

COLORAÇÃO DE GRAM PARA AUXILIAR NA ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO LEITE OVINO PRODUZIDO NO OESTE DE SANTA CATARINA¹

Ana Carolina da Rosa Farias², Lenita de Cássia Moura Stefani³, Denise Nunes Araujo⁴, Cássia Regina Nespolo⁵, Amanda Dilda⁶

¹ Vinculado ao projeto “Qualidade do leite ovino e de derivados produzidos na região Sul do Brasil”

² Acadêmica do Curso de Zootecnia – CEO – Bolsista PIBIC/CNPq

³ Orientadora, Departamento de Educação Científica e Tecnológica – CEAD – lenita.stefani@udesc.br

⁴ Co-orientadora, Departamento de Zootecnia – CEO – denise.araujo@udesc.br

⁵ Professora Adjunta, Curso de Biotecnologia, UNIPAMPA, Campus de São Gabriel

⁶ Acadêmica do Curso de Zootecnia – CEO – Bolsista PIBIC/CNPq

A produção de leite ovino é destinada para o consumo humano *in natura*, devido as suas características nutricionais, ou como atividade econômica de importante participação regional, como é o caso de países da Europa, através da produção de queijos e derivados (BIANCHI, 2018). O leite ovino apresenta características peculiares, como alta cremosidade e untuosidade, devido ao teor de gorduras. Outra característica que o difere do leite das demais espécies é a de possuir uma coloração fortemente branca e homogênea e, normalmente, com sabor suave e adocicado. Nutricionalmente seu valor é superior ao leite de outras espécies leiteiras, pois apresenta altos teores de proteína, cálcio, lipídeos, vitaminas essenciais para a vitalidade humana e fonte de diversos minerais. Porém, para que haja um crescimento efetivo deste nicho de mercado é necessário a contabilização de dados estatísticos sobre a sua produção. No Brasil, grande parte dos produtores se caracteriza como pequenos agricultores, que utilizam o produto para consumo ou venda direta para os consumidores, impossibilitando contabilizar esses valores a dados estatísticos reais. Para que o setor produtivo se expanda, uma das medidas a ser adotada é avaliar a qualidade do produto que está sendo produzido, neste intuito, o objetivo deste trabalho é utilizar a coloração de Gram para auxiliar na análise microbiológica do leite ovino produzido no Oeste de Santa Catarina.

A coloração de Gram é um importante teste realizado nos laboratórios de microbiologia, sendo um recurso para auxiliar no diagnóstico de doenças bacterianas (FREITAS & PICOLI, 2007). É considerada como o método bacterioscópico mais importante e mais utilizado atualmente na bacteriologia e sua finalidade é a classificação de microrganismos com base em suas características tintoriais, tamanho, forma e arranjo celular (MAZA, PEZZLO, BARON, 2001; SPICER, 2000; WALTERS, ESTRIDGE, REYNOLDS, 1998).

As bactérias são classificadas basicamente em dois grandes grupos: Gram-positivas e Gram-negativas (OLIVEIRA, 2000; SILVA, 1999; TORTORA, FUNKE, CASE, 2000). No que diz respeito às características tintoriais, as bactérias Gram-positivas coram-se de roxo e as bactérias Gram-negativas coram-se de rosa (ALBINI, SOUZA, PEREIRA, 2002; Rossi, Andreazzi).

As amostras utilizadas para o projeto foram coletadas em uma cabanha localizada no oeste de SC. O leite foi coletado diretamente do tanque de resfriamento da propriedade, posteriormente armazenado em frasco estéril e por fim, transportado em caixa isotérmica mantida

sob refrigeração até o laboratório da universidade. A coloração de Gram foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular, Imunologia e Microbiologia (LABMIM), localizado na UDESC Oeste, no município de Chapecó/SC. De uma amostra de leite cultivada em PCA (Plate count agar), foram realizados esfregaços em duplicata, utilizando lâminas de vidro. Os esfregaços foram realizados de modo bem homogêneo, fixados no calor e após serem esfriados foram cobertos com cristal violeta (corante), deixando o corante agir por 1 minuto. Logo após os esfregaços foram lavados rapidamente com água, para sair o excesso do corante; em seguida foram cobertos com a solução de Lugol (mordente), deixando agir pelo tempo de 2 minutos; na sequência os esfregaços foram novamente lavados rapidamente com água; a seguir foram lavados com álcool-acetona (descorante), até que não se desprendesse mais corante da preparação (tempo de aproximadamente 15 segundos); na sequência os esfregaços foram lavados novamente com água de modo bem rápido; imediatamente os esfregaços foram cobertos pela solução de fucsina (corante), pelo tempo de 30 segundos, em seguida e pela última vez, os esfregaços foram lavados com água de forma bem rápida. Em seguida, os esfregaços foram deixados a secar ao ar e após secos foram levados para serem observados em microscópio sob a lente de objetiva de imersão (100x).

Os resultados encontrados podem ser visualizados na figura 1, onde a letra A representa a segunda lâmina de esfregaço, que obteve melhor visualização das características tintoriais, facilitando a sua observação. A figura B demonstra a primeira lâmina de esfregaço que foi realizada. Na figura 1- A, foi possível observar a presença de ambas bactérias, tanto do gênero Gram – positivas como as do gênero Gram – negativas. Possivelmente as bactérias do gênero Gram – negativas, são cepas de *Escherichia coli*, onde seus bacilos que coram-se de rosa e as bactérias do gênero Gram – positivas são cepas de *Staphylococcus aureus*, aonde seus bacilos coram-se de roxo. Mas confirmações com testes bioquímicos são necessárias. Estes achados indicam que é possível a contaminação do leite por microrganismos. As fontes de contaminação microbiana do leite cru estão localizadas ao longo de toda a cadeia produtiva, desde a produção na fazenda até o beneficiamento do produto primário na indústria (DORNELLES, 2010).

Ainda não existem muitos estudos a respeito da microbiota natural do leite ovino. Neste intuito, este estudo foi realizado para avaliar a qualidade higiênica, sanitária e patogênica no leite de origem ovina pois, demanda dos consumidores por produtos de maior qualidade e de segurança alimentar é muito grande.

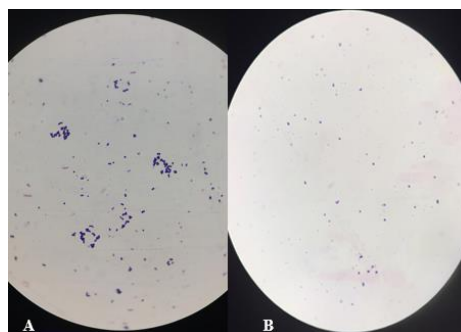


Figura 1. Esfregaços A e B, da amostra nº 5 de leite ovino.

Palavras-chave: Amostra de leite. Coloração de Gram. Qualidade do leite ovino.