

INCIDÊNCIA DE MICRORGANISMOS NO LEITE DE BOVINOS PANTANEIROS

Dirce F. Luz^{1*}, Tamara F. da Silva², Sirlei F. Marciel³, Marcus Vinicius.M. Oliveira⁴

1. Professora da UFMS - CPAQ do curso de Ciências biológicas
2. Graduado pela UFMS, do curso de Ciências biológicas, CPAQ
3. Estudante da UFMS, do curso de Ciências biológicas, CPAQ
4. Professor da UEMS - Curso de Zootecnia, em Aquidauana

Resumo

Os bovinos pantaneiros foram trazidos para o Pantanal brasileiro, durante a colonização pelos espanhóis e portugueses, trazendo consigo os genes de seus ancestrais taurinos. A seleção natural tornou esse gado resistente a parasitas, e adaptado às condições climáticas do Pantanal. Tendo em vista que o leite é um dos alimentos mais nobres, a quantificação microbiana é importante, por provocar alterações nos teores de gordura, açúcar e proteína.

Este estudo objetivou avaliar a presença de microrganismos no leite cru recém-ordenhado, de vacas Pantaneiras, por meio da Contagem Bacteriana Total (CBT), Número Mais Provável de Coliformes (NMP), incidência de *Staphylococcus aureus* e a *Salmonella* ssp. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Leite da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), CPAQ.

Os resultados indicaram que o leite das vacas da raça Pantaneira possui uma baixa carga microbiana, sendo, portanto, recomendado seu consumo para seres humanos.

Palavras-chave: Raça localmente adaptada, qualidade, leite cru.

Apoio financeiro: UFMS, CNPq e FUNDECT

Introdução

O bovino Pantaneiro (*Bos taurus taurus*) também é conhecido como Tucura, Cuiabano ou Taquati, é considerado um grupo genético específico do Pantanal brasileiro (MAZZA et al. 1992) e designado como raça localmente adaptada. Os animais da raça Pantaneira são oriundos de bovinos europeus trazidos da península ibérica, no início do século XVI.

Segundo Rufino Junior et al. (2014) os bovinos Pantaneiros reduziram seu tamanho corpóreo para se adaptarem as condições ambientais inóspitas do Pantanal. A raça apresenta resistência a parasitas, rusticidade e prolificidade e ainda é caracterizada por possuir dupla aptidão, tanto para carne quanto para o leite, com alta variabilidade genética entre os indivíduos.

Atualmente, o gado ainda representa uma das principais fontes econômicas para o Brasil, sendo o leite um dos seis produtos mais importantes da agropecuária, e essencial para o suprimento de alimentos e na geração de emprego e renda para a população brasileira (EMBRAPA, 2016).

Conforme Schuster et al. (2008), um dos grandes problemas é que o leite *in natura* é consumido de forma inadequada pelas pessoas sem qualquer inspeção sanitária. Outro fator importante apontado por Catão e Ceballos (2001) é que no Brasil o processo de obtenção, armazenamento e transporte do leite ocorrem em condições de higiene deficientes, elevando assim a quantidade de microrganismos.

Dentre os microrganismos, como referência da qualidade microbiológica, os coliformes têm sido amplamente utilizados. Os coliformes termotolerantes caracterizam um grupo de microrganismos com alta incidência de *Escherichia coli*. Essa bactéria é considerada o melhor indicador de contaminação de origem fecal; e além de promoverem prejuízos econômicos às indústrias, por utilizarem a matéria-prima, reduzem a qualidade de seus derivados e sua presença no leite elevam as incidências de patógenos, como a *Salmonella* (Maciel et al, 2008) que põem em risco a saúde do consumidor, e *Staphylococcus* podendo causar infecções graves (MARTH, 1969; ÁVILA, GALLO 1996).

Nesse contexto, o presente trabalho buscou avaliar a qualidade microbiológica do leite de vacas da raça Pantaneira, por meio da Contagem Bacteriana Total (CBT), Número Mais Provável de Coliformes (NMP), *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* ssp.

Metodologia

As amostras de leite foram obtidas do Núcleo de Conservação dos Bovinos Pantaneiros de Aquidauana (NUBOPAN) pertencente à Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), em Aquidauana-MS, região do Alto Pantanal Sul-Mato-Grossense.

A ordenha dos animais foi realizada manualmente, as amostras de leite foram acondicionadas em frascos plásticos estéreis, identificadas e transportadas em caixas de isopor com gelo para o Laboratório de Microbiologia do leite (MICROLAB) da UFMS, Campus de Aquidauana. Foram analisadas 120 amostras de leite, coletadas no período de verão do ano de 2017, com o intuito de quantificar a CBT e verificar a presença de Coliformes Totais e Termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp.

Para a Contagem Bacteriana Total (CBT) preparou-se diluições decimais a partir da amostra de leite original. Em seguida foram adicionados 1mL das respectivas diluições em Placas de Petri (15x100) esterilizadas à 15 a 17mL de ágar-padrão para contagem, fundido, resfriado a 45°C e homogeneizado, conforme preconizado em (APHA, 2004). A contagem das Unidades Formadoras de Colônia/UFC foram realizadas em contador de colônias, modelo CP 600 Plus – Phoenix.

Para se avaliar o Número Mais Provável (NMP) de Coliformes a 45°C, primeiramente se fez necessário uma análise dos coliformes a 35° ± 1°C.(APHA, 2004). Assim, foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, com 3 tubos por diluição, para determinação do NMP de Coliformes Totais por mL (CT/mL) de leite. O meio utilizado foi o Caldo Lactosado Verde Brilhante e Bile à 2% (VBB), com incubação dos tubos a 35°C durante 24 a 48 horas. Em seguida, os tubos contendo o VBB positivos foram replicados para tubos com caldo *Escherichia coli* suplementado com 4 metil umbelliferil β-D glucoronídeo (EC-MUG), utilizado para determinar de forma simultânea, a presença de CT e *Escherichia coli*.

Para a quantificação de *Staphylococcus coagulase* positivo utilizou-se o método de contagem “Spread-plate” em Ágar Baird Parker (BP) com telurito de potássio a 3,5%. As placas foram incubadas a 37°C, por 24-48 horas (APHA, 1992). Nas placas com colônias típicas realizou-se provas bioquímicas catalase e coloração de Gram. Foram consideradas como *Staphylococcus aureus* as culturas Gram-positivas, com morfologia típica (cocos) catalase positivas e coagulase positivas (reação 3+ e 4+).

Já a detecção, isolamento e identificação de *Salmonella* ssp foi realizada segundo Andrews et al. (1998). Para tanto, no pré-enriquecimento, foram transferidos 1 mL de leite para 9 mL do caldo Lactosado, incubando-se a 35°C por 24 horas. Para o enriquecimento seletivo foi utilizado o caldo Tetrionato e o caldo Selenito-cistina e, para o isolamento, foi utilizado o Agar Bismuto Sulfito (BSA), Agar Verde Brilhante (BGA) e Agar *Salmonella* - *Shigella* (SSA). Em seguida colônias com características do gênero *Salmonella* ssp foram transferidas para os meios Ágar Tríplice Açúcar-ferro para caracterização bioquímica, de acordo com APHA, (1992).

Resultados e Discussão

Na Tabela 01 podem ser observadas as médias mensais dos resultados obtidos neste ensaio para CBT, Coliformes Totais e Termotolerantes, com médias de 18.450, 48 e 0, respectivamente.

Segundo Brasil (2011), a Instrução Normativa nº 62 publicada em dezembro de 2011 pelo MAPA, referendou novos parâmetros para o leite cru refrigerado, visando melhorar a qualidade na comercialização; sendo os valores máximos permitidos para CBT de 100.000 UFC/mL, não sendo mencionado nessa respectiva normativa às informações acerca dos Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes.

Tabela – 1 Médias da Contagem Bacteriana Total (CBT), Coliformes Totais e Termotolerantes, expressos em UFC/ml e NMP/mL respectivamente, em amostras de leite cru recém ordenhado de vacas da raça Pantaneira.

Mês	CBT	Coliformes – NMP/mL	
		Totais	Termotolerantes
1	18.000	45	Ausente
2	20.000	33	Ausente
3	27.700	30	Ausente
4	12.500	32	Ausente
5	22.000	75	Ausente
6	10.500	70	Ausente
Média	18.450	48	Ausente

UFC: Unidade Formadora de Colônia; NMP: Número mais provável

Todavia, Moura et al. (1999) ressalta que caso o leite cru permaneça armazenado em temperatura ambiente, não sendo, portanto, imediatamente refrigerado após a ordenha, a sua carga microbiana eleva-se significativamente, com conseqüente deterioração do leite por acidificação.

Desta forma, os baixos valores de CBT e coliformes observados neste trabalho, refletem o a ausência de mastite das vacas Pantaneiras, o correto manejo pré-dipping efetuado durante a ordenha, a assepsia do ordenhador, a adequada higienização dos utensílios utilizados na ordenha e no pequeno tempo, inferior a 4 horas, decorrido entre a coleta de amostra na sala de ordenha e a respectiva análise laboratorial.

De acordo com o estudo realizado por Farias et al. (2014), sobre qualidade microbiológica do leite cru refrigerado, na região de Uberlândia, MG, a CBT foi de 2.450.000 UFC/mL, e, portanto, foi acima dos limites estipulados pela IN/62. Já os valores dos coliformes totais foram maiores que 100 NMP/mL e dos coliformes termotolerantes igual a 7 NMP/mL, sendo todos os parâmetros superiores ao verificados neste ensaio.

Resultados superiores também foram observados por Maciel et al. (2008), onde todas as amostras de leite cru refrigerado estavam contaminadas com coliformes a 35°C e 45°C, em números que variaram de 1.500-240.000 e 1.500-93.000 NMP/mL, respectivamente.

Nenhuma amostra de leite, oriundo das vacas Pantaneiras, foi detectada a presença da bactéria *Staphylococcus aureus*, indicando que os animais estavam livres de mastite e que os procedimentos higiênicos-sanitários preventivos do manejo pré-dipping realizados durante a ordenha foram eficazes para eliminar essa bactéria, considerada uma das mais comuns no ambiente.

Neste ensaio, foi possível observar que os três meios, os caldos Lactosado, Tetrionato e Selenito-

Cistinas utilizados para o enriquecimento seletivo, permitiram o crescimento de bactérias não pertencentes ao gênero *Salmonella* spp.

Conclusões

O leite oriundo de vacas multíparas da raça Pantaneira apresenta baixa carga microbiana e ausência de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp., sendo portanto, ideal para o consumo Humano.

Referências bibliográficas

- Andrews, W. H., June, G. A., Sherrod, P., Hammack, T.S.; Amaguana, R.M. **Salmonella**. In: Food And Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual. 8.ed., Gaithersburg / AOAC International, 1998. p.501-520.
- APHA - American Public Health Association. **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**. 17th. Ed. Washington, D.C. 573p. 2004.
- APHA. American Public Health Association. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 3ed. Washington: APHA, p. 325-369, 1992.
- Ávila, C. R., Gallo, C. R. **Pesquisa de Salmonella spp. em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo "minas frescal" comercializados no município de Piracicaba / SP**. Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial - ESALQ/USP, Piracicaba / São Paulo, v.53, n.1, p.159-163, 1996.
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 62, de 20 de setembro de 2011**. Diário Oficial da União, 30 dez. 2011. Seção 1, p.6.
- Catão, R. M. R., Ceballos, B. S. O. **Listeria spp., coliformes totais e fecais e e. coli no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil)**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas / SP, v.21, n.3, p.281-287, 2001.
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – **Gado do Leite – Importância Econômica**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/gado-de-leite>, Acesso em 3 de Março de 2019.
- Farias, C. P.; Croisfelt, F. M.; Baffi, M. A. **Qualidade microbiológica do leite cru in natura, leite cru refrigerado e leite pasteurizado comercializados na região de Uberlândia, MG**. Revista Verde, v 9, n.4, p.250 - 254, 2014
- Maciel, J.; Carvalho, E. A.; Santos, L. S.; Araújo, J. B.; Nunes, V. S. **Qualidade microbiológica de leite cru comercializado em Itapetinga-BA**. Revista Brasileira Saúde Produção Animal, v.9, n.3, p.443-448, 2008.
- Marth, E.H. **Salmonellae and salmonellosis associated with milk and milk products: a review**. Journal of Dairy Science, v.52, n.3, p.283-315, 1969.
- Mazza, M.C.M., Mazza, C.A.; Sereno, J.R.B.; Santos, S.A.L.; Mariante, A.S. **Phenotypical Characterization Of Pantaneiro Cattle In Brasil**. Archivos De Zootecnia, V.41, N.154, P.477-484, 1992.
- Moura, C. J.; Abreu, L. R.; Furtado, M. M.; Rossi, D. A.; Carvalho, E. P.; Pinto, S. M. **Efeito do resfriamento e inoculação de Pseudomonas fluorescens sobre a proteólise e lipólise do leite**. Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, v.57, n.327, p.17-13, 1999.
- Rufino Junior, J.; Oliveira, M.V.M.; Carvalho, D.M.C.; Teodoro, A.L.; Vargas Jr, F.M.; Goes, R.H.T.B.; Costa, L.G. **Potencial produtivo de novilhas da raça pantaneira alimentadas com fenos de baixa qualidade**. Semina: Ciências Agrárias, v.35, n.4, (Supl. 1), 2014.
- Shinohara, N. K. S.; Barros, V. B.; Jimenez, S. M. C.; Machado, E. C. L.; Dutra, R. A. F.; Filho, J. L. L. **Samonella spp., importante agente patógeno veiculado em alimentos**. Revista Ciências & Saúde Coletiva, v. 13, n. 5, p. 1675-1683. 2008.