

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO LEITE ARMAZENADO EM TANQUE DE EXPANSÃO E EM TARRO, IDENTIFICAÇÃO DOS MICRORGANISMOS ISOLADOS E DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE SENSIBILIDADE AOS AGENTES ANTIMICROBIANOS.

PRESOTTO, R.¹; BIONDO, N.¹; LUBECK, I.S.^{2*}.

¹Acadêmico de Medicina Veterinária da UNOESC. ² Docente Méd. Veterinária UNOESC

Irina Lubeck
Rua Cesar Lombroso, 29/202
Porto Alegre - RG
CEP: 90430240

Resumo:

A alimentação humana é motivo de preocupação no mundo, visando a produção em grande escala e de qualidade. O leite e seus derivados são alimentos importantes para a alimentação humana. Contudo, fatores como mastite bovina, virulência do agente etiológico e extensão do tecido afetado - além de fatores físicos como armazenamento e resfriamento - alteram a composição e qualidade do produto. A avaliação da qualidade do leite pode ser realizada através do isolamento do microrganismo, determinação das unidades formadoras de colônias (UFC) e avaliação individual da saúde da glândula mamária do animal. Foram avaliadas 35 amostras de leite, sendo 20 amostras de resfriador de expansão e 15 de resfriador a tarro. A análise foi realizada no Laboratório de Microbiologia da UNOESC – Xanxerê., Essas foram diluídas e semeadas em meios específicos. Como resultados, os principais microrganismos isolados em tanque de expansão foram bactérias do gênero *Staphylococcus* (53%), *Streptococcus* (22%) e, *Escherichia coli* (18%) e, nos tarros foram isolados *Staphylococcus* (42%), *Streptococcus* (24%) e, *E. coli* (28%). Os agentes microbianos que apresentaram maior resistência foram: amoxicilina 45%, neomicina 43%, penicilina 39%, e os de maior sensibilidade: florfenicol 84%, ceftiofur 72%, doxicilina 68% e gentamicina 63%. Leveduras foram isoladas em 59% das amostras conservadas em resfriador a tarro e, com relação às UFC, seu índice foi maior em resfriador a tarro.

PALAVRAS-CHAVES: Leite, UFC, tanque, tarro.

Abstract:

The human food is a current concern to the world, seeking for higher quality and large scale production. The milk and derivatives are important for human food, however, factors such as bovine mastitis affects its quality. Some Important issues to evaluate are the virulence and type of the microbiological agent, the extent of the affected tissue as well as physical factors such as storage and cooling that can alter the product quality and composition. The assessment of the milk quality can be achieved through the microorganism isolation, determination of the colony-forming units (CFU) and individual assessment of the mammary gland

health. We analyzed 35 milk samples, 20 from cooling expansion samples and 15 from cooling pail. The analysis was performed in the Microbiology Laboratory of UNOESC – Xanxerê. Samples were diluted and cultured in specific culture mediums. The main isolated microorganisms from the expansion tank were *Staphylococcus*, 53%, and *Streptococcus*, 22%, *E. coli*, 18% and in the pail were isolated *Staphylococcus* 42%, *Streptococcus* 24%, and *E. coli* 28%. The microbial agents that had greater resistance were: amoxicillin 45%, neomycin 43%; penicillin 39%, that has the highest sensitivity were: florfenicol 84%; ceftiofur 72%; doxicilina 68%, gentamicin 63%; yeasts were isolated in 59% of samples kept in the cooling pail and, with respect to the UFC the higher index was in the cooling pail.

Keywords: Milk, UFC, tank, milk pail.

Introdução

O sistema agro-industrial do leite e seus derivados possui enorme importância social, sendo um dos mais importantes agro-negócios do país. A atividade é praticada em todo o território nacional, em mais de um milhão de propriedades rurais, gerando cerca de três milhões de empregos (MULLER et al., 2002).

O leite é considerado o mais nobre dos alimentos por sua composição rica em proteína, gordura, carboidratos, sais minerais e vitaminas. Além de suas propriedades nutricionais, o leite oferece elementos anticarcinogênicos presentes na gordura, como o ácido linoléico conjugado, esfingomiéline, ácido butírico, β caroteno, vitaminas A e D (RIBEIRO et al., 2000)..

Do ponto de vista tecnológico, a qualidade da matéria prima é um dos maiores problemas para o desenvolvimento da indústria de laticínios no Brasil (MULLER, 2002). Mas, exigências do mercado consumidor e a implantação de programas de pagamento do leite pela qualidade demandaram a introdução de métodos eficientes e práticos de higiene e de resfriamento do produto, além de técnicas rápidas e modernas de análises de leite (PEIXOTO et. al., 2005). Segundo Moraes et al. (2006), além da higiene e resfriamento, a qualidade do leite *in natura* é influenciada por fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação, potencial genético do rebanho e fatores relacionados à obtenção e armazenagem do leite.

Segundo Zanela et al. (2006), uma das causas que exerce influência extremamente prejudicial para a composição como também para as características físico-químicas do leite é a mastite bovina (clínica ou subclínica), acompanhada por um aumento na contagem de células somáticas (CCS) e no número de unidades formadoras de colônias (UFC). E, segundo Machado et al. (2000), a composição do leite, a atividade enzimática, o tempo de coagulação, a produtividade e a qualidade do leite e dos seus derivados, são influenciados negativamente com o aumento das UFC e das CCS.

Quanto ao aspecto de saúde pública, a mastite bovina merece importância devido ao risco de transmissão dos microorganismos patogênicos ao homem pelo do leite e seus derivados quando estes se apresentam contaminados (CAMPOS et al., 2006). Com a alteração na composição do leite, ocorrem modificações na permeabilidade dos vasos sanguíneos da glândula mamária e, conseqüentemente, alteração na habilidade da síntese do tecido secretor, permitindo ação direta dos patógenos ou de enzimas sobre os componentes já

secretados no interior da glândula (MACHADO et al., 2000). A mastite, juntamente com as alterações que ocorrem no produto, resulta em prejuízos econômicos, levando a perdas de 10 a 26% do total da produção, de acordo com grau de intensidade do processo inflamatório, da prevalência da doença, da patogenicidade do agente infeccioso e do estágio de lactação (STAMFORD et al., 2006).

Em virtude da importância de se conhecer a qualidade microbiológica de um dos alimentos mais importantes e fundamentais para a população humana, este trabalho teve como objetivos avaliar a qualidade do leite quando armazenado em resfriador de expansão e em resfriador a tarro, através da determinação das UFC, isolamento e identificação dos microrganismos, bem como a avaliação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos)

Material e métodos

O trabalho foi desenvolvido em propriedades produtoras de leite bovino de pequeno e médio porte, localizadas na região Oeste de Santa Catarina. Foi analisado leite proveniente de 35 propriedades rurais e o período de desenvolvimento das atividades foi de Fevereiro á Junho de 2008. Foi coletada uma única amostra de leite em cada propriedade. Do total das amostras, 20 eram provenientes de propriedades em que o leite era armazenado em resfriador de expansão e 15 amostras de resfriador a tarro.

Para a realização da coleta, primeiramente o leite foi homogenizado por 5 minutos e, com auxílio de uma pipeta foram coletadas cerca de 10 ml de leite, sendo esse, depositado em frascos estéreis previamente identificados e acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável para posterior encaminhamento ao Laboratório de Microbiologia da UNOESC – Xanxerê.

No laboratório, as amostras foram novamente homogeneizadas, e com auxílio de pipetador e ponteira estéril, foram retirados 100µl da amostra para realização de diluições decimais das amostras de 10^0 a 10^4 . Posteriormente, foram retirados 10µl das diluições e semeados em meio *Plate Counter Agar* (PCA), com incubação por 48 horas em estufa de bacteriologia a 37 °C, para posterior realização das contagens. O leite *in natura* foi ainda semeado em Ágar Sangue (AS) e Ágar MacConkey (MC) para identificação bacteriana e em Agar Sabouraud para o isolamento de leveduras.

Passado o período de incubação, foi realizada a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) que cresceram no meio PCA e a identificação das colônias bacterianas crescidas em AS, MC e ASab conforme suas características morfológicas, bioquímicas e tintoriais (QUINN et al.,1999). Após a identificação das colônias, estas foram repicadas com auxílio de uma alça de platina em caldo Mueller Hinton (MH) para determinação do perfil de sensibilidade aos antimicrobianos pelo método de difusão em disco Kirb-Bauer modificado. No presente trabalho foram testados os seguintes agentes antimicrobianos: amoxicilina, trimetoprim, cefalexina, gentamicina, tetraciclina, florfenicol, ceftiofur, norfloxacin, doxiciclina, neomicina, ampicilina e penicilina.

Resultados e Discussões

Os resultados preliminares do presente trabalho nos revelaram que das 35 amostras analisadas, os principais microrganismos isolados em amostras de leite

proveniente de resfriadores de expansão foram bactérias do gênero *Staphylococcus* 53%, *Streptococcus* 22%, *Escherichia coli* 18% e outros microrganismos 8%; e das amostras armazenadas em resfriadores de imersão a tarro foram isolados: *Staphylococcus* 42%, *Streptococcus* 24%, *Escherichia coli* 28% e, outros microrganismos 6%. Em ambas as formas de armazenamento, os microrganismos isolados foram os mesmos descritos na literatura com destaque para os gêneros *Staphylococcus* e *Streptococcus*, sendo esses os principais causadores da mastite e, com relação às enterobactérias, essas podem ser provenientes de ambientes ou equipamentos contaminados, durante a ordenha ou pela manipulação do produto.

No que diz respeito à determinação do perfil de sensibilidade aos agentes antimicrobianos, os que apresentaram maior índice de resistência foram: amoxicilina 45%, neomicina 43%, penicilina 39%, ampicilina 33%, cefalexina e norfloxacina 27% e, os de maior sensibilidade: florfenicol 84%, ceftiofur 72%, doxicilina 68% e gentamicina 63%, sendo tais resultados provenientes de amostras de leite armazenadas em resfriadores de expansão. Com relação às amostras conservadas em resfriadores a tarro, os antimicrobianos que apresentaram maiores índices de resistência foram ampicilina 60%, penicilina 55%, trimetoprim, norfloxacina e amoxicilina 50% e neomicina 35% e entre os com maior sensibilidade destacaram-se florfenicol 65%, gentamicina 60%, ceftiofur 55%, norfloxacina 40% e doxicilina 35%. A partir da realização do perfil de sensibilidade fica evidente que, muitos dos antibióticos comumente utilizados para tratamento de mastites apresentam altos índices de resistência, o que explica a alta ineficiência no tratamento e deixa clara a importância da realização do antibiograma antes da adoção de qualquer tratamento clínico.

Segundo Santos et al. (2006), o problema de resistência dos microrganismos ocorre devido ao uso acentuado, indiscriminado e inadequado dos antimicrobianos e, apesar dos altos custos com o tratamento, a presença de resíduos de antibióticos no leite é um problema de saúde pública.

Com relação ao isolamento de leveduras, 59% das amostras conservadas em resfriador a tarro apresentaram-se contaminadas, enquanto que, das amostras conservadas em resfriador de expansão a porcentagem de contaminação foi de 20%. E, conforme Moraes et al. (2005), as mastites causadas por leveduras têm aumentado de maneira significativa, pelo uso intensivo de antimicrobianos devido a não obtenção do sucesso nos tratamentos e por falhas nos diagnósticos dos microrganismos causadores da mastite bovina.

Além dos fatores citados acima, outro fator analisado no trabalho e de extrema importância para a manutenção da composição e da qualidade do leite são as unidades formadoras de colônias (UFC) que, segundo Moraes et al. (2005), as contagens superiores a 10^3 células por mililitro de leite cru podem ser responsáveis por defeitos na qualidade do leite pasteurizado. Conforme a análise dos dados foi possível verificar que, nas amostras provenientes de resfriadores a tarro ocorreu um número de UFC maior que o observado em resfriadores de expansão. Isso nos leva a deduzir que, o armazenamento do leite em resfriadores a tarro de forma geral, apresenta diminuição da qualidade e alteração na composição do produto final.

Conclusões

Considerando a importância do leite e seus derivados, tanto para a alimentação humana quanto para a economia mundial, observa-se principalmente nos últimos anos um aumento gradativo das exigências por parte do consumidor dos mercados nacional e internacional, visando à produção e a comercialização de um produto de melhor qualidade para a saúde e bem estar do consumidor.

De uma forma geral, qualquer alimento, seja ele de origem animal ou vegetal está sujeito a contaminação por diferentes agentes etiológicos podendo assim, acarretar na manifestação de doenças por ação dos microrganismos patogênicos ou pelas toxinas produzidas pelos mesmos.

Em decorrência disso, a realização de exames microbiológicos dos diferentes tipos de alimentos demonstra de forma prática as condições de higiene relacionadas à produção, armazenamento, transporte e manuseio do produto minimizando assim, a ocorrência de possíveis enfermidades transmitidas pelos alimentos.

No decorrer do trabalho, os principais microrganismos isolados formam bactérias do gênero *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp e enterobactérias, sendo essas encontradas principalmente em amostras provenientes de leite armazenado em resfriadores a tarro. No que diz respeito aos testes de antibiogramas, observou-se um alto índice de resistentes a maioria dos antibióticos testados.

Referências

CAMPOS, R.; GONZALEZ, F.; COLDEBELLA, A.; CARDOSO, F. **Indicadores do ambiente ruminal e suas relações com a composição do leite e células somáticas em diferentes períodos da primeira fase da lactação em vacas de alta produção.** Ciência Rural, Santa Maria, v.36, n.2, p.525-530, mar-abr, 2006.

MACHADO, F. P.; PEREIRA, A. R., SARRÍES, G. A. **Composição do Leite de Tanques de Rebanhos Brasileiros Distribuídos Segundo sua Contagem de Células Somáticas.** Rev. Brás.Zootec.vol.29 n.6 Viçosa, nov/dec. 2000.

MORAES, C. R.; FUENTEFRIA, A. M.; ZAFARI, C. B.; ROCHA, J. P. A. **Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.** Acta Scientiae Veterinariae. 33(3): p.259-264, jan/mai 2005.

MULLER, E. E. **Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. Anais II Sul-Leite: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil.** Toledo. p.206-217, out 2002.

PEIXOTO, A. A.; OLIVEIRA, C. A.; OLIVAL, A. A. **Aplicação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle em propriedade leiteira tipo A.** Ciência Rural, vol.35, n.6, Santa Maria, nov/dez 2005.

QUINN, P.J.; CARTER, M.E.; MARKEY, B. et al. Clinical veterinary microbiology. London: Wolfe, 648p. 1994.

RIBEIRO, M. E. R.; STUMPF J. W.; BUSS, H.. In: BITENCOURT, D.; PEGORARO, L. M. C.; GOMES, J. F. **Sistemas de pecuária de leite: uma visão**

na região de Clima Temperado. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.175-195, 2000.

SANTOS, M. V.; OLIVEIRA, A. C. F; Lima, Y. V. R.; BOTARO, B. G. **Remoção de células somáticas pela microfiltração não afeta a composição e a proteólise do leite.** Ciência Rural, vol.36,n.5, Santa Maria, Set/Out. 2006.

STAMFORD, T.L.M.;, SILVA, C.G.M.; MOTA, R.A.; NETO, A.C..**Enterotoxigenicidade de *staphylococcus spp.*** Isolados de leite *in natura*. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 26(1). P.41-45, jan.-mar.2006.

ZANELLA, M.B.; FISCHER, V.; RIBEIRO, M.R.; JUNIOR, W.S.; ZANELA, C.; MARQUES, L.T.; MARTINS, P.R.G. **Qualidade do leite em sistemas de produção na região Sul. Pesquisa agropecuária brasileira.** Brasília, v.41, n.1, p.153-159, jan.2006.