

# **ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO GÊNERO *ENTEROCOCCUS* DE UNIDADES DE PRODUÇÃO DE LEITE DO MUNICÍPIO DE CANGUÇU-RS E SUA RELAÇÃO COM O TIPO DE ORDENHA REALIZADA**

**BÁRBARA PONZILACQUA<sup>1</sup>; JOÃO LUÍZ ZANI<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>*Graduanda em Medicina Veterinária UFPel – bponzilacqua@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Professor do Departamento de Veterinária Preventiva UFPel – jluizzani@ig.com.br*

## **1. INTRODUÇÃO**

A produção de leite está entre as atividades de maior importância econômica no Brasil. É praticada em todo o território nacional, em mais de 1,3 milhões de propriedades rurais (CEPEA, 2011). A diferença de renda entre os produtores depende da qualidade e do volume de leite produzido.

É um alimento complexo que fornece diversos nutrientes e por isso assume papel importante na alimentação humana. É possível se ter uma grande variedade de processamentos industriais, com diversos produtos beneficiados tais como iogurtes e queijos (JENSEN, 1991).

A qualidade desse leite é, atualmente, um dos temas mais discutidos em todo o mundo, devido a sua importância na alimentação e o interesse na busca por alimentos seguros. O mercado consumidor demanda produtos de qualidade, e o leite cru, da forma como é obtido em grande parte do território nacional não atende essa necessidade (IBGE, 2012). A contaminação bacteriana é um dos principais problemas da indústria de laticínios.

O gênero *Enterococcus* pertence a um grupo de bactérias heterogêneas que inclui mais de 20 espécies diferentes (TEIXEIRA et al., 2007). Os enterococos fazem parte da microflora intestinal dos mamíferos e podem ser encontrados no solo e na água. São bactérias autóctones e uma vez no ambiente são capazes de colonizar diversos nichos em condições hostis, com alta capacidade de contaminar água e alimentos (IVERSEN et al., 2002).

Nas últimas décadas o interesse por esse gênero bacteriano tem aumentado devido algumas características marcantes. São considerados patógenos oportunistas especialmente em hospedeiros imunocomprometidos. Estudos recentes relatam a alta incidência de cepas multirresistentes a antibióticos e termotolerantes, sendo capazes de resistir à pasteurização.

A formação de biofilmes também pode ser considerada como um fator de virulência desses micro-organismos, por ser uma fonte de contaminação permanente em superfícies abióticas como, por exemplo, equipamentos de ordenha (MEDEIROS, 2011). As boas práticas de higiene sanitárias tanto do rebanho quanto dos objetos utilizados na produção leiteira podem ajudar a eliminar essa fonte de infecção.

O presente trabalho teve por objetivo isolar e identificar cepas bacterianas do gênero *Enterococcus*, e posteriormente relacionar a presença desses micro-organismos com a forma de realização da ordenha (mecanizada ou não).

## 2. METODOLOGIA

O estudo foi realizado com amostras de leite de 54 unidades de produção leiteira (UPL) localizadas no interior do município de Canguçu-RS. As amostras foram coletadas em tubos *falcon* estéreis, com auxílio de um coletador de cabo longo, diretamente dos tanques de expansão ou imersão, de acordo com a propriedade, após homogeneização. Devidamente identificadas as amostras foram encaminhadas até o Laboratório de Bacteriologia e Saúde Populacional da Faculdade de Veterinária/UFPEL em caixas isotérmicas com gelo.

No laboratório as amostras foram submetidas a duas diluições decimais, em solução salina 0,85%. Após a diluição foram semeados 100  $\mu$ L, pela técnica de espalhamento com alça de *Drigalski*, em placas de Petri contendo meio de Slanetz and Bartley para seleção de *Enterococcus* provenientes de alimentos. Depois de 48h de incubação a 44°C as colônias rosa ou vermelho escuro com halos esbranquiçados foram repicadas para meio ágar sangue com 5% de sangue ovino desfibrinado e após 24h de incubação a 37°C foi realizada a caracterização das colônias por meio de testes bioquímicos segundo COLMAN & BALL (1984).

Realizaram-se questionários epidemiológicos que englobavam questões sobre produção e manejo. Os dados sobre a mecanização das propriedades e o isolamento de espécies de *Enterococcus* foram agrupados e relacionados entre si. Para análise estatística fez-se o teste de Qui-Quadrado utilizando-se o software BioEstat versão 5.3.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 54 unidades de produção leiteira (UPL) analisadas, 61,11% apresentaram resultado positivo para o isolamento do gênero *Enterococcus*, sendo 32 de UPLs que não realizavam ordenha mecanizada e 22 UPLs que realizavam ordenha mecanizada. Das amostras positivas identificou-se 15 *E. durans*, 14 *E. avium*, 7 *E. faecium* e 12 *E. faecalis*, como representado na Figura 1.

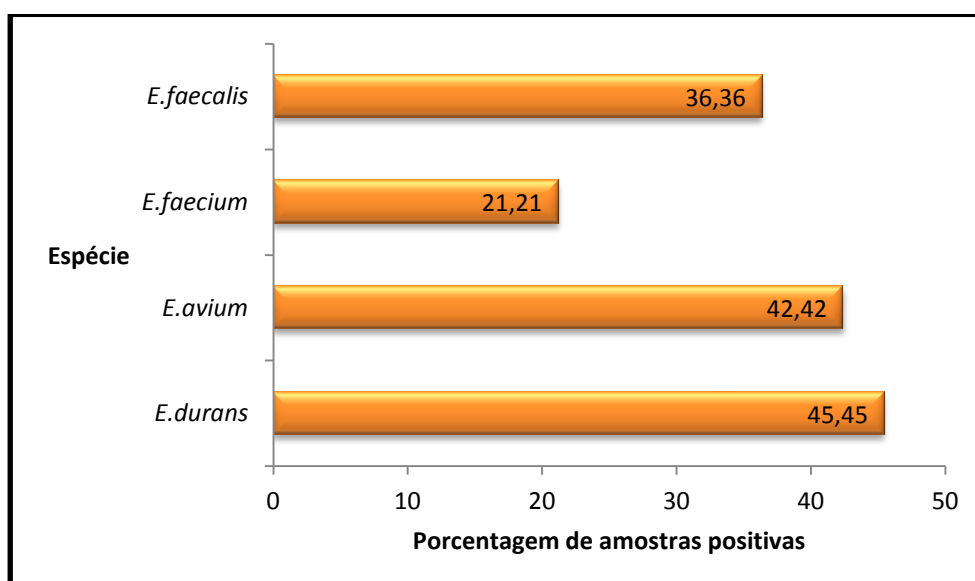


Figura 1. Porcentagem de espécies do gênero *Enterococcus* isoladas de leite bovino de UPLs no município de Canguçu, RS.

De algumas amostras isolaram-se duas ou mais diferentes espécies bacterianas. Estudos realizados por Tebaldi et al. (2008) isolaram *Enterococcus* de leite cru provenientes de tanques de refrigeração sendo metade das amostras analisadas positivas para o gênero, concordando com o presente estudo. Segundo o mesmo autor a alta porcentagem desses isolados indica uma fonte de contaminação múltipla como sujidades presentes no úbere, limpeza inadequada dos equipamentos de ordenha e dos tanques de estocagem. Na análise comparativa entre a mecanização das propriedades em Canguçu e a presença de *Enterococcus*, observou-se diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ).

Esses micro-organismos podem chegar ao leite indiretamente através de fontes contaminadas como a água utilizada no processamento, os equipamentos de ordenha e tanques de estocagem (FRACALANZZA, 2007). Segundo Gelsomino et al. (2002) os *Enterococcus* podem sobreviver e se multiplicar em condições adversas de temperatura, até mesmo sobre refrigeração, em equipamentos e tanques de estocagem de laticínios, possibilitando assim a contaminação desses produtos. Os isolados podem ser provenientes da contaminação prévia de ambientes hostis (GEORGE et al., 2005) e não apenas da contaminação fecal no momento da ordenha.

Bactérias do gênero *Enterococcus* são grandes potenciais formadores de biofilme (MARINHO, 2010), grupos de células microbianas aderidas em uma superfície biótica ou abiótica. Os biofilmes podem ser formados por uma única espécie bacteriana ou por várias espécies (SINGH et al., 2006). Essa característica aliada à resistência encontrada no gênero é um fator positivo para contaminação do leite através dos equipamentos utilizados durante o processo de ordenha e armazenamento.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos no experimento, conclui-se que o leite produzido nas UPLs do município de Canguçu apresentou contaminação por bactérias de gênero *Enterococcus*. As UPLs que fazem ordenha mecanizada apresentaram um número significativamente maior de isolamentos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CENTRO DE ESTUDOS AVANÇADOS EM ECONOMIA APLICADA – CEPEA/USP. **Desenvolvimento metodológico e cálculo do PIB das cadeias produtivas do algodão, cana-de-açúcar, soja, pecuária de corte e leite no Brasil.** Piracicaba, 2011. Disponível em: <[http://www.cepea.esalq.usp.br/pibpec/PIB\\_Cadeias\\_relatorio2009\\_10.pdf](http://www.cepea.esalq.usp.br/pibpec/PIB_Cadeias_relatorio2009_10.pdf)>. Acesso em: 18 jun. 2014.

COLMAN, G. & BALL, L. C. Identification of streptococci in a medical laboratory. **Journal Applied Bacteriology**, v. 57, n.1, p. 01-14, 1984.

FRACALANZZA, S. A. P. **Identificação, resistência a antimicrobianos e caracterização molecular de *Enterococcus* isolados de alimentos.** 158p. Tese (Doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2007.

GELSOMINO, R., VANCANNEYT, M., COGAN, T. M., CONDON, S. & SWINGS, J. Source of enterococci in a farmhouse raw milk cheese. **Applied Environmental Microbiology**, v.68, p.3560–3565, 2002.

GEORGE S., KISHEN A.; SONG K.P. The role of environmental changes on monospecies biofilm formation on root canal wall by *Enterococcus faecalis*. **J. Endod.** v.31, p.867-872, 2005

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa trimestral do leite**. Rio de Janeiro, 2012.

IVERSEN, A., KÜHN, I., FRANKLIN, A. & MÖLBY, R. High prevalence of vancomycin resistant enterococci in Swedish sewage. **Applied and Environmental Microbiology**, V 68, p. 2838 – 2842, 2002.

JENSEN, R.G.; FERRIS, A.M.; LAMMI-KEEFE, C. Symposium: milk fat - composition, function and potential for change. **Journal of Dairy Science**, v.74, p.3228-3243, 1991.

MARINHO, A.R. **Avaliação genotípica e fenotípica de fatores relacionados na formação de biofilme por Enterococcus isolados de alimentos: diferentes condições de crescimento, produção de gelatinase, influência dos genes *fsrABC*, *gelE* e *sprE***. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

MEDEIROS, A.W. **Avaliação dos fatores de virulência e a capacidade de formação de biofilme *in vitro* em isolados alimentares e clínicos de *Enterococcus sp.* e utilização de PCR-RFLP para a identificação de *Enterococcus casseliflavus* e *Enterococcus gallinarum***. 2011. M488a. Dissertação (Mestrado) – UFRGS. Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Porto Alegre, 2011.

SINGH, R.; PAUL, D.; JAIN, R. Biofilms: implications in bioremediation. **Trends in Microbiology**. v. 14, n.9, p. 389-397, 2006.

TEIXEIRA, L. M., CARVALHO, G.M.S & FACKLAM, R. R. *Enterococcus*. P.430 – 442. In: Murray, P. R., Baron, J. E., Jorgensen, J. H., Landry, L. M. & Tenover, M. C. (Eds.) **Manual of Clinical Microbiology**, 9 ed., v.1, **American Society for Microbiology**, Washington, DC, 2007.

TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C.; BOARI, C.A.; PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru provenientes de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v.28, p.753-760, 2008.