Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

DETERMINAÇÃO DA TAXA DO CRESCIMENTO BACTERIANO IN VITRO DE ESPÉCIES DE ESCHERICHIA COLI E STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLADOS NO LAMIVET- UNIJUÍ SOB DIFERENTES TEMPERATURAS[1]

João Carlos Ganacini[2], Daniel Curvello De Mendonça Muller[3], Luciane Ribeiro Viana Martins[4].

[1] Pesquisa Institucional desenvolvida no Departamento de Estudos Agrários, pertencente ao Grupo de Pesquisa em Saúde Animal.
[2] Bolsista PIBIC UNIJUI, aluno do curso de Medicina Veterinária da Unijuí.
[3] Professor Doutor do Departamento de Estudos Agrários da Unijuí.
[4] Professora, Mestre do Departamento de Estudos Agrários da Unijuí.

Introdução:
Pela existência da multiplicidade de tipos de nutrientes e o pH próximo da neutralidade, o leite é um excelente meio de cultura para os microrganismos desde que mantido na temperatura de recém-ordenhado (SALINAS, 2002; KIRCHOF, 1994). As bactérias que contaminam o leite podem ser classificadas de acordo com a faixa ótima de crescimento e multiplicação, as psicrófilas crescem melhor de 0 a 15ºC, as mesófilas entre 20 e 40ºC, como a Escherichia coli, as termófilas entre 44 e 55ºC, ainda temos as psicrotróficas que crescem a baixas temperaturas menos que 7ºC, como por exemplo Staphylococcus aureus e as termodúricas que resistem a pasteurização (FONSECA; SANTOS, 2000). Os patógenos isolados com maior frequência são os Staphylococcus aureus e Escherichia coli, microorganismos que têm como principais fontes de contaminação as mãos dos ordenhadores, equipamentos de ordenha e o ambiente de ordenha e alimentação das vacas (FONSECA; SANTOS, 2000).

A temperatura e o período de armazenamento do leite antes da pasteurização determinam, de maneira seletiva e pronunciada, a intensidade de desenvolvimento das diversas espécies microbianas contaminantes (ARCURI et al, 2006). A refrigeração do leite, imediatamente após a ordenha, visa diminuir a multiplicação de bactérias mesófilas que causam a acidificação. Entretanto, isso favorecerá a microbiota psicrotrófica que estiver presente na matéria-prima, o que poderá provocar diversas alterações no leite e seus derivados (FAGUNDES et al. 2006).
Desta forma, fica evidente a importância de condições higiênicas sanitárias adequadas na obtenção do leite cru e que haja um sistema de refrigeração eficiente visando diminuir a contaminação e controlar a multiplicação bacteriana. E justifica-se assim a preocupação do Ministério da

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

Agricultura em relação à regulamentação as práticas de coleta, refrigeração e transporte do leite através da Instrução Normativa nº 62 de dezembro de 2011.

Os objetivos do projeto foram verificar a taxa crescimento bacteriano de Staphylococcus aureus e Escherichia coli, in vitro a diferentes intervalos de tempo e temperaturas, determinar a temperatura de inibição do crescimento de Staphylococcus aureus e Escherichia coli e obter dados que ajudem nas recomendações técnicas de armazenamento do leite cru, a fim de evitar a sua deterioração.

Metodologia:
O projeto foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Veterinária (LAMIVET) da UNIJUÍ. As bactérias utilizadas foram isoladas a partir de amostras de leite cru enviadas ao laboratório por produtores de leite da região e sendo analisadas conforme critérios de identificação fenotípica descritos por BECTON DICKINSON (1984) e Mc FADIDIN (1980). Para a determinação da taxa de crescimento em diferentes temperaturas e intervalos de tempo, utilizou-se um cultivo de Staphylococcus aureus, isolado de amostra de leite mastítico.

A determinação da taxa de crescimento foi realizada, através da contaminação de amostras de leite estéril e de meio de cultivo líquido, Brain Heart Infusion Agar (BHI), com inóculo de S. aureus na turvação correspondente a 0,5 da escala de McFarland, o que significa que há aproximadamente 1,5 x 10 8 unidades formadoras de colônias (UFC)/mL. Realizou-se o acompanhamento destas amostras e a contagem de microorganismos em intervalos de 0, 2, 4 e 6 horas sob diferentes temperaturas (25°C, 15°C e 10°C).

Para a contagem de microorganismos viáveis presentes nas amostras de leite e nas amostras de meio de cultivo, alíquotas destas, foram semeados a cada novo intervalo de tempo em placas de petry contendo ágar padrão de contagem (PCA), e incubadas por 24horas em estufa bacteriológica a 36°C. Após o término deste período, as colônias foram contadas e analisadas novamente para confirmação do microorganismo.

Resultados e Discussão:
A partir da análise do perfil de crescimento das bactérias testadas nas diferentes temperaturas e intervalos de tempo, pode-se observar que houve um decréscimo na multiplicação bacteriana na faixa de uma casa decimal, quando o cultivo, tanto em leite quanto em BHI, foram alocados em temperaturas mais baixas (10ºC), durante os intervalos de tempo, propostos.

Embora nas condições de nosso estudo não ter sido possível a estabilização dos inóculos a temperaturas menores que 10ºC, com os resultados prévios obtidos é possível intuir que assim como o observado por Mahieu (1985) a refrigeração é um fator que ajuda a limitar a multiplicação bacteriana. Segundo o mesmo autor, o leite com baixo número de microrganismos pode ser

conservado a 4°C durante três dias, sem alteração de sua qualidade. Isso porque a conservação do leite acima de 4ºC permite a multiplicação de microrganismos psicrotrófilos, os quais poderiam influenciar na qualidade do leite devido à produção de enzimas lipolíticas e proteolíticas, que são termoestáveis.

A rápida refrigeração do leite após ordenha é uma das estratégias mais eficazes para garantir a qualidade microbiológica do produto, mas esta prática deve obrigatoriamente vir acompanhada de medidas de controle de mastite, adequados procedimentos de higiene durante a ordenha, limpeza e desinfecção adequadas dos utensílios e equipamentos de ordenha e boa qualidade de água, pois a quantidade de microorganismos presentes no leite cru varia de acordo com a contaminação inicial, tempo e temperatura de armazenamento (CAVALCANTI 2006).

As tentativas de se estabilizar a temperatura durante a execução deste projeto, foram realizadas utilizando-se caixa de isopor e gelo, e monitoramento com um termômetro, porém não se obteve sucesso, pois não se conseguiu estabilizar as temperaturas inferiores às descritas, nos referidos intervalos de tempo. Foram realizadas diversas tentativas de se estabilizar a temperatura utilizando-se do meio acima descrito, porém não se obteve sucesso, o que inviabilizou a continuação do mesmo, não sendo realizado com a amostra de Escherichia coli. Desta forma buscou-se solucionar este problema, futuramente realizaremos esta pesquisa com as duas espécies bacterianas em parceria com o Laboratório de parasitologia da Universidade Federal de Santa Maria, onde existe uma estufa própria para este tipo de cultivo refrigerado.

Conclusão:
Com o presente trabalho foi possível concluir que é necessário o correto resfriamento do leite para diminuir o crescimento de bactérias psicrotróficas como o Staphylococcus aureus, o qual teve seu crescimento inibido quando a sua temperatura de cultivo foi reduzida.

Palavras-chave: mesófilas; psicrotróficas; refrigeração do leite.

Agradecimentos:
Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica financiado pela UNIJUÍ - PIBIC.

Referências Bibliográficas:

ARCURI, E. F.; et al; Qualidade microbiológica do leite refrigerado nas fazendas. Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte, v. 58, n. 3, p. 440-446, jun. 2006.
BECTON DICKINSON and COMPANY. Manual DIFCO. Ed. Detroit, 1984. 10th.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

FAGUNDES, M. G. ; et al. Presença de Pseudomonas spp em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. Ciência Rural, Santa Maria, v. 36, n. 2, p. 568-572, 2006.
KIRCHOF, B. Exploração leiteira para produtores. Guaíba: Agropecuária, 1994.
Mc. FADDIN, J. F. Biochemical tests for identification of medical bacteria. Ed. William & Wilkins Co., Baltimore, 1980.
SALINAS, R. D., Alimentos e nutrição: Introdução a bromatologia. 3 ed. Porto Alegre:Artmed, 2002.
SANTOS, M. V., FONSECA, L. F. L.; 2º Curso Online Sobre Qualidade do Leite. Milk Point, 2000.
CAVALCANTI, E.R.C. Fatores que interferem na qualidade do leite. Capturado em 11 set.2006.
MAHIEU, E. Modificações do leite depois da recolha. In: LUQUET, F.M. O leite: do úbere à fábrica de laticínios. Sintra: Europa-América, 1985. v.1, p.233-284.