



## Características físico-químicas e perfil microbiano do leite de transição bovino *in natura* e fermentado em diferentes períodos

[Physicochemical characteristics and microbial profile of *in natura* and fermented bovine transition milk in different periods]

### "Artigo Científico/Scientific Article"

Fernanda Antunes **Martins**<sup>1\*</sup>, Ester Moura **Rios**<sup>2</sup>, Ingrid Caroline **Silva**<sup>3</sup>, Gabrielle **Marcondes**<sup>2</sup>,  
Valquíria Nanuncio **Chochel**<sup>2</sup>, Luciana Silva **Leal-Karolewski**<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa-PR, Brasil.

<sup>2</sup>Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa-PR, Brasil.

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção Animal, Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá-PR, Brasil.

\*Autora para correspondência/Corresponding author. E-mail: [fernandaantunesmartins@outlook.com](mailto:fernandaantunesmartins@outlook.com)

### Resumo

Os objetivos da pesquisa foram avaliar as características físico-químicas, o perfil microbiano e determinar a sensibilidade aos antibióticos de enterobactérias isoladas de amostras de leite de transição bovino *in natura* (D0) e fermentado por 21 (D21), 30 (D30), 60 (D60), 90 (D90), 120 (D120) e 180 (D180) dias, coletadas de dez vacas leiteiras. As variáveis físico-químicas estudadas foram pH, temperatura, porcentagem de sólidos totais (ST) e densidade. Foram realizadas diluições seriadas e inoculações das amostras em meios de cultura enriquecidos e seletivos. Após a quantificação, procederam-se os testes morfológico, bioquímico e de antibiograma. Os resultados de pH variaram de 6,0 (D0) à 4,0 (D120 e D180). A temperatura oscilou de 21,30 a 23,33°C e a densidade no D0 foi de 1,031 g.mL<sup>-1</sup>. Em relação a (%)ST, o D0 destacou-se (13,79%) e os demais tempos de fermentação não diferiram entre si (p>0,05). No D60 nenhum crescimento de enterobactérias foi identificado, enquanto as bactérias ácido-láticas (BAL) aumentaram significativamente até o D90. Bactérias multirresistentes foram encontradas até o D30 e 29% das bactérias no D0 apresentaram índice de resistência múltipla aos antimicrobianos ≥0,3. Conclui-se que a fermentação do leite de transição resulta em redução do pH, não influencia na temperatura e na densidade e mostra redução na (%) ST apenas com 21 dias de fermentação. As BAL mantêm-se viáveis até os 90 dias e os patógenos reduziram durante o período de 180 dias. As bactérias multirresistentes são eliminadas com o processo fermentativo e, de maneira geral, as enterobactérias são sensíveis aos antibióticos.

**Palavras-chave:** aleitamento; anaerobiose; bactérias; bovinocultura de leite; microrganismos.

### Abstract

The objectives of the research were to evaluate the physicochemical characteristics, the microbial profile and to determine the antibiotic sensitivity of enterobacteria isolated from *in natura* (D0) and fermented transition milk for 21 (D21), 30 (D30), 60 (D60), 90 (D90), 120 (D120) and 180 (D180) days. The samples were collected from ten dairy cows. The physicochemical variables studied were pH, temperature, percentage of total solids (%TS) and density. Serial dilutions and incubations of the samples were made using enriched and selective culture media. After quantification, the morphotintorial, biochemical and antibiogram tests were performed. The pH results ranged from 6.0 (D0) to 4.0 (D120 and D180). The temperature ranged from 21.30 to 23.33°C and the D0 density was 1.031 g.mL<sup>-1</sup>. In relation to %TS, D0 stood out (13.79%) and the remaining fermentation periods did not differ (p>0.05). On D60 no increases of enterobacteria were identified, while lactic acid bacteria (LAB) increased significantly up to D90. Multi-resistant isolated bacteria were found up to D30 and 29% of the bacteria from D0 had a multiple antibiotic resistance index ≥0.3. It is concluded that the fermentation of the transition milk results in a reduction of pH, does not influence the temperature and the density and there is a reduction in the %TS only up to 21 days of fermentation. The LAB remains viable for 90 days and the pathogens reduce during the 180 day period. The multi-resistant bacteria are eliminated with the fermentation process and the enterobacteria are found to be sensitive to antibiotics.

**Keywords:** anaerobiosis; bacteria; dairy cattle; microorganisms; suckling.

Recebido 01 de junho de 2020. Aceito 06 de dezembro de 2021.

DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v15n4-3574>

## Introdução

O colostro é a primeira secreção da glândula mamária pós-parto, sendo rico em proteínas, imunoglobulinas, minerais, vitaminas, sólidos totais e cinzas (Andrade et al., 2010). Da segunda ordenha até a sétima, a secreção láctea passa a ser denominada leite de transição e a partir oitava ordenha se obtém o leite (Batista et al., 2016).

O colostro é produzido em quantidades maiores do que as exigidas pelos bezerros e o excedente não é comercializado. Assim, técnicas de armazenamento vêm sendo estudadas há muitos anos e uma delas é a fermentação obtida com o armazenamento de forma anaeróbica (Azevedo e Duarte, 2013). O acondicionamento anaeróbico do colostro e do leite de transição excedente em garrafas plásticas de politereftalato de etileno (PET) é conhecido como silagem de colostro, que consiste no preenchimento completo das garrafas PET com colostro ou leite de transição, sem espaço para o ar e por um período mínimo de 21 dias (Saalfeld, 2008).

A fermentação anaeróbica do colostro pode ser uma ótima opção para substituir o leite na alimentação de bezerras, pois a silagem de colostro preserva as características nutricionais e imunológicas, assegurando a transferência de anticorpos para os bezerros, além de não representar custo ao produtor (Saalfeld et al., 2013).

Segundo Ferreira et al. (2013) a fermentação por microrganismos benéficos, como as bactérias ácido lácticas (BAL), e a redução do potencial hidrogeniônico (pH) com o decorrer do processo fermentativo pode preservar o colostro à temperatura ambiente.

O colostro pode ser contaminado por microrganismos que prejudicam a performance animal, aumentando as taxas de morbidade e mortalidade dos bezerros. Esses microrganismos são oriundos da glândula mamária ou da contaminação do colostro durante a ordenha, a manipulação e o armazenamento (Santos et al., 2017). Silagens de colostro com fermentação adequada apresentam ausência de enterobactérias, *Staphylococcus* spp. e fungos. A maior prevalência destes pode ser um dos fatores responsáveis pelo aspecto pútrido e odor característico (Azevedo et al., 2014a).

Deste modo, o presente estudo teve como objetivos avaliar as características físico-químicas, conhecer o perfil microbiano e a susceptibilidade das enterobactérias aos antimicrobianos de

interesse zootécnico do leite de transição bovino *in natura* e fermentado por até 180 dias.

## Material e Métodos

O experimento foi realizado na Fazenda Escola Capão da Onça (FESCON), localizada em Ponta Grossa/PR, no período de junho de 2017 a dezembro de 2018. Foram utilizadas amostras de leite de transição de dez vacas leiteiras da raça Holandesa e *tricross* (Jersey x Holandesa x Illawarra), com idade média de 5,9 anos e número médio de lactações de 3,7.

Os leites de transição foram obtidos assepticamente entre o 1<sup>o</sup> e o 3<sup>o</sup> dia pós-parto e armazenados em garrafas plásticas PET de 500 mL, previamente higienizadas com detergente neutro, enxaguadas com água quente e secadas naturalmente. O líquido preencheu completamente o volume da garrafa, para não ocorrer o acúmulo de ar e, conseqüentemente, proporcionar um ambiente anaeróbico. As garrafas foram identificadas e armazenadas em um local sem a incidência da luz solar direta, à temperatura ambiente.

As amostras do leite de transição *in natura* foram mantidas refrigeradas até o momento da análise. O leite de transição foi analisado *in natura* (D0) e nos dias 21 (D21), 30 (D30), 60 (D60), 90 (D90), 120 (D120) e 180 (D180) após o envase, totalizando dez repetições em sete momentos diferentes.

## Análises Físico-Químicas

Os parâmetros estudados foram: pH, temperatura, porcentagem de sólidos totais e densidade.

Para a aferição do pH foi utilizada a fita indicadora de pH (J. Prolab<sup>®</sup>). A mensuração da temperatura e da densidade (°Quevenne) foi realizada mediante o uso de um termolactodensímetro calibrado a 20 °C (Incoterm<sup>®</sup>). A densidade, obtida em °Quevenne foi corrigida conforme a temperatura do leite e transformada para unidade g.mL<sup>-1</sup> por meio da fórmula: °Quevenne = (densidade -1) x 1000, conforme descrita por López (2007).

Para análise de sólidos totais (ST) inicialmente foi obtida a % Brix, utilizando-se o refratômetro manual (Biobrix Equipar<sup>®</sup> - escala 0 a 32%), e por meio da equação: (%)ST = % Brix + 2, descrita por Moore et al. (2009), obteve-se a porcentagem ST.

### Análises Microbiológicas

No laboratório, as amostras diluídas em série foram inoculadas nos seguintes meios de cultura: MRSA (bactérias lácticas), ágar sangue (bactérias totais), ágar fungo acrescido de enrofloxacino (Chemitril® injetável 2,5%) na dosagem de 1 mL/500 mL (fungos), ágar MacConkey (enterobactérias), ágar cetrimide (*Pseudomonas*) e ágar manitol (estafilococos). Após incubação em estufa tipo BOD a 35°C por 24 a 48 horas para bactérias e 25°C por 5 dias para fungos, se determinou as unidades formadoras de colônias (UFC). Posteriormente realizou-se a caracterização morfotintorial (coloração de Gram), bioquímica - prova da catalase, prova da oxidase e kit para enterobactérias (Laborclin®) e o antibiograma das colônias prevalentes utilizando a técnica de difusão em disco de Kirby e Bauer.

O índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) foi calculado através da fórmula:  $IRMA = a/b$  descrita por Krumperman (1983). Em que o número de classes de antibióticos ao qual o isolado foi resistente (a) foi dividido pelo número de classes de antibióticos ao qual o isolado foi testado (b).

### Análise estatística

Utilizou-se o programa estatístico Minitab18® e para avaliar o efeito do tempo de fermentação nas variáveis físico-químicas, as médias foram submetidas à análise de variância

(ANOVA) e comparadas pelo teste de Tukey, considerando 5% de significância.

Foram determinadas as médias das UFC isoladas de cada meio de cultura. A porcentagem de enterobactérias sensíveis aos antibióticos testados foi calculada através da frequência relativa e, posteriormente, foi determinado o IRMA para cada enterobactéria isolada.

### Resultados e Discussão

Na Tabela 1 encontram-se os resultados médios obtidos para as análises físico-químicas.

Os resultados obtidos para a análise de pH mostraram aumento da acidez de forma significativa ( $p < 0,05$ ) conforme o tempo de armazenamento, sendo que a queda do pH estabilizou-se a partir dos 90 dias. Os valores médios oscilaram de 6,0 para o leite de transição *in natura* ao valor mínimo de 4,0 medido aos 120 e 180 dias de fermentação. O declínio do pH acontece por causa de um maior desenvolvimento de BAL e, conseqüentemente, transformação da lactose em ácido láctico que é responsável pelo aumento da acidez (Ferreira et al., 2013).

Os resultados encontrados foram semelhantes aos obtidos por Saalfeld et al. (2013), que registraram pH médio de 6,5 para o colostro fresco e pH médio de 4,0 para a silagem de colostro com 60 dias de fermentação e sugeriram que o pH foi um dos fatores de inibição do crescimento dos microrganismos na silagem de colostro.

**Tabela 1.** Valores médios e erro padrão da média (EPM) de pH, temperatura (°C), sólidos totais (ST - %) e densidade ( $g \cdot mL^{-1}$ ) do leite de transição bovino *in natura* e da silagem de leite de transição conforme o tempo de fermentação, Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa, PR, 2019.

Dias de fermentação	Variáveis			
	pH $\pm$ EPM	Temperatura (°C) $\pm$ EPM	(%) ST $\pm$ EPM	Densidade ( $g \cdot mL^{-1}$ ) $\pm$ EPM
D0	6,0 $\pm$ 0,00 <sup>a</sup>	21,90 $\pm$ 0,86	13,79 $\pm$ 0,33 <sup>a</sup>	1,031 $\pm$ 0,00
D21	4,9 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>	22,60 $\pm$ 1,06	9,17 $\pm$ 0,58 <sup>b</sup>	1,030 $\pm$ 0,00
D30	4,7 $\pm$ 0,15 <sup>bc</sup>	22,10 $\pm$ 0,92	8,67 $\pm$ 0,36 <sup>b</sup>	1,026 $\pm$ 0,00
D60	4,4 $\pm$ 0,16 <sup>cd</sup>	21,30 $\pm$ 0,79	9,90 $\pm$ 0,46 <sup>b</sup>	1,024 $\pm$ 0,00
D90	4,2 $\pm$ 0,13 <sup>d</sup>	22,80 $\pm$ 0,73	10,66 $\pm$ 0,85 <sup>b</sup>	1,025 $\pm$ 0,00
D120	4,0 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>	22,40 $\pm$ 0,96	9,67 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>	1,028 $\pm$ 0,00
D180	4,0 $\pm$ 0,00 <sup>d</sup>	23,33 $\pm$ 0,67	10,66 $\pm$ 0,50 <sup>b</sup>	1,025 $\pm$ 0,00

Letras minúsculas divergentes nas colunas indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

A temperatura do leite de transição não apresentou diferença significativa ao longo do tempo de armazenamento, com valores oscilando entre 21,30 a 23,33 °C. Sabe-se que a temperatura ambiente tem maior influência sobre a temperatura da silagem do que o próprio processo fermentativo. E no presente estudo, poucas garrafas quando abertas apresentaram odor pútrido, característico de intensa atividade proteolítica de colostros

fermentados a altas temperaturas (Ferreira et al., 2013), sendo que houve apenas 3% de perdas, devido ao estouro de garrafas durante o processo fermentativo.

Quanto à porcentagem de sólidos totais (minerais, lactose, gordura e proteína) houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) apenas entre o D0 (13,79%) e os demais tempos de fermentação (D21: 9,17%; D30: 8,67%; D60: 9,90%; D90:

10,66%; D120: 9,67% e D180: 10,66%). O pH é significativamente correlacionado com o teor de ST, ou seja, quanto menor o pH, menor o teor de ST (Moore et al., 2009). Como já mencionado, a lactose é o principal substrato usado pelas BAL para a sua sobrevivência e como produto desse metabolismo há produção de ácido láctico, reduzindo o pH e a quantidade de ST. Segundo Ferreira et al. (2013) as mudanças mais pronunciadas na composição nutricional de silagens de colostro ocorrem durante os primeiros dias de fermentação e quando submetidas a altas temperaturas (32,5 °C). Quando a fermentação ocorre em temperaturas mais baixas (22,5 °C) a mudança na composição nutricional é mais suave. No presente trabalho, as temperaturas de armazenamento foram mais baixas, podendo ser a possível explicação de não ter ocorrido diferença significativa na concentração de ST a partir do D21.

A verificação do teor de ST de amostras de silagem de colostro ou de leite de transição antes do fornecimento às bezerras é um procedimento importante que pode servir como parâmetro da qualidade nutricional. Uma alternativa para as silagens que apresentam baixo nível de ST é o seu fornecimento misturado em leite, pois, dessa forma, não compromete o desenvolvimento corporal e do trato digestivo de bezerros até os 60 dias de idade (Azevedo et al., 2014b).

A densidade do leite está ligada à matéria dissolvida e suspensa no volume em estudo, ou seja, está ligada à sua composição (BRASIL, 2013) e é a relação entre a massa e o volume da secreção láctea.

Os sólidos não gordurosos (proteína, lactose e minerais) possuem densidade maior do que a da água, portanto, quanto maior o teor de sólidos não gordurosos, maior a densidade. Já a gordura possui densidade menor do que a da água, assim sendo, quanto menor o teor de gordura, maior a densidade (Zenebon et al., 2008). No presente trabalho, o tempo de fermentação não mostrou efeito significativo sobre a densidade da secreção láctea.

A densidade do leite de transição *in natura* foi de  $1,031 \pm 0,00$  g.mL<sup>-1</sup>, concordando com os valores obtidos por Madsen et al. (2004) que identificaram densidade específica do leite de transição de 1,033 e 1,032 g.mL<sup>-1</sup>, na quinta e sexta ordenhas pós-parto, respectivamente.

De acordo com Morin et al. (2001) a densidade do colostro está associada à raça, ao número de lactações, ao mês de parição e ao ano do

parto. Colostro de vacas Pardo Suíço (1,047 g.mL<sup>-1</sup>) e Ayrshire (1,048 g.mL<sup>-1</sup>) apresentaram valores mais baixos de densidade comparados com colostro de vacas das raças Holandesa (1,052 g.mL<sup>-1</sup>) e Jersey (1,050 g.mL<sup>-1</sup>). As vacas estudadas eram da raça Holandesa e *tricross* (Jersey x Holandesa x Illawarra) o que influenciou na densidade do leite de transição analisado.

Colostros de vacas com três ou mais lactações possuem maior densidade, em razão da maior concentração de imunoglobulinas, em comparação com o colostro das vacas primíparas e de segunda lactação (Morin et al., 2001). Neste estudo, 50% dos animais apresentaram três ou mais lactações e os demais menos do que três lactações.

Outro fator que pode interferir na densidade do leite de transição é a estação climática de parição. No caso do presente estudo, 90% das vacas pariram nas estações compreendidas entre outono e inverno que, segundo Morin et al. (2001), propiciam valores superiores de densidade, uma vez que o estresse calórico, observado no verão, causa a diminuição da densidade láctea.

Pode-se observar que o tempo de armazenamento da silagem do leite de transição bovino influenciou algumas características físico-químicas avaliadas, dessa maneira a realização de análises bromatológicas é interessante para estudar de forma mais detalhada a composição dos sólidos totais e assim compreender as mudanças dos componentes conforme o tempo de fermentação. A composição dos sólidos totais foi examinada por Saalfeld et al. (2013), cujo estudo indicou que a silagem de colostro e de leite de transição mantêm os valores de proteína (14,2%), matéria seca (17,5%), gordura (5,5%), minerais (1,7%) e pH (abaixo de 4,0) após 60 dias de fermentação, demonstrando ser capaz de conservar as características necessárias para atender as exigências nutricionais de bezerros em desenvolvimento.

As contagens dos principais grupos de microrganismos isolados do leite de transição *in natura* e fermentado estão listadas nas Figuras 1-3.

A quantidade média de bactérias totais no leite de transição *in natura* foi de 567.810 UFC mL<sup>-1</sup> (Figura 1). Com 21 dias de fermentação houve aumento nas contagens de bactérias totais (120.614.000 UFC mL<sup>-1</sup>), mas as mudanças também foram qualitativas. Níveis de contaminação para bactérias totais acima de 100.000 UFC mL<sup>-1</sup> não são adequados para alimentação de bezerros (Santos et al., 2017).



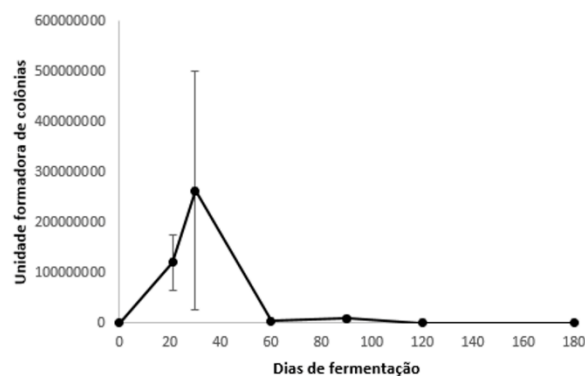
Considerando o nível de contaminação para bactérias totais, o leite de transição *in natura* e a silagem de leite de transição até 180 dias de fermentação não poderiam ser fornecidos para os bezerros. No entanto, como mencionado, as mudanças também foram qualitativas e o meio de cultura ágar sangue é enriquecido, por isso, as contagens de bactérias totais neste meio não refletiram a mudança na composição da microbiota que ocorreu durante o processo fermentativo observada nos meios seletivos.

As colônias crescidas no MRSA foram isoladas e caracterizadas como bacilos ou cocos Gram-positivos, não esporulados e catalase negativos, características presuntivas para bactérias ácido láticas (BAL).

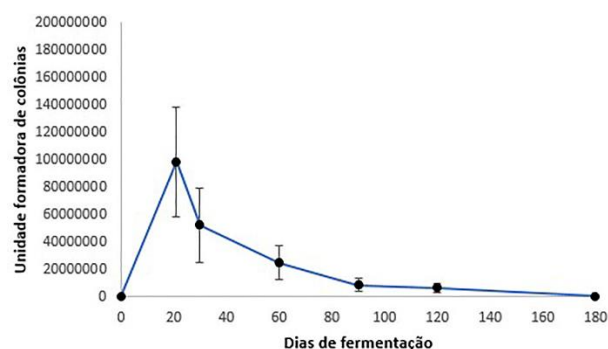
Houve aumento das BAL aos 21 dias e, posteriormente, houve um declínio, possivelmente pela falta de substrato para a sua manutenção (Figura 2). As BAL são importantes agentes probióticos e antagonistas das bactérias patogênicas e, ao fermentarem a lactose do leite produzindo ácido lático, podem impedir a deterioração do produto e a transmissão de doenças e toxinas (Wouters et al., 2002). A ação antimicrobiana das BAL deve-se também à biossíntese de compostos antimicrobianos (Huertas, 2010). Estes eventos podem explicar a redução significativa das enterobactérias (Figura 3).

No ágar MacConkey foram isolados e caracterizados bacilos Gram-negativos e oxidase negativos. No leite de transição *in natura* foram identificadas bioquimicamente as espécies: *Enterobacter amnigenus*, *Escherichia coli*, *Citrobacter diversus*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter amalonaticus*, *Serratia liquefaciens* e *Citrobacter freundii*. Aos 21 de fermentação foram isoladas seis enterobactérias predominantes e dentre elas foram identificadas *Hafnia alvei* e *E. coli*. Com 30 dias de fermentação foram isoladas *E. coli*, *C. diversus* e *Serratia rubidaea*. Houve redução das enterobactérias a partir dos 60 dias de fermentação (Figura 3).

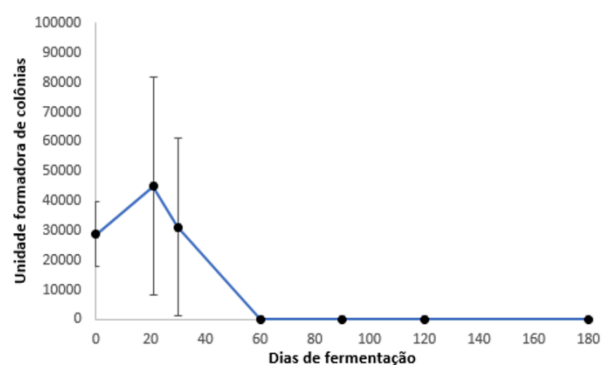
Desta forma, considerando este atributo, a silagem do leite de transição bovino pode ser fornecida aos bezerros aos 60 dias de fermentação, pois reduz o risco potencial de transmissão de doenças, além de que as BAL se mantêm viáveis garantindo a qualidade da silagem.



**Figura 1.** Média e erro padrão das UFC de bactérias totais, em leite de transição bovino *in natura* e fermentado por 21, 30, 60, 90, 120 e 180 dias, Ponta Grossa/PR, 2019.



**Figura 2.** Média e erro padrão das UFC de bactérias ácido láticas, em leite de transição bovino *in natura* e fermentado por 21, 30, 60, 90, 120 e 180 dias, Ponta Grossa/PR, 2019.



**Figura 3.** Média e erro padrão das UFC de enterobactérias, em leite de transição bovino *in natura* e fermentado por 21, 30, 60, 90, 120 e 180 dias, Ponta Grossa/PR, 2019.

O principal fator para o desenvolvimento de enterobactérias é a falta de higiene antes e durante a ordenha do colostro e em seu armazenamento. Além de degradarem os carboidratos, microrganismos como *E. coli* e *Salmonella* podem estar presentes no colostro e são responsáveis por causar diarreia em bezerros (Santos et al., 2017). Além do mais, as enterobactérias presentes no colostro e no leite de transição ligam-se às

imunoglobulinas livres no lúmen intestinal ou bloqueiam a absorção e o transporte das imunoglobulinas através das células epiteliais, impedindo a absorção das mesmas (Godden, 2008).

Com 60 dias de armazenamento não houve crescimento de leveduras, no entanto, com 90 e 180 dias de armazenamento houve crescimento de fungos filamentosos e leveduras no leite de uma das vacas, podendo se tratar de uma possível contaminação ambiental do material no decorrer da realização da análise.

Em um dos animais, aos 90 dias de fermentação, houve o isolamento de *Staphylococcus aureus* no ágar manitol. No mesmo ágar, aos 120 dias de fermentação, foram identificados diplococos, Gram-positivos, na amostra de leite de transição de outro animal. Segundo Oliveira e Medeiros (2015) *S. aureus* é o principal causador de mastite em bovinos leiteiros, em razão de seus mecanismos de defesa, presença do biofilme, resistência aos antibióticos, baixa taxa de cura e à presença desses microrganismos no ambiente de ordenha, nos animais e no homem.

O grupo das *Pseudomonas* sp., microrganismos aeróbios estritos e psicrotróficos, foi eliminado com o processo fermentativo até os 120 dias, no entanto houve a identificação de bactérias deste mesmo gênero no último período de análise (D180). A presença desses microrganismos sinaliza que o leite começou a se deteriorar (Nuñez e Nuñez, 1983) o que pode ocorrer em um processo fermentativo longo.

Os perfis de susceptibilidade aos antibióticos das enterobactérias isoladas do leite de transição *in natura* (D0) e fermentado (D21 ao D 180) encontram-se na Tabela 2. Todas as enterobactérias isoladas foram sensíveis aos antibióticos de amplo espectro: fluorquinolonas (ciprofloxacino, enrofloxacino e norfloxacino), anfenicóis (cloranfenicol) e à cefalosporina de terceira geração (ceftiofur).

As enterobactérias possuem resistência intrínseca para penicilina que foi utilizada neste experimento como controle. Alguns isolados apresentaram resistência aos inibidores de  $\beta$ -lactâmicos (amoxicilina/ácido clavulânico e ampicilina). A sensibilidade variável das enterobactérias frente à cefoxitina, tetraciclina (doxiciclina), aminoglicosídeos (gentamicina e amicacina), carbapenêmicos (meropenem) e sulfametoxazol/trimetoprim (sulfazotrin) foi confirmada.

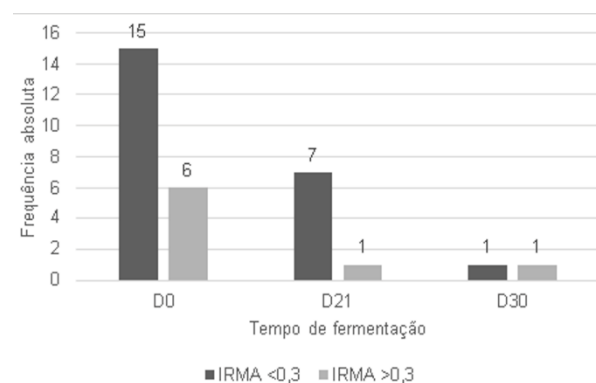
**Tabela 2.** Frequência relativa em porcentagem de enterobactérias sensíveis aos antibióticos em leite bovino de transição *in natura* e fermentado, Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa/PR, 2019.

Antibiótico	<i>In natura</i> (n)*	Fermentado
Ciprofloxacino	100 (21)	100 (9)
Cloranfenicol	100 (7)	100 (3)
Ceftiofur	100 (8)	100 (3)
Enrofloxacino	100 (12)	100 (5)
Norfloxacino	100 (8)	100 (3)
Gentamicina	91(21)	100 (9)
Sulfazotrin	90 (20)	89(9)
Doxiciclina	88 (8)	100(3)
Meropenem	86 (21)	100 (10)
Cefoxitina	57 (21)	89(9)
Amox/Clav**	50 (12)	80(5)
Ampicilina	52 (21)	70(10)
Penicilina	0 (7)	0(2)

\*(n): número de colônias analisadas.

\*\*Amox/Clav: associação de amoxicilina e ácido clavulânico.

Bactérias multirresistentes foram encontradas nos tratamentos D0, D21 e D30 (Figura 4) e 29% dos isolados do leite de transição *in natura* apresentaram IRMA  $\geq 0,3$ . Isolados com IRMA  $\geq 0,3$  são considerados fonte potencial de transmissão de genes de resistência (Krumperman, 1983).



**Figura 4.** Frequências absolutas de enterobactérias conforme índice de resistência múltipla aos antimicrobianos (IRMA) em leite de transição bovino *in natura* (D0) e fermentado por 21 (D21) e 30 dias (D30), Fazenda Escola Capão da Onça, Ponta Grossa/PR, 2019.

## Conclusão

A fermentação do leite de transição resulta em diminuição do pH, não interfere na temperatura e na densidade láctea e ocasiona a diminuição significativa dos sólidos totais até 9,17%, com 21

dias de fermentação. As BAL mantêm-se viáveis até os 90 dias, há redução da população de patógenos durante o processo fermentativo, com a eliminação de bactérias patogênicas multirresistentes a partir dos 30 dias. As enterobactérias são totalmente sensíveis ao ciprofloxacino, cloranfenicol, ceftiofur, enrofloxacino e norfloxacino. Considerando-se os resultados obtidos, indica-se a fermentação do leite de transição por um período de 60 a 120 dias antes de ser fornecido como fonte alimentar aos bezerros.

### Conflito de Interesse

Os autores declaram não existir conflito de interesses.

### Comitê de Ética

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Ponta Grossa/PR, Brasil, registrada no protocolo nº 9140/2017, processo CEUA nº 025/2017.

### Referências

- Andrade, E.A.; Anselmi, R.; Mendes, C.Q. Silagem de colostro: alternativa sustentável para a bovinocultura leiteira. **SB Rural – Caderno Rural**, 49(1): 1, 2010.
- Azevedo, R.A.; Duarte, E.R. Aspectos microbiológicos do colostro bovino em diferentes técnicas de conservação e armazenamento: uma revisão. **Revista Eletrônica de Pesquisa Animal** 1(2): 84-98, 2013.
- Azevedo, R.A.; Guimarães, F.; Viegas, C.R.; Almeida, P.N.M.; Geraseev, L.C.; Pinto, M.S.; Glória, J.R.; Duarte, E.R. Silagem de colostro: riscos microbiológicos e caracterização do pH em função do dia de coleta. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 36(3): 271-276, 2014a.
- Azevedo, R.A. Rufino, S.R.A.; Costa, S.F. Oliveira, N.J.F.; Coelho, S.G.; Duarte, E.R.; Geraseev, L.C. Desenvolvimento de bezerros leiteiros alimentados com silagem de leite de transição. I – Trato digestivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 66(2): 489-496, 2014b.
- Batista, G.N.; Moreira, P.S.S.; Oliveira, L.T.; Rosa, C.C.B.; Polizel Neto, A. Avaliação do tempo de armazenamento e composição da silagem de colostro entre duas raças leiteiras: Girolando e Jersey. **Scientific Electronic Archives**, 9(2): 10-16, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Determinação da densidade em leite fluido com uso do termolactodensímetro**, 2013. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/arquivos-metodos-da-area-poa-iaq/met-poa-09-02-densidade-em-leite-fluido.pdf/view>>. Acesso em: 6 jun. 2019.
- Ferreira, L.F.; Silva, J.T.; Paula, M.R.; Soares, M.C.; Bittar, C.M.M. Colostrum silage: fermentative, microbiological and nutritional dynamics of colostrum fermented under anaerobic conditions at different temperatures. **Acta Scientiarum**, 35(4): 395-401, 2013.
- Godden, S. Colostrum management for dairy calves. **Veterinary Clinics Food Animal Practice**, 24(1): 19-39, 2008.
- Huertas, R.A.P. Bacterias ácido laticas: papel funcional en los alimentos. **Facultad de Ciencias Agropecuarias**, 8(1): 93-105, 2010.
- Krumperman, P.H. Multiple antibiotic resistance indexing of Escherichia coli to identify high-risk sources of fecal contamination of foods. **Applied Environmental Microbiology**, 46(1): 165-170, 1983.
- López, J.A.G. Densidad relativa = specific gravity, para instrumentistas y lingüistas. **Tiempo Real AS**, 2007. Disponível em: <[http://www.tiemporeal.es/archivos/Densidad Relativa.pdf](http://www.tiemporeal.es/archivos/Densidad%20Relativa.pdf)>. Acesso em: 2 maio 2019.
- Madsen, B.D.; Rasmussen, M.D.; Nielsen, M.O.; Wiking, L.; Larsen, L.B.. Physical properties of mammary secretions in relation to chemical changes during transition from colostrum to milk. **Journal of Dairy Research**, 71(3): 263-272, 2004.
- Moore, D.A.; Taylor, J.; Hartman, M.L.; Sischo, W.M. Quality assessments of waste milk at a calf ranch. **Journal of Dairy Science**, 92(7): 3503-3509, 2009.
- Morin, D.E.; Constable, P.D.; Maunsell, F.P.; McCoy, G.C. Factors associated with colostrum specific gravity in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, 84(4): 937-943, 2001.
- Nuñez, M.; Nuñez, J.A. Proteasas de psicrotrofos gram negativos: efectos sobre la leche y los productos lácteos. **Revista Española de Lechería**, 130(1): 251-260, 1983.
- Oliveira, M.R.M.; Medeiros, M. Agentes causadores de mastite e resistência bacteriana.

- Revista Científica de Medicina Veterinária**, 2(1): 45-60, 2015.
- Saalfeld, M.H. Uso da Silagem de colostro como substituto do leite na alimentação de terneiras leiteiras. **A Hora Veterinária**, 162(27): 59-62, 2008.
- Saalfeld, M.H.; Pereira, D.I.B.; Silveira, K.R.K.; Schramm, R.; Valente, J.S.S.; Borchardt, J.L.; Gularte, M.A.; Leite, F.P.L. Anaerobically fermented colostrum: an alternative for feeding calves. **Ciência Rural**, 43(9): 1636-1641, 2013.
- Santos, G.; Silva, J.T.; Santos, F.H.R.; Bittar, C.M.M. Nutritional and microbiological quality of bovine colostrum samples in Brazil. **Revista Brasileira de Zootecnia**, 46(1): 72-79, 2017.
- Wouters, J.T.M.; Ayad, E.H.E.; Hugenholtz, J.; Smit, G. Microbes from raw milk for fermented dairy products. **International Dairy Journal**, 12(2-3): 91-109, 2002.
- Zenebon, O.; Pascuet, N.S.; Tiglea, P. Leite e derivados. In:\_\_\_\_. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. p. 823-881.