

IDENTIFICAÇÃO DE PONTOS DE CONTAMINAÇÃO DE LEITE EM PROPRIEDADES DE AGRICULTURA FAMILIAR NO RIO GRANDE DO SUL



André Vinícius Andrade Bezerra, Emily Marques dos Reis, Carolina Bremm, Márcia Regina Loiko, Alexander Cenci, Fabiana Quoos Mayer, Cristine Cerva

andrevbezerra@gmail.com

LABORATÓRIO DE BIOLOGIA MOLECULAR



INTRODUÇÃO

O leite, devido à sua riqueza nutritiva, constitui um potencial meio de cultura para o desenvolvimento de diversos microrganismos, sendo muitas vezes veículo de transmissão de doenças para o homem. Dentre os microrganismos presentes no leite *in natura* e responsáveis por provocar surtos de infecção alimentar estão: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Campylobacter jejuni*.

OBJETIVO

Detectar a presença de *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp., *E. coli* e *C. jejuni* em amostras de leite de propriedades de agricultura familiar do Estado do Rio Grande do Sul e determinar os fatores de risco associados à contaminação.

MÉTODOS

Foram coletadas 548 amostras de leite em municípios da região Sul e Noroeste do Estado. No momento da coleta os proprietários responderam a um questionário referente a informações sobre o rebanho e práticas de higiene. O DNA foi extraído por fenol-clorofórmio, e a identificação molecular foi realizada por PCR Multiplex (*E. coli*/*Salmonella* spp. e *C. jejuni*/*L. monocytogenes*). Para verificar a viabilidade do DNA, foi realizada PCR para Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH). A análise estatística foi realizada no programa JMP, utilizando o teste qui-quadrado para comparar os índices de contaminação entre as regiões e regressão múltipla para determinar os fatores de risco. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Os métodos utilizados estão descritos na Figura 1.

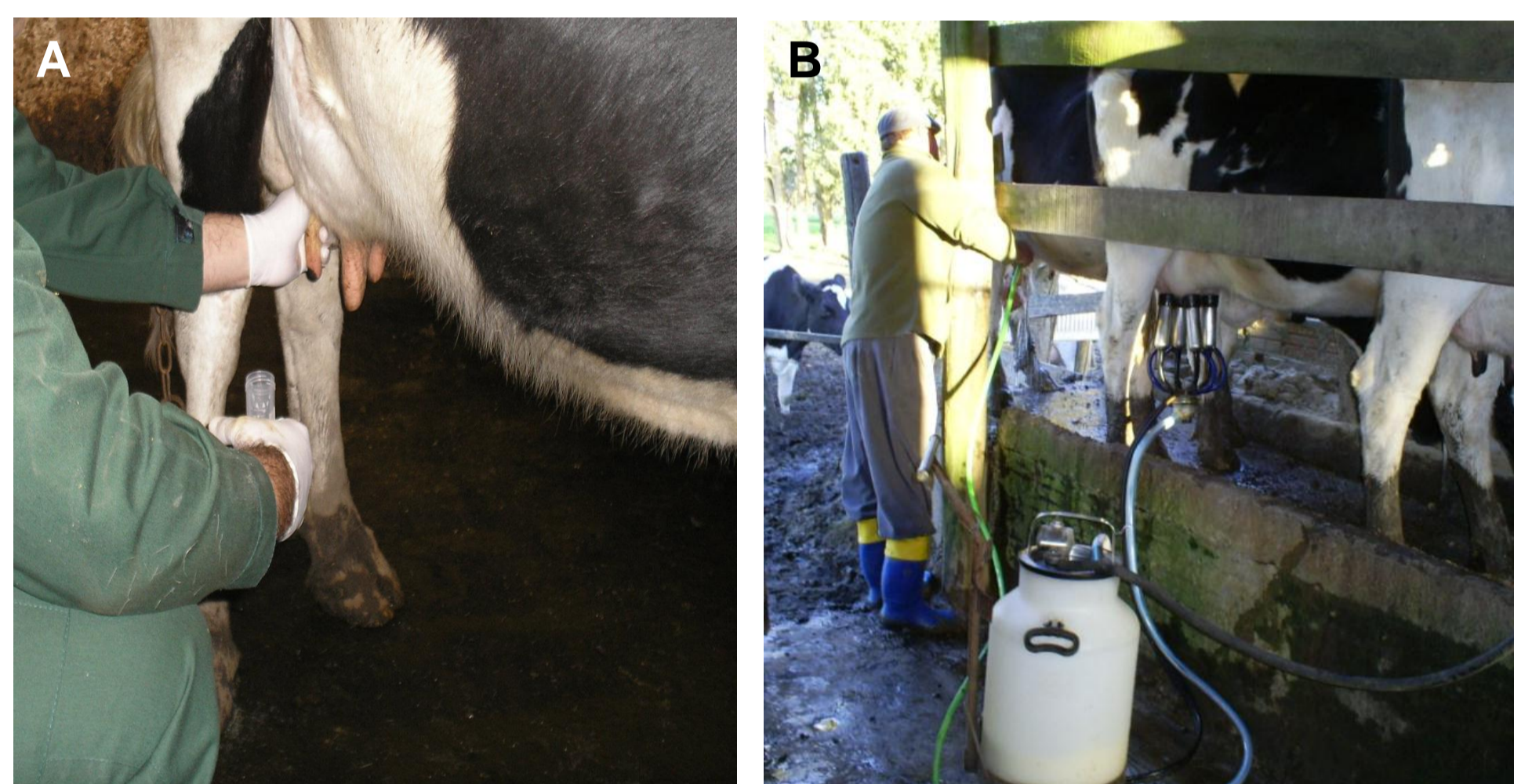
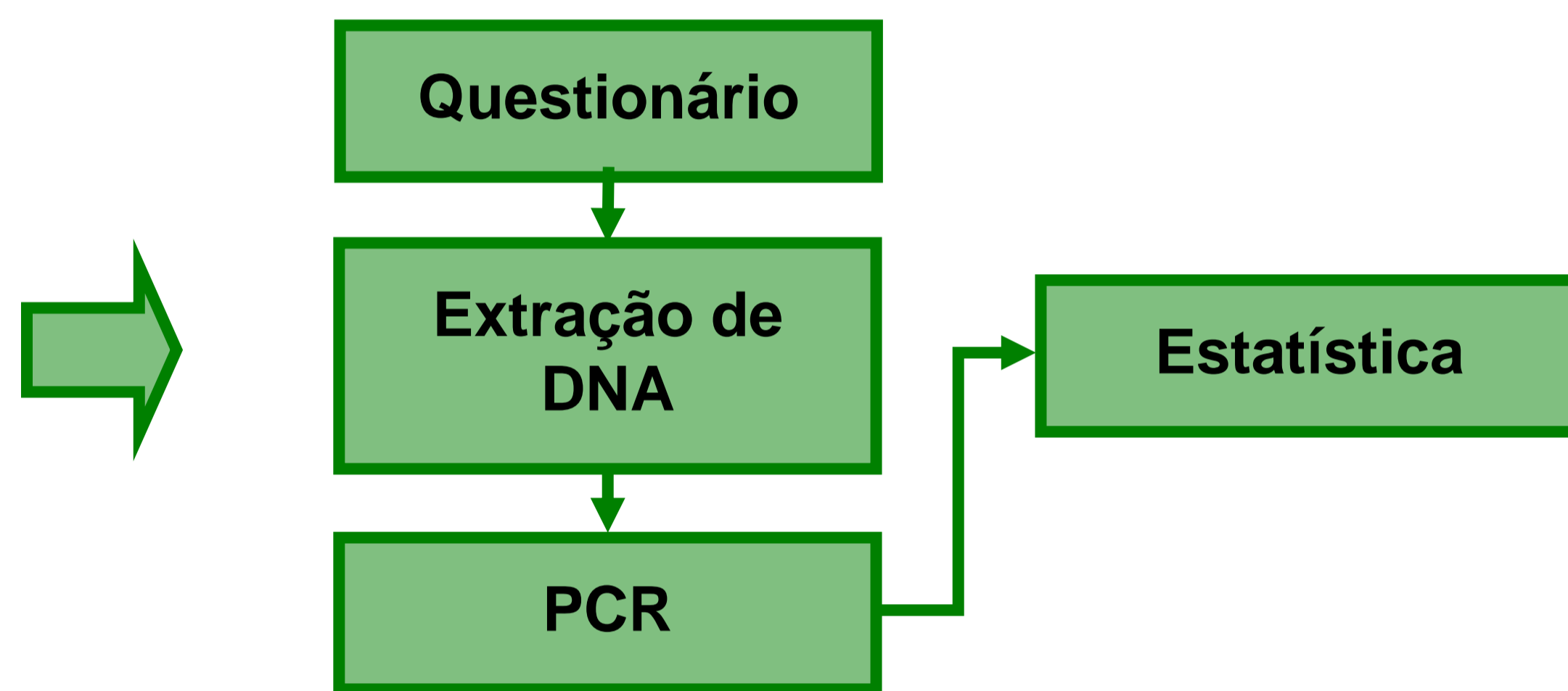


Figura 1: Desenho experimental e métodos utilizados neste estudo. A. Coleta de amostras de leite. B. Ordenha mecânica em condições de pouca higiene.



RESULTADOS

Dentre as amostras coletadas, 25 foram negativas para GAPDH (4,5% de inibição). Das 523 amostras analisadas, 147 foram positivas para a presença de pelo menos um dos patógenos (28,10%, Tabela 1). O índice de contaminação foi maior na região Noroeste (Figura 2). A análise dos fatores de risco para contaminação resultou em duas equações com fatores distintos para as duas regiões (Figura 3).

Tabela 1: Número de amostras contaminadas por cada espécie bacteriana. Foram analisadas no total 523 amostras.

Bactéria	Amostras positivas, n (%)
<i>Salmonella</i> sp. (S)	60 (11,47)
<i>Escherichia coli</i> (E)	20 (3,82)
<i>Campylobacter jejuni</i> (C)	9 (1,72)
<i>Listeria monocytogenes</i> (L)	6 (1,14)
S + E	45 (8,60)
S + C	1 (0,19)
S + L	2 (0,38)
E + C	1 (0,19)
C + L	1 (0,19)
S + E + L	1 (0,19)
S + E + C	1 (0,19)
Total	147 (28,10)

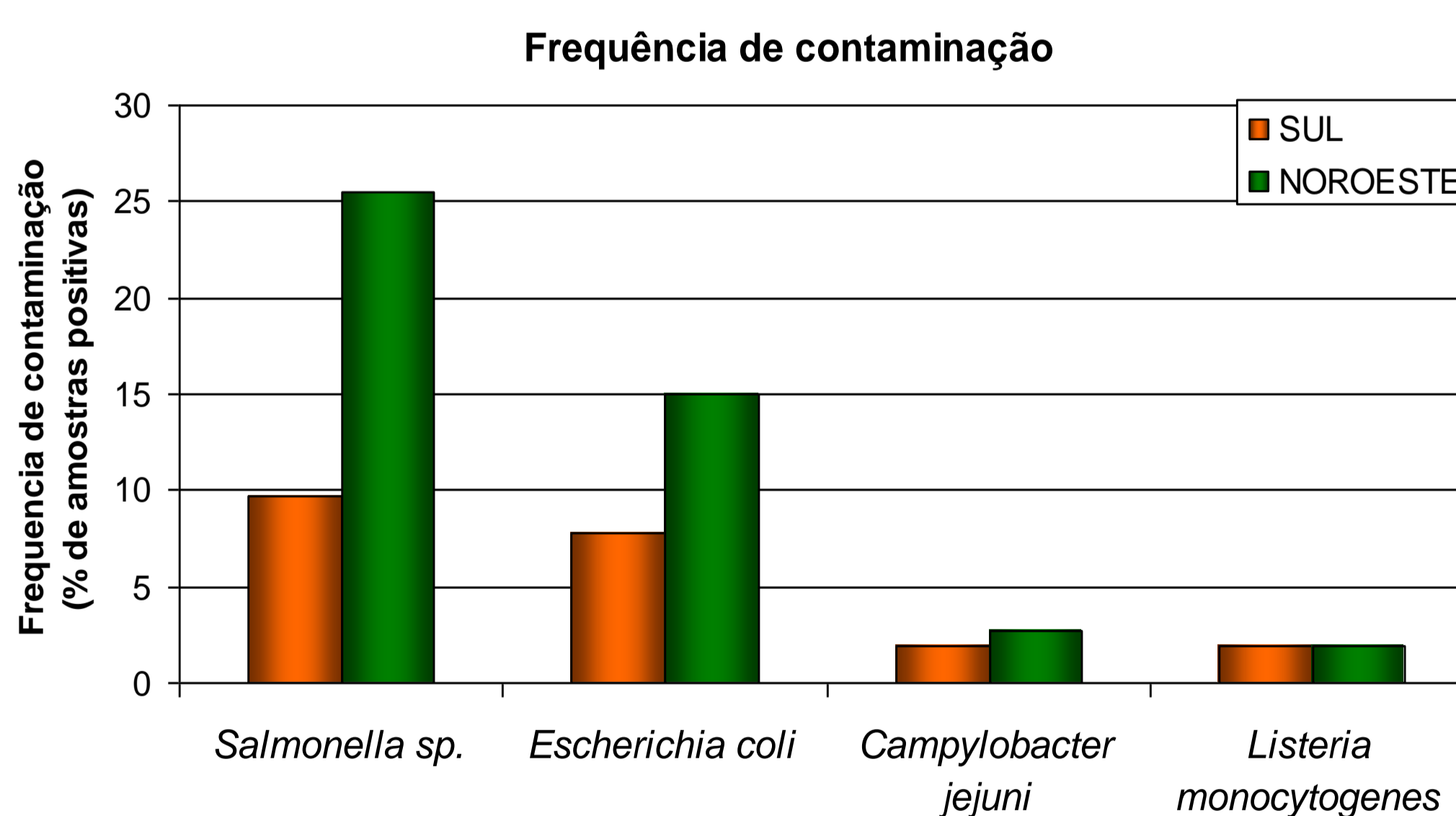


Figura 2: Distribuição das amostras positivas nas duas regiões analisadas. Teste qui-quadrado. $P < 0,05$.

Sul	Noroeste	Fatores de risco Sul	Fatores de risco Noroeste
$Y = 589,5 - 123,5 X - 318,5 X_2 - 201,2 X_3 - 262,1 X_4$ $R^2_{aj} = 0,7196$; $P = 0,0059$ Y = Índice de contaminação; X = Sistema de manejo; X ₂ = Produção de verão; X ₃ = Lavagem do úbere; X ₄ = Área de estoque do leite	$Y = 1409,5 - 1197,2 X$ $R^2_{aj} = 0,4600$ $P < 0,0001$ Y = Índice de contaminação; X = Desinfecção dos tetos antes da ordenha	Sistema de produção semi-intensivo Pouca produção de leite Lavar os tetos apenas dos animais sujos Área de estoque sem revestimento	Não desinfetar os tetos antes da ordenha

Figura 3: Esquerda: Fórmulas com os fatores de risco. Direita: Fatores de risco determinados por região.

CONCLUSÕES

O presente estudo mostrou um panorama dos focos de contaminação bacteriana em leites no Rio Grande do Sul e foi capaz de determinar fatores de risco associados à contaminação. Dentre estes fatores, as práticas de higiene estão criticamente associadas. A partir destes resultados, será possível elaborar procedimentos que visem à redução dos riscos de contaminação do leite em propriedades leiteiras de agricultura familiar.