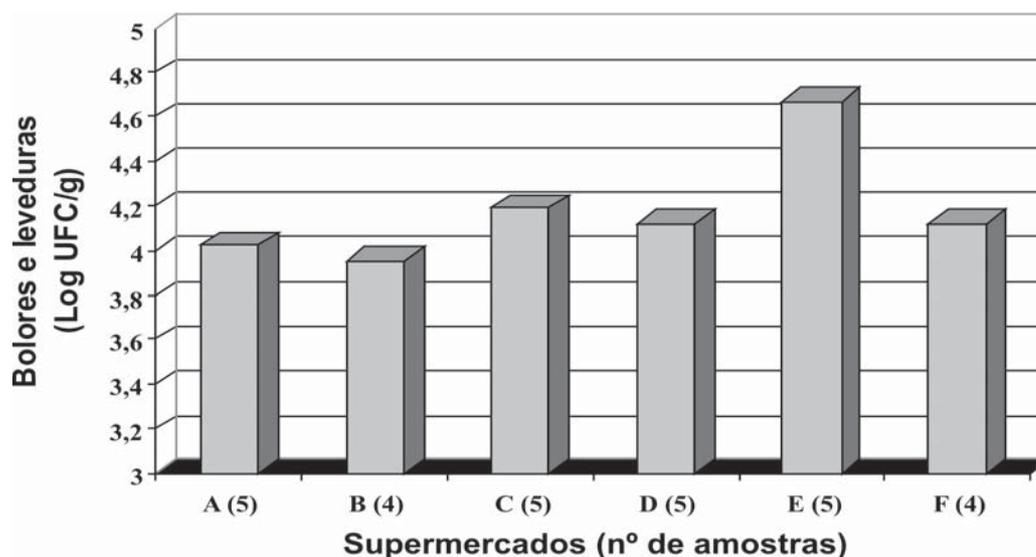


Figura 1. Médias de contagens de bolores e leveduras de amostras de doce de leite coletadas em seis supermercados da cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

DISCUSSÃO

O doce de leite é um derivado lácteo produzido e consumido em larga escala em países como Brasil, Uruguai e Argentina. No Brasil, embora o produto seja inspecionado na indústria pelos órgãos oficiais, o comércio varejista, especialmente supermercados, costuma proceder a abertura de embalagens de doce de leite para venda em porções menores, de acordo com a quantidade solicitada pelo comprador. Essa prática aumenta o risco de contaminação do produto e de transmissão de microrganismos indesejáveis para o consumidor.

Bactérias do gênero *Salmonella* são uma das principais causas de enfermidades veiculadas por alimentos⁴. A legislação brasileira determina no Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que o doce de leite deve apresentar ausência de *Salmonella* em 25 g⁵. A presença de *Salmonella* em uma (3,6%) das 28 amostras de doce de leite analisadas é significativo do potencial perigo representado pelo consumo do produto vendido a varejo. Cepas de *Salmonella* Typhimurium resistentes a antimicrobianos têm sido isoladas de outros alimentos^{6,7,8,9}. Entretanto, este é o primeiro registro de isolamento de *Salmonella* a partir de amostras de doce de leite.

Todas (100%) as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva e de coliformes termotolerantes apresentaram resultados abaixo dos limites máximos estabelecidos na legislação brasileira para esses parâmetros, que são 10² UFC/g e 50 NMP/g, respectivamente^{1,5}. São raros os registros de estudos de avaliação microbiológica de doces de leite no comércio varejista. Sousa et al.¹⁰ analisaram doce de leite de búfala produzido na Ilha de Marajó, Brasil, e não isolaram *Salmonella* nem *Staphylococcus* de 18 amostras estudadas.

Bolores e leveduras fornecem informações sobre as condições gerais de higiene no processamento, armazenamento e transporte dos alimentos, sendo importantes indicadores da deterioração dos alimentos¹¹. Apenas uma amostra (3,6%) apresentou contagem de bolores e leveduras com valores aceitáveis pelas normas brasileiras, determinadas no Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Doce de Leite, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento¹. Todas as demais (96,4%) apresentaram contagens acima de 1,0 x 10² UFC/g. Em estudo realizado com doce de leite elaborado artesanalmente, SOUSA et al.¹⁰ também encontraram elevada ocorrência de bolores e leveduras. A elaboração artesanal de doce de leite, assim como o fracionamento para venda em pequenas porções, implica em maior manipulação e exposição do produto a potenciais fontes de contaminação, o que pode estar relacionado com as contagens de bolores e leveduras observadas.

CONCLUSÃO

O doce de leite pastoso fracionado nos estabelecimentos comerciais pode ser fonte de microrganismos patogênicos para

humanos, o que justifica a adoção de rigoroso controle na inspeção e fiscalização do comércio deste alimento.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Portaria nº354, de 04/09/97, do Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de doce de leite. Diário Oficial da União, Brasília, 08 set. 1997. Seção I, p. 19685.
2. Pavlovic S, Santos RC, Silva ME, Gloria MBA. Effect of processing on the nutritive value of *Doce de Leite*, a typical Latin-American confectionary product. *Arq Biol Tecnol*. 1992; 35 (4): 691-8.
3. FDA. Bacteriological analytical manual, 7th ed. Association of Official Analytical Chemists International, Arlington, VA. 1992.
4. D'Aoust J, Maurer J, Baley JS. *Salmonella* Species. In: DOYLE, G.L.; ABRAHAM, A.G.; ANTONI, G.L. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. 2nd ed. Washington: ASM; 2001. p. 141-78.
5. Brasil. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico sobre padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 10 jan. 2001. Seção I, p. 45-53.
6. Gorman R, Adley CC. Characterization of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium isolates from humans, foods, and animal sources in the Republic of Ireland. *J Clin Microbiol*. 2004; 42 (5): 2314-6.
7. Cui S, Ge B, Zheng J, Meng J. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. and *Salmonella* serovars in organic chickens from Maryland retail stores. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71 (7): 4108-11.
8. Miko A, Pries K, Schroeter A, Helmuth R. Molecular mechanisms of resistance in multidrug-resistant serovars of *Salmonella enterica* isolated from foods in Germany. *J Antimicrob Chemother*. 2005; 56: 1025-33.
9. Antunes P, Machado J, Peixe L. Characterization of antimicrobial resistance and class 1 and 2 integrons in *Salmonella enterica* isolates from different sources in Portugal. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58: 297-304.
10. Sousa CL, Neves ECA, Carneiro CAA, Farias JB, Peixoto MRS. Avaliação microbiológica e físico-química de doce de leite e requeijão produzidos com leite de búfala na Ilha de Marajó – PA. *B CEPPA*. 2002; 20 (2): 191-202.
11. Brasil. Instrução Normativa nº62, de 26/08/2003, da Secretaria de Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, 18 set. 2003. Seção I, p. 14-51.