

Avaliação microbiológica de esponjas de poliuretano utilizadas para limpeza de equipamentos e utensílios de ordenha

Microbiological evaluation of polyurethane sponges used for cleaning milking equipment and utensils

LEONAM ARAÚJO FONSÊCA

Discente de Medicina Veterinária (UNIPAM)

E-mail: leonamaf@unipam.edu.br

JULIANA BORGES PEREIRA

Professora orientadora (UNIPAM)

E-mail: julianabp@unipam.edu.br

Resumo: Dentre os métodos empregados na limpeza de equipamentos e utensílios de ordenha, um dos mais utilizados é a lavagem com esponjas de poliuretano; porém quando não higienizadas corretamente, estas esponjas podem servir como meio de cultura para microrganismos, contaminando os equipamentos e consequentemente o leite. Objetivou-se com este trabalho realizar uma análise microbiológica de quarenta esponjas utilizadas na limpeza de equipamentos e utensílios de ordenha de cinco fazendas da região de Patos de Minas - MG, analisadas com sete e quatorze dias de uso. Foi avaliado também a eficácia da imersão por cinco minutos em hipoclorito de sódio na desinfecção dessas esponjas. Concluiu-se que as amostras apresentaram altas taxas de contaminação; sendo ainda maiores nas amostras analisadas com quatorze dias de uso. O processo de desinfecção se mostrou eficiente, porém apenas para as amostras analisadas com sete dias de uso.

Palavras chave: esponjas de poliuretano; microrganismos; ordenha.

Abstract: Among the methods employed in cleaning milking equipment and utensils, one of the most used is washing with polyurethane sponges; however, when not properly sanitized, these sponges can serve as a culture medium for microorganisms, contaminating the equipment and consequently the milk. The objective of this study was to perform a microbiological analysis of forty sponges used in the cleaning of milking equipment and utensils from five farms in the region of Patos de Minas - MG, analyzed after seven and fourteen days of use. The efficacy of immersion for five minutes in sodium hypochlorite in disinfecting these sponges was also evaluated. It was concluded that the samples showed high contamination rates; which were even higher in the samples analyzed after fourteen days of use. The disinfection process proved to be efficient, but only for the samples analyzed after seven days of use.

Keywords: polyurethane sponges; microorganisms; milking.

1 INTRODUÇÃO

O leite de vaca é amplamente reconhecido como um dos alimentos mais equilibrados e completos disponíveis para consumo humano, sendo considerado, depois do leite materno, uma fonte de nutrição primordial (Costa, 2006). Possui um alto valor nutricional, sendo uma excelente fonte de proteína de origem animal, pois contém todos os aminoácidos essenciais. Além disso, é uma fonte significativa de energia alimentar, gordura e outros nutrientes, tornando-se um alimento completo adequado para todas as idades (Dizeró, 2019; Teixeira; Figueiredo, 2019).

Segundo relatórios de Siqueira (2019), a produção mundial de leite totaliza 816 milhões de toneladas anualmente, com uma média de consumo de 116,5kg por habitante por ano. Dada sua importância e consumo generalizado, é fundamental que esse produto esteja disponível para o consumidor livre de patógenos.

No processo de obtenção do leite, a ordenha representa a etapa mais vulnerável à ocorrência de contaminações. A carga microbiana inicial está diretamente relacionada à limpeza dos utensílios utilizados para a retirada e transporte desse alimento. A higienização inadequada de baldes, latões e sistemas de ordenha é apontada como o principal fator responsável pelo aumento no número de microrganismos (Costa, 2006).

É comum que a limpeza dos equipamentos utilizados na ordenha seja realizada por meio de lavagem com esponjas, algumas das quais são fabricadas com espuma de poliuretano e possuem pequenos orifícios. Essa estrutura propicia a aderência de resíduos em sua superfície, e a água retida nos poros cria um ambiente propício para o desenvolvimento de microrganismos. Assim, as esponjas podem servir como reservatórios e veículos de transmissão de contaminação (Moura *et al.*, 2017).

Devido ao elevado teor nutritivo do leite, há uma significativa possibilidade de contaminação, especialmente devido à inadequação na higienização dos equipamentos utilizados durante o processo de ordenha. Nesse contexto, a desinfecção eficaz desses equipamentos, juntamente com a substituição periódica, é fundamental, uma vez que esses materiais podem se tornar reservatórios de microrganismos e propiciar a contaminação cruzada. O presente estudo tem como objetivo avaliar as condições microbiológicas de esponjas com diferentes tempos de uso, as quais são empregadas na limpeza de utensílios e equipamentos de ordenha em cinco propriedades localizadas na região de Patos de Minas. Além disso, pretende-se investigar a eficácia da imersão em hipoclorito de sódio como método de desinfecção dessas esponjas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O leite e seus derivados merecem destaque devido ao seu alto valor nutricional, constituindo um grupo de alimentos essencial para a saúde humana. São fontes significativas de proteínas de alto valor biológico, além de conterem vitaminas, minerais, carboidratos e lipídios, sendo essenciais para a vida (Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 2015).

Além de seu valor nutricional, o leite possui grande relevância econômica, sendo a principal fonte de renda para muitas famílias em todo o mundo.

Aproximadamente 10% da população global depende diretamente da produção leiteira para sua subsistência (Siqueira, 2019). Esse alimento desempenha um papel crucial na economia de diversas regiões, como o Agreste Meridional Pernambucano (Leite *et al.*, 2019).

Adicionalmente, o leite desempenha um papel vital na alimentação de famílias de baixa renda, sendo considerado uma das fontes mais acessíveis de proteína, vitamina D, cálcio e vitamina A no Brasil (Siqueira, 2019).

No que diz respeito ao consumo, a demanda por produtos lácteos tem crescido a uma taxa superior ao aumento da população. Mudanças na estrutura demográfica, nos padrões de consumo e nas condições de vida das pessoas têm contribuído positivamente para o aumento do consumo per capita de lácteos em países emergentes, como o Brasil (Vilela *et al.*, 2017; Moraes *et al.*, 2020).

Devido à sua composição química e alto valor nutricional, o leite constitui um substrato importante para a proliferação de microrganismos, tais como *Proteus*, *Enterococcus*, *Escherichia coli*, entre outros (Menezes *et al.*, 2014).

A contaminação do leite pode ocorrer por duas vias: endógena, no caso de animais enfermos, e exógena, após a saída do úbere, podendo incluir microrganismos patogênicos e deteriorantes (Menezes *et al.*, 2014). O acesso de microrganismos a este produto pode ocorrer em qualquer uma das etapas, desde a produção até o consumo, conforme destacado por Almeida (2010). No entanto, a ordenha é reconhecida como a etapa mais suscetível a contaminações (Costa, 2006), sendo a rotina de ordenha o fator primordial para a obtenção de um produto de qualidade superior (Custodio, 2021).

A contaminação microbiológica do leite representa um perigo para a saúde do consumidor, uma vez que esse alimento pode veicular microrganismos associados a surtos de origem alimentar, além de causar prejuízos econômicos (Sandoval; Ribeiro, 2021). Doenças como a colibacilose podem ser ocasionadas pela ingestão de leite contaminado, sendo o microrganismo coliforme um indicador comum de contaminação fecal. A contaminação por esse microrganismo pode ocorrer tanto por secreção intramamária quanto por contaminação fecal do úbere ou dos equipamentos de ordenha.

Dessa forma, a atenção aos fatores como a saúde da glândula mamária, a higiene durante a ordenha, a limpeza dos ordenhadores e dos tanques de resfriamento, bem como os procedimentos de limpeza dos utensílios e equipamentos de ordenha, são essenciais para garantir a qualidade microbiológica do leite (Menezes *et al.*, 2014).

A higienização adequada é indispensável e deve estar presente em várias etapas da produção de leite. A falta de medidas higiênicas adequadas no manejo, na ordenha, na desinfecção e na limpeza de equipamentos e ambientes pode ser o ponto inicial da contaminação do produto (Custodio, 2021), resultando em um aumento significativo na contagem bacteriana total do leite. Isso ocorre porque os microrganismos tendem a se proliferar em resíduos presentes em recipientes, borrachas, conexões e em qualquer local onde haja acúmulo desses resíduos (Nörnberg, 2009).

Além do aumento na contagem bacteriana, o acúmulo de resíduos orgânicos propicia a adesão bacteriana, podendo resultar no desenvolvimento de biofilmes. A formação desses biofilmes em superfícies utilizadas na produção de alimentos, como o aço inoxidável (material comum na fabricação de tanques de resfriamento de leite), tem

recebido destaque devido aos potenciais malefícios associados à sua presença (Mücke, 2016; Guimarães *et al.*, 2017).

Um biofilme é uma comunidade de microrganismos que crescem aderidos a uma superfície e estão revestidos por uma matriz extracelular heterogênea e complexa, composta por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos produzidos pelos próprios microrganismos (Nascimento; Sena, 2017). Essa estrutura confere habilidades adicionais aos microrganismos, aumentando sua aderência às superfícies, protegendo-os contra agentes inibidores e dessecação, além de proporcionar maior resistência a desinfetantes (Rodrigues, 2021). Microrganismos presentes em biofilmes podem se tornar de 10 a 1.000 vezes mais resistentes do que quando estão na forma livre (Hoch, 2022).

Uma vez formados, os biofilmes atuam como fontes de contaminação contínua (Boari *et al.*, 2009), pois, embora tenham a característica de aderir às superfícies, muitas vezes podem se desprender e espalhar os microrganismos, comprometendo a qualidade do alimento (Braga *et al.*, 2022).

As esponjas são itens essenciais para a limpeza de superfícies, equipamentos e utensílios, com o objetivo de remover resíduos orgânicos. No entanto, durante seu período de uso, as esponjas acumulam esses resíduos, tornando-se um meio de cultura, reservatório e veículo de transmissão de microrganismos patogênicos. Isso pode resultar em contaminação cruzada, termo utilizado para descrever a transferência de bactérias e vírus de alimentos contaminados para outros alimentos, por meio do uso de utensílios contaminados, manipuladores e ambiente de produção (Santos *et al.*, 2021).

Diversas pesquisas demonstraram que as esponjas utilizadas na limpeza de superfícies contendo resíduos orgânicos podem contaminar superfícies de aço inoxidável, contribuindo para a contaminação cruzada entre equipamentos e alimentos (Rossi, 2010).

Outros estudos revelaram a presença de diversos microrganismos patogênicos e oportunistas em esponjas de poliuretano utilizadas nos processos de limpeza, incluindo coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella* sp., fungos, *Enterobacter* e outros (Sousa *et al.*, 2016). Dentre esses microrganismos, os que se destacam na contaminação do leite são principalmente as bactérias, enquanto os demais grupos têm uma participação reduzida nesse processo (Avelino, 2017).

A determinação dos microrganismos como *E. coli*, *Bacillus Cereus*; *Listeria*, *Salmonella*, *Staphylococcus* e *Streptococcus*, que é o objetivo desta pesquisa, é de extrema importância. Quando presentes em um alimento, esses microrganismos podem fornecer informações cruciais sobre a ocorrência de contaminação e o potencial de deterioração do alimento, além de indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (Menezes *et al.*, 2014).

A identificação da presença de *Escherichia coli* nas esponjas destinadas à limpeza de equipamentos de ordenha é de extrema importância, evidenciando a necessidade de adoção de medidas cabíveis. Isso porque a presença desse microrganismo é preocupante, já que pode contaminar o leite através da contaminação cruzada. Uma vez ingerido, a *Escherichia coli* pode causar infecções no trato intestinal e infecções extraintestinais, como infecção urinária, sepse e meningite, sendo um dos

principais agentes causadores de doenças transmitidas por alimentos em todo o mundo (Serenó, 2021).

Além disso, a *Escherichia coli* pode permanecer nas superfícies por longos períodos, especialmente quando há presença de proteínas de resíduos biológicos, aumentando assim o risco de contaminação cruzada entre equipamentos e alimentos (Esteves *et al.*, 2014). Essa capacidade ressalta a importância crucial de uma higienização correta nos equipamentos utilizados na obtenção e produção de alimentos, incluindo aqueles utilizados na ordenha.

3 MATERIAL E MÉTODO

As metodologias adotadas para amostragem, coleta, acondicionamento, transporte e análise microbiológica das amostras seguiram as diretrizes técnicas estabelecidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 2019), conforme descritas no Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (Silva *et al.*, 2017). A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Microbiologia localizado no bloco D do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM).

Foram coletadas e analisadas quarenta esponjas utilizadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenha de cinco propriedades da região de Patos de Minas. O tempo de uso das esponjas foi determinado de acordo com a data de entrega das mesmas aos proprietários locais. Cada fazenda recebeu quatro esponjas, sendo duas destinadas à limpeza do tanque de refrigeração de leite e duas para a ordenha. A coleta e análise das amostras foram realizadas em duas datas diferentes: 20 amostras foram analisadas após sete dias de uso e outras 20 amostras após 14 dias de uso. Os proprietários foram orientados a adotar diferentes práticas para cada esponja recebida: em duas delas, não foi realizado nenhum método de desinfecção, enquanto as outras passaram por um processo de imersão em hipoclorito de sódio durante cinco minutos.

As amostras foram identificadas como A1, B1, C1, D1 até A5, B5, C5, D5 no primeiro lote de análises, e como A6, B6, C6, D6 até A10, B10, C10, D10 no segundo lote. Após a coleta, as esponjas foram acondicionadas em um recipiente isotérmico para manter uma temperatura média de 0°C a 4°C e imediatamente transportadas até o Laboratório de Microbiologia.

No laboratório, foi realizada a assepsia tanto externa quanto interna da capela com álcool 70%, seguida pela descontaminação de cada amostra em seu invólucro/embalagem, também utilizando álcool 70%.

Para o preparo das amostras, cada esponja foi adicionada e homogeneizada em frascos contendo 225mL de solução de Água Peptonada Tamponada a 1% (APT). Em seguida, os frascos foram incubados a 37°C por 24 horas.

Do conteúdo dos recipientes, foram feitas diluições seriadas. Utilizando uma pipeta estéril, 1mL do meio foi transferido para tubos contendo 9mL de Água Peptonada Tamponada a 1% (APT), repetindo esse processo duas vezes na primeira rodada de análises, resultando nas diluições de 10^1 e 10^2 . Na segunda rodada de análises, esse processo foi repetido três vezes, resultando nas diluições de 10^1 , 10^2 e 10^3 .

Após a realização das diluições, 0,5mL da diluição mais diluída foi depositado no fundo de uma placa de Petri estéril. Em seguida, foram adicionados 20mL

do meio Ágar Padrão para Contagem (PCA) na placa de Petri, utilizando a técnica de *pour plate*. Esse processo foi repetido para todas as 40 amostras. Após a solidificação das placas, estas foram incubadas invertidas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC).

Além das diluições, o conteúdo dos frascos iniciais foi utilizado para fazer estrias em placas contendo os seguintes meios de cultura: Ágar Sangue, Ágar Lactose Orto-Nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo (ALOA), Ágar Baird-Parker (BP), Ágar Bacillus Cereus (BC) e Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). Além disso, 0,1mL do conteúdo foi transferido para tubos contendo o meio Rappaport (RAPPA).

As placas contendo os meios ALOA, BP, BC e EMB foram incubadas invertidas a 37°C por 24 horas. As placas com Ágar Sangue também foram incubadas invertidas a 37°C por 24 horas, mas em uma jarra de anaerobiose. Os tubos contendo RAPPA foram incubados a 44,5°C por 24 horas.

Posteriormente, o conteúdo de cada tubo de RAPPA foi estriado em uma placa contendo o meio Ágar Entérico de Hektoen (HE) utilizando alças de inoculação. Esse processo foi repetido e as placas foram incubadas invertidas a 37°C por 24 horas.

Após a execução da metodologia descrita anteriormente, cada placa foi analisada individualmente quanto ao crescimento do microrganismo pesquisado. Foram utilizados métodos confirmatórios, como a coloração de Gram, para identificação e caracterização dos microrganismos presentes nas amostras.

Os objetivos do uso de cada meio estão descritos no quadro a seguir.

Quadro 1: Meios utilizados e seus objetivos

Meio	Objetivo
APT	Possibilitar o crescimento bacteriano e a execução das diluições.
ALOA	Identificar a presença ou ausência do gênero <i>Listeria</i> na amostra.
AS	Identificar a presença ou ausência do gênero <i>Streptococcus</i> na amostra.
BC	Identificar a presença ou ausência do gênero <i>Bacillus Cereus</i> na amostra.
BP	Identificar a presença ou ausência do gênero <i>Staphylococcus</i> na amostra.
EMB	Identificar a presença ou ausência do gênero <i>Escherichia coli</i> na amostra.
HE	Identificar a presença ou ausência do gênero <i>Salmonella</i> na amostra.
PCA	Realizar a contagem de unidades formadoras de colônias.
RAPPA	Possibilitar o fortalecimento e crescimento do gênero <i>Salmonella</i> .

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE QUALITATIVA

Foram coletadas e analisadas quarenta esponjas utilizadas no procedimento de higienização dos equipamentos de ordenha em cinco estabelecimentos da região de Patos de Minas. As amostras foram avaliadas após sete e 14 dias de uso. Os dados referentes aos microrganismos presentes nas esponjas após sete dias de utilização estão detalhados nos quadros 2, 3, 4, 5 e 6 subsequentes.

Quadro 2: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 1, com sete dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
4	<i>Staphylococcus sp., Listeria</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 3: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 2, com sete dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Staphylococcus, Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus sp.</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 4: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 3, com sete dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
4	<i>Staphylococcus sp.</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 5: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 4, com sete dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 6: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 5, com sete dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus sp.</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus sp.</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE ESPONJAS DE POLIURETANO UTILIZADAS
PARA LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS DE ORDENHA

Na segunda fase da pesquisa, as esponjas foram coletadas e analisadas após 14 dias de utilização; os resultados estão delineados nas tabelas 7, 8, 9, 10 e 11 a seguir.

Quadro 7: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 1, com 14 dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 8: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 2, com 14 dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 9: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 3, com 14 dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 10: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 4, com 14 dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
2	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria, Staphylococcus, Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>
4	<i>Listeria, Staphylococcus sp., Escherichia coli, Streptococcus sp.</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Quadro 11: Microrganismos encontrados nas esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenhas da fazenda 5, com 14 dias de uso

Amostra	Microrganismos encontrados
1	<i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> sp.
2	<i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Escherichia coli</i>
3	<i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus</i> sp.
4	<i>Listeria</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Escherichia coli</i>

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Em um estudo conduzido por Rezende *et al.* (2016), foram examinadas 30 esponjas de poliuretano utilizadas em residências domésticas, nas quais foram identificadas bactérias, tais como *Escherichia coli* e do gênero *Staphylococcus*, evidenciando a capacidade dessas esponjas de poliuretano em servirem como meio propício para o crescimento bacteriano.

As bactérias presentes nas esponjas podem contaminar o leite durante o processo de higienização dos equipamentos e utensílios de ordenha, tornando-o uma fonte potencial de contaminação. Esse fenômeno é respaldado por Oliveira *et al.* (2010), que afirmam que o leite está entre os alimentos associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs).

Uma vez presentes nos alimentos, os microrganismos identificados neste estudo podem desencadear diversas enfermidades. A presença de bactérias do gênero *Staphylococcus* pode resultar em complicações como endocardites, pneumonias e septicemias (Lima *et al.*, 2015). *Escherichia coli*, quando ingerida juntamente com alimentos como o leite, pode causar, entre outras afecções, diarreias e gastroenterites (Oliveira *et al.*, 2015).

Outro patógeno relevante encontrado neste estudo é o *Streptococcus* sp.; bactérias deste gênero, como o *Streptococcus agalactiae*, possuem importância global, estando associadas à transmissão vertical para neonatos de parturientes colonizadas. Entre as infecções neonatais associadas a este microrganismo destacam-se principalmente a septicemia e a pneumonia e, em menor frequência, meningite, celulite, osteomielite e artrite séptica.

Dentre os microrganismos identificados neste estudo, destaca-se a presença de *Listeria* sp., agente causador da listeriose, cuja principal via de transmissão é a ingestão de produtos lácteos contaminados. As manifestações clínicas da listeriose em humanos estão principalmente relacionadas a infecções no sistema nervoso central (SNC), como meningite e encefalite, além de outras condições como endocardite, peritonite, pneumonia e osteomielite (Barancelli *et al.*, 2011). Esta enfermidade representa um risco para a saúde pública, destacando-se a necessidade de implementação de medidas de controle (Silva, 2018).

Considerando as consequências adversas decorrentes da presença de microrganismos nos alimentos, é essencial adotar cuidados rigorosos com a higiene durante sua manipulação. É importante ressaltar que os patógenos podem ser transmitidos através de utensílios contaminados, como as esponjas utilizadas na limpeza de equipamentos e utensílios de ordenha (Santos *et al.*, 2021).

4.2 ANÁLISE QUANTITATIVA

Para as análises quantitativas da carga microbiana total, as amostras foram distribuídas em quatro grupos equivalentes. Essa divisão ocorreu da seguinte maneira: Grupo 1 - Esponjas empregadas na limpeza da ordenha mecânica, sem passar pelo processo de desinfecção; Grupo 2 - Esponjas utilizadas na higienização da ordenha mecânica, submetidas ao processo de desinfecção; Grupo 3 - Esponjas empregadas na limpeza do tanque de refrigeração de leite, sem passar pelo processo de desinfecção; Grupo 4 - Esponjas utilizadas na limpeza do tanque de refrigeração de leite, que foram submetidas ao processo de desinfecção. Cada grupo foi composto por cinco amostras, provenientes de cinco propriedades distintas. Importante ressaltar que as mesmas propriedades foram utilizadas para todos os grupos, sendo que cada uma contribuiu com quatro amostras.

Devido à elevada carga microbiana nas amostras, foi necessário recorrer ao uso de diluições, utilizando duas diluições para a realização das análises na primeira etapa e três diluições na segunda etapa. Além disso, foi imprescindível empregar a técnica de contagem em quadrantes, que envolve a contagem de uma área específica da placa de Petri e sua multiplicação pela área total da mesma.

Na primeira etapa, que consistiu na análise das amostras com sete dias de uso, os resultados estão apresentados na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1: Taxa de contaminação das esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenha, com sete dias de uso, em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Grupo 1		Grupo 2	
Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)	Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)
1	1.084.800	1	1.000
2	1.150.800	2	946.800
3	875.000	3	521.400
4	620.000	4	882.700
5	404.400	5	402.200
Grupo 3		Grupo 4	
Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)	Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)
1	150.000	1	500
2	654.000	2	365.000
3	600.000	3	8.900
4	590.000	4	492.000
5	420.000	5	343.000

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

A segunda fase da presente pesquisa envolveu a análise da carga microbiana total das amostras com 14 dias de uso, sendo importante destacar que as amostras foram provenientes das mesmas fazendas da primeira etapa. Os resultados estão detalhados na Tabela 2 a seguir.

Tabela 2: Taxa de contaminação das esponjas empregadas no processo de limpeza dos equipamentos de ordenha, com 14 dias de uso, em Unidades Formadoras de Colônias (UFC)

Grupo 1		Grupo 2	
Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)	Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)
1	22.000.000	1	23.000.000
2	24.000.000	2	20.000.000
3	16.500.000	3	19.000.000
4	21.000.000	4	22.400.000
5	28.000.000	5	26.000.000
Grupo 3		Grupo 4	
Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)	Amostra/fazenda de origem	Taxa de contaminação (UFC)
1	13.500.000	1	15.000.000
2	16.200.000	2	18.400.000
3	13.000.000	3	11.000.000
4	20.000.000	4	28.600.000
5	14.500.000	5	16.000.000

Fonte: dados da pesquisa, 2023.

Não existem na Legislação Brasileira valores de referência que estabeleçam padrões microbiológicos para esponjas, o que dificulta a comparação com os resultados obtidos (Rezende *et al.*, 2016).

Em um estudo realizado por Sousa *et al.* (2016), no qual foram analisadas 10 esponjas de poliuretano utilizadas em cozinhas domésticas, a maioria das amostras apresentou resultados incontáveis. O mesmo padrão foi observado no estudo conduzido por Rezende *et al.* (2016), que analisou 30 esponjas utilizadas no mesmo ambiente. Isso evidencia a capacidade das esponjas fabricadas a partir de espuma de poliuretano de servirem como meio de cultura para bactérias, resultando em altos índices de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) quando analisadas, conforme observado no presente estudo.

Foi observado que a quantidade de Unidades Formadoras de Colônias (UFCs) foi significativamente maior nas esponjas analisadas com 14 dias de uso em comparação com aquelas analisadas com sete dias, corroborando com o achado de Moura *et al.* (2017), que indica que a quantidade de microrganismos presentes nas esponjas aumenta com a prolongação do tempo de uso.

A imersão das esponjas em hipoclorito de sódio mostrou-se eficaz na redução da quantidade de UFCs presentes nas amostras, em concordância com o estudo de Silva *et al.* (2023), que sugere que o NaOCl atua como um antimicrobiano de amplo espectro com ação imediata sobre diversas espécies bacterianas.

Entretanto, esse benefício foi observado apenas nas esponjas analisadas com sete dias de uso. As esponjas analisadas com 14 dias de uso apresentavam uma maior concentração de detergente retido nelas, em comparação com aquelas utilizadas por apenas sete dias. Essa condição pode ter sido o motivo pelo qual a desinfecção não foi eficiente, uma vez que o hipoclorito de sódio nunca deve ser misturado com outros produtos de limpeza, como sabão e detergente (Martins *et al.*, 2011).

5 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, foi evidente que as amostras apresentaram altas cargas microbianas, com bactérias do gênero *Staphylococcus* sendo o microrganismo mais prevalente, estando presente em todas as amostras. O processo de desinfecção por imersão das esponjas em hipoclorito de sódio por cinco minutos demonstrou eficácia na redução das taxas de contaminação, especialmente nas amostras dos grupos um e dois, que eram utilizadas para lavagem dos mesmos equipamentos em cada fazenda, assim como as esponjas dos grupos três e quatro.

Entretanto, esse benefício foi constatado apenas nas esponjas analisadas com sete dias de uso, possivelmente devido à interferência da maior quantidade de detergente retido nas esponjas com 14 dias de uso.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, G. M. de. **Qualidade microbiológica do leite cru refrigerado no município de Ouro Preto do Oeste - Rondônia - Brasil**. 2010. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde), Universidade de Brasília, Brasília, 2010.

AVELINO, N. R. **Higiene na ordenha e seu reflexo na qualidade microbiológica do leite bovino**. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Pecuária Leiteira com Ênfase em Tecnologias Sociais), Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais, Campus São João Evangelista, São João Evangelista, 2017.

BARANCELLI, G. V. *et al.* *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 155-168. 2011.

BOARI, C. A. *et al.* Formação de biofilme em aço inoxidável por *Aeromonas hydrophila* e *Staphylococcus aureus* usando leite e diferentes condições de cultivo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 4, p. 886-895, 2009.

BRAGA, E. E. *et al.* Pesquisa de *Escherichia coli* e avaliação da produção qualitativa de biofilme em amostras de leite pasteurizado comercializado na cidade do Rio de Janeiro. **Microbiologia de Alimentos**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 1, p. 54-64, 2022.

BRASIL. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **RDC n. 331, 23 de dezembro de 2019**. Brasília: Diário Oficial da União, 2019.

COSTA, F. F. **Interferência de práticas de manejo na qualidade microbiológica do leite produzido em propriedades rurais familiares**. 2006. 40 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Curso de Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2006.

CUSTODIO, H. C. V. **Análise da influência de procedimentos de manejo e rotina de ordenha na qualidade do leite em uma fazenda leiteira em Três Pontas - MG.**

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária), Centro Universitário do Sul de Minas, Varginha, 2021.

DIZERÓ, M. F. C. **Perfil microbiológico de leite bovino como ferramenta para assistência técnica.** 2019. 68 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal Sustentável), Instituto de Zootecnia, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Nova Odessa, 2019.

ESTEVES, D. C. *et al.* Avaliação de conservação da viabilidade de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* sob influência de fluídos biológicos em superfícies secas. **Colloquium Vitae**, Presidente Prudente, v. 6, n. 2, p. 22-30, 2014.

GUIMARÃES, A. D. B. *et al.* Biofilmes de bactérias causadoras de mastite bovina e sua biotransferência de aço inoxidável para o leite. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 2017, Belo Horizonte. **Anais [...]**. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2017. p. 2755-2758.

HOCH, J. **Modificação da adesão e proliferação bacteriana em superfícies de aço inoxidável AISI 430 texturizadas por shot peening.** Dissertação (Mestrado em Engenharia) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2022.

LEITE, A. E. de L. M. *et al.* Causas de não recebimento do leite cru refrigerado em usina de beneficiamento do Agreste Meridional de Pernambuco. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 74, n. 2, p. 86-95, 2019.

LIMA, M. F. P. *et al.* *Staphylococcus aureus* e as infecções hospitalares – revisão de literatura. **Uningá Review**, Maringá, v. 21, n. 1, p. 32-39. 2015.

MARTINS, M. C. V. *et al.* Análise do uso de material e produtos químicos na higienização de equipamentos e utensílios em uma cozinha experimental de preparo de alimentos. **Oikos: Revista Brasileira de Economia Doméstica**, Viçosa, v. 22, n. 2, p. 195-212, 2011.

MENEZES, M. F. C. *et al.* Microbiota e conservação do leite. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, Santa Maria, v. 18, p. 76-89, 2014.

MORAES, M. R. L. *et al.* Atual conjuntura do setor industrial de leite: Estudo da industrialização do leite no Brasil e no Nordeste. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, v. 6, n. 8, p. 57085-57095, 2020.

MOURA, D. M. B. de *et al.* Análise microbiológica, formas de uso e desinfecção de esponjas de uso doméstico na cidade de Teresina, PI. **Higiene Alimentar**, [S. l.], v. 31, n. 272/273, p. 47-50, 2017.

- MÜCKE, N. **Sensibilidade celular e de biofilme de *Enterococcus* sp. aos desinfetantes de uso industrial.** 2016. 77 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2016.
- NASCIMENTO, I. R. do; SENA, T. L. de. **Biofilmes bacterianos: colonização e identificação de microorganismos causadores de infecção em cateter venoso central.** Relatório final (Pesquisa) Iniciação Científica - Faculdade de Ciências da Educação e da Saúde. 2017.
- NÖRNBERG, M. F. B. L. **Atividade proteolítica, aderência e produção de biofilmes por microrganismos psicotróficos em leite bovino.** 2009. 89 f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.
- OLIVEIRA, A. B. A *et al.* Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **HCPA**, Porto Alegre, v. 30, n. 3, p. 279-285, 2010.
- OLIVEIRA, A. J. *et al.* Coliformes termotolerantes: bioindicadores da qualidade da água destinada ao consumo humano. **Atas de Saúde Ambiental**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 24-29, 2015.
- REZENDE, C. *et al.* Avaliação microbiológica em esponjas de uso doméstico. **Revista Unifev: Ciência & Tecnologia**, São Paulo, v. 1, n. 1. 2016.
- ROSSI, E. M. **Avaliação da contaminação microbiológica e de procedimentos de desinfecção de esponjas utilizadas em serviços de alimentação.** 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- RODRIGUES, D. E. B. **Caracterização de biofilmes multiespécies formados por bactérias isoladas de leite.** 2021. 49 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola), Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2021.
- SANDOVAL, V. L.; RIBEIRO, L. F. Qualidade do leite: sua influência no processamento, requisitos obrigatórios e sua importância para o produto final. **GeTec**, Monte Carmelo, v. 10, n. 28, p. 41-49, 2021.
- SANTOS, A. L. *et al.* **Análise microbiológica e formas de desinfecção de esponjas de uso doméstico.** [S. l.]: Funec, 2021.
- SERENO, M. J. **Presença de *Escherichia coli* diarreiogênicas em bovinos provenientes de criações extensiva e intensiva e na linha de abate e processamento.** 2021. 89 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2021.

SILVA, A. L. M, *et al.* Métodos alternativos e promissores ao uso de hipoclorito de sódio na desinfecção de frutas e hortaliças minimamente processadas. **Brazilian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, Pinheiral, v. 1, n. 1, p. 01-14, 2023.

SILVA, L. dos S. **Doenças transmitidas por alimentos com abordagem nos principais microrganismos patogênicos presentes no leite – revisão de literatura**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2018.

SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5. ed. São Paulo: Editora Edgard Blucher Ltda., 2017.

SIQUEIRA, K. B. **O mercado consumidor de leite e derivados**. Juiz de Fora: Embrapa, 2019. 17 p. Circular Técnica 120.

SBAN. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. **A importância do consumo de leite no atual cenário nutricional brasileiro**. [S. l.]: SBAN, 2015. 28 p.

SOUSA, T. M. *et al.* Análise microbiológica de esponjas de poliuretano utilizadas em cozinhas domésticas. **Revista Científica da FAMINAS**, Muriaé, v. 9, n. 1, p. 27-37, 2016.

TEIXEIRA, C. M. S.; FIGUEIREDO, M. A. Qualidade microbiológica do leite bovino no Brasil associada à *Staphylococcus aureus*. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, Maringá, v. 6, n. 1, p. 196, 2018.

VILELA, D. *et al.* A evolução do leite no Brasil em cinco décadas. **Revista de Política Agrícola**, Brasília, v. 26, n. 1, p. 05-24, 2017.