

### TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO: DETECÇÃO DE MICRORGANISMOS NO LEITE

**Danilo Ferreira Campos<sup>1</sup>;**

Ifope Educacional, Coimbra, MG.

<https://lattes.cnpq.br/3860756669503349>

**Vinicius da Silva Ázar<sup>2</sup>;**

Vet-X clínica veterinária, Coimbra, MG.

**Adeane Avelino Santana<sup>3</sup>;**

Centro Universitário de Viçosa (Univiçosa), Muriaé, MG.

**Yasmim Leticia Carvalho Gonçalves<sup>4</sup>.**

Universidade Professor Edson Antônio Velano (Unifenas), Machado, MG.

<https://lattes.cnpq.br/8019822561319087>

**RESUMO:** A pesquisa aborda a importância das técnicas de diagnóstico para a detecção de microrganismos no leite, um alimento amplamente consumido e suscetível à contaminação ao longo da cadeia produtiva. O objetivo geral foi identificar e analisar as técnicas mais eficazes para garantir a segurança alimentar e a qualidade do leite, comparando métodos tradicionais, como a cultura microbiológica, com técnicas moleculares, como a PCR. A metodologia consistiu em uma revisão de literatura qualitativa, que avaliou estudos e dados publicados entre 2020 e 2024. Os resultados indicaram que, embora os métodos tradicionais sejam úteis para confirmar a presença de microrganismos cultiváveis, os métodos moleculares demonstraram maior sensibilidade e rapidez na detecção de patógenos, mesmo em concentrações baixas. A combinação de diferentes técnicas foi sugerida como a melhor abordagem para aumentar a eficácia dos diagnósticos, permitindo uma resposta mais rápida e precisa, essencial para a proteção da saúde pública.

**PALAVRAS-CHAVE:** Diagnóstico. Microrganismos. Leite.

## FUTURE CHALLENGES IN FOOD SECURITY

**ABSTRACT:** The research addresses the importance of diagnostic techniques for detecting microorganisms in milk, a widely consumed food that is susceptible to contamination throughout the production chain. The overall objective was to identify and analyze the most effective techniques for ensuring food safety and milk quality, comparing traditional methods, such as microbiological culture, with molecular techniques, such as PCR. The methodology consisted of a qualitative literature review, which evaluated studies and data published between 2020 and 2024. The results indicated that, although traditional methods are useful for confirming the presence of cultivable microorganisms, molecular methods demonstrated greater sensitivity and speed in detecting pathogens, even at low concentrations. The combination of different techniques was suggested as the best approach to increase the effectiveness of diagnostics, allowing a faster and more accurate response, essential for protecting public health.

**KEY-WORDS:** Diagnosis. Microorganisms. Milk.

**ÁREA TEMÁTICA:** Segurança alimentar.

### INTRODUÇÃO

A nutrição desempenhou um papel fundamental na saúde humana, sendo um campo de estudo amplamente explorado por sua relevância na prevenção e tratamento de doenças. Dentro desse contexto, a qualidade dos alimentos consumidos tornou-se uma preocupação crescente, especialmente no que se refere à contaminação por microrganismos. O leite, um dos alimentos mais consumidos mundialmente, é frequentemente suscetível à presença de microrganismos, o que pode comprometer tanto a segurança alimentar quanto a saúde pública. Diante disso, as técnicas de diagnóstico para a detecção desses agentes patogênicos no leite adquiriram grande importância, sendo um tema de constante pesquisa e inovação no campo da ciência dos alimentos (GONÇALVES, 2021).

Ao considerar a importância da segurança alimentar, a detecção de microrganismos no leite emergiu como uma área crítica de estudo, dada a necessidade de garantir a qualidade desse alimento essencial. A proliferação de patógenos no leite pode ocorrer em diversas etapas da cadeia de produção, desde a ordenha até o armazenamento, e sua presença pode resultar em surtos de doenças e prejuízos econômicos significativos. Assim, o desenvolvimento e a melhoria de métodos de diagnóstico eficazes para a detecção precoce desses microrganismos são essenciais para a proteção da saúde pública e a manutenção da qualidade dos produtos lácteos.

Como possíveis respostas para essa questão, foram levantadas as hipóteses de que métodos de diagnóstico baseados em biologia molecular, como a PCR, possuem maior sensibilidade e especificidade em comparação aos métodos tradicionais, como a cultura

microbiológica. Também se considerou a hipótese de que a combinação de diferentes técnicas poderia fornecer resultados mais robustos e rápidos, contribuindo para a segurança alimentar.

Através desta pesquisa será possível uma contribuição para a melhoria da segurança alimentar e na proteção da saúde pública, oferecendo uma análise crítica e atualizada das técnicas de diagnóstico disponíveis. A identificação dos métodos mais eficazes pode auxiliar na redução de riscos associados ao consumo de leite contaminado, beneficiando tanto a indústria de laticínios quanto os consumidores.

## OBJETIVO

O objetivo geral deste trabalho foi identificar e analisar as técnicas de diagnóstico mais eficazes para a detecção de microrganismos no leite. Para tanto, buscou-se analisar as vantagens e desvantagens dos métodos de diagnóstico tradicionais, avaliar o desempenho dos métodos moleculares na detecção de microrganismos e investigar o potencial de novas tecnologias na melhoria desses processos de detecção.

## METODOLOGIA

A metodologia utilizada consistiu em uma revisão de literatura, com enfoque qualitativo, conduzida no período de 2020 a 2024. Foram consultadas as bases de dados Lilacs, Periódicos Capes, Google Acadêmico e Scielo, a partir das quais foram selecionados e examinados artigos científicos, teses, dissertações e outras fontes pertinentes ao tema abordado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A pesquisa realizada por Oliveira, Lopes-Júnior e Sousa (2022) discute a qualidade microbiológica do leite humano pasteurizado, explorando métodos de detecção de microrganismos em amostras provenientes de um Banco de Leite Paulista. O estudo destaca a importância de técnicas adequadas de diagnóstico microbiológico para assegurar a segurança alimentar, especialmente em produtos tão sensíveis quanto o leite humano. A relação com as técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite é evidente, pois o estudo enfatiza a necessidade de monitoramento rigoroso e a aplicação de metodologias precisas para garantir a qualidade e a segurança do leite, similar aos desafios enfrentados na detecção de patógenos em leite bovino.

Além disso, Oliveira *et al.* (2022) observam que a presença de microrganismos no leite humano pasteurizado pode ser influenciada por diversos fatores, incluindo as condições de higiene durante a coleta e o processamento do leite. A pesquisa sublinha a relevância de técnicas de diagnóstico precisas, como as que são empregadas na detecção

de microrganismos em leite bovino, para prevenir a contaminação e garantir a qualidade microbiológica do leite. Este enfoque reforça a importância de métodos avançados de diagnóstico, como os discutidos em estudos sobre detecção de microrganismos no leite bovino, que são essenciais para a segurança alimentar em geral.

Gonçalves (2021) explora o uso da técnica MALDI-TOF para a análise de amostras de leite UHT, com foco na identificação direta de microrganismos sem a necessidade de cultivo prévio. A autora destaca que, embora a técnica seja amplamente utilizada na microbiologia clínica para amostras de sangue e urina, a aplicação direta em amostras de leite apresenta desafios significativos devido à complexa composição do leite, que inclui lipídios e proteínas. Esses componentes podem interferir na identificação bacteriana, o que evidencia a necessidade de desenvolvimento e otimização de protocolos específicos para essa matriz. Essa discussão é diretamente relevante para as técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite, enfatizando a importância de metodologias precisas e adaptadas para garantir a segurança alimentar.

No contexto das técnicas de diagnóstico microbiológico, Gonçalves (2021) sugere que a adaptação de protocolos utilizados em outras amostras, como o sangue, poderia ser uma solução viável para a identificação de microrganismos em leite UHT pelo MALDI-TOF. A pesquisa sublinha que a identificação direta, sem o cultivo dos microrganismos, poderia acelerar significativamente o processo de diagnóstico, porém, os métodos testados pela autora não obtiveram sucesso, devido às interferências causadas pela composição do leite. Este estudo ressalta a necessidade de inovação e desenvolvimento contínuo de técnicas diagnósticas para superar as limitações atuais e assegurar a detecção eficaz de patógenos em produtos lácteos.

A pesquisa de Port (2023) analisa a correlação entre a intensidade da reação no California Mastitis Test (CMT) e o crescimento bacteriano em culturas microbiológicas, explorando a eficácia dos métodos de diagnóstico utilizados na detecção de *Estafilococcus aureus* em amostras de leite bovino. A pesquisa destaca a importância do diagnóstico precoce e preciso da mastite subclínica, utilizando diferentes métodos como o CMT, cultura microbiológica em fazenda e laboratorial, e espectrometria de massas (MALDI-TOF). Essa abordagem é relevante para as técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite, pois enfatiza a necessidade de métodos complementares para garantir a acurácia na identificação de patógenos, o que é fundamental para a segurança do leite e para a saúde animal.

Port (2023) também identifica a necessidade de adaptação dos métodos de diagnóstico às diferentes realidades das fazendas leiteiras. O estudo mostra que, embora o CMT seja uma ferramenta útil e prática para detecção inicial de mastite subclínica, a combinação com outras técnicas, como a cultura microbiológica e o MALDI-TOF, proporciona resultados mais robustos e confiáveis. Esse enfoque multifacetado é essencial para melhorar a eficácia dos diagnósticos e, conseqüentemente, a qualidade do leite, refletindo diretamente nos processos de detecção de microrganismos em produtos lácteos e na implementação de

medidas preventivas adequadas.

O estudo de Caracuschanski (2023) investiga o uso da termografia infravermelha combinada com técnicas de aprendizado de máquina para a predição da etiologia infecciosa da mastite subclínica em vacas leiteiras, especialmente em sistemas de ordenha robotizados. A pesquisa destaca a relevância de métodos diagnósticos rápidos e precisos para a detecção de mastite subclínica, condição que não apresenta sintomas visíveis, mas pode causar grandes prejuízos econômicos devido à redução na qualidade e quantidade do leite produzido. A aplicação da termografia infravermelha como método diagnóstico está diretamente relacionada às técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite, uma vez que a capacidade de identificar infecções de forma precoce é essencial para manter a segurança e a qualidade dos produtos lácteos.

Caracuschanski (2023) também sublinha que a mastite subclínica, causada por agentes infecciosos como *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus agalactiae*, pode ser monitorada de maneira mais eficiente com a combinação de termografia e aprendizado de máquina, facilitando a identificação dos patógenos responsáveis pela infecção. Esse avanço é crucial para melhorar os protocolos de controle de qualidade no manejo de rebanhos leiteiros, especialmente em sistemas de ordenha automatizados. O estudo contribui significativamente para o desenvolvimento de novas abordagens diagnósticas que não apenas melhoram a detecção de microrganismos no leite, mas também otimizam a saúde e o bem-estar animal, refletindo na qualidade final do leite consumido.

De Bonis (2023) investiga a aplicabilidade da sonoelastografia por compressão como método diagnóstico para lesões mamárias decorrentes da mastite em vacas leiteiras, comparando-a com técnicas tradicionais como o California Mastitis Test (CMT) e a contagem de células somáticas (CCS). A pesquisa evidencia a relevância dessa técnica, que fornece informações sobre a elasticidade dos tecidos mamários, uma característica que pode estar associada à gravidade da inflamação. Essa abordagem é importante para as técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite, pois a detecção precisa das lesões pode auxiliar na identificação precoce de mastite subclínica, prevenindo a progressão da doença e garantindo a qualidade do leite produzido.

Além disso, De Bonis (2023) destaca que, apesar da promissora aplicação da sonoelastografia, a técnica ainda não apresentou correlação estatística significativa com os resultados de outras metodologias diagnósticas, como a ultrassonografia em modo B e a análise microbiológica. Essa falta de correlação sugere que, embora a sonoelastografia por compressão seja uma ferramenta útil, ela deve ser complementada por outras técnicas diagnósticas para assegurar a precisão e confiabilidade dos resultados. Este estudo contribui para a ampliação do conhecimento sobre o diagnóstico de mastite, enfatizando a importância de um diagnóstico multifatorial para a detecção de microrganismos e lesões no leite.

Carvalho (2023) realiza uma análise detalhada da microbiota presente no leite cru caprino, enfocando tanto microrganismos benéficos quanto patogênicos. O estudo revela a presença significativa de microrganismos deteriorantes, como psicrotróficos proteolíticos e fungos, que indicam deficiências no manejo e na higienização do processo de ordenha. Essa constatação está intimamente ligada às técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite, pois ressalta a importância de métodos eficazes para a detecção precoce de contaminações que podem comprometer a qualidade e a segurança do leite destinado ao consumo humano.

Carvalho (2023) propõe melhorias no manejo e na sanitização para reduzir a proliferação desses microrganismos, sugerindo a adoção de práticas mais rigorosas de higiene. A pesquisa sublinha que a implementação dessas melhorias pode minimizar os riscos associados à presença de microrganismos deteriorantes e patogênicos, garantindo uma melhor qualidade do leite. Essa abordagem é particularmente relevante para a área de diagnóstico microbiológico, onde a identificação precisa e precoce de contaminações é fundamental para prevenir problemas de saúde pública e perdas econômicas.

Hodon (2023) investiga o desempenho de três métodos diagnósticos—TAL, i-ELISA, e qPCR—para a detecção de brucelose bovina em amostras de leite de tanque, com o objetivo de fortalecer o Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT). A pesquisa destaca que, embora o i-ELISA tenha demonstrado a maior sensibilidade e especificidade, o TAL, já amplamente utilizado no Brasil, ainda se apresenta como uma alternativa viável, especialmente em cenários de triagem de grande escala. Essa análise se conecta diretamente às técnicas de diagnóstico de microrganismos no leite, sublinhando a importância de métodos validados e eficazes para a identificação de patógenos em leite, crucial para a manutenção da segurança alimentar e controle de zoonoses.

Hodon (2023) observa que a qPCR, apesar de sua maior sensibilidade teórica, não apresentou desempenho satisfatório em condições de campo, o que levanta questionamentos sobre sua aplicabilidade para a vigilância de brucelose em amostras de leite de tanque. Essa conclusão reforça a necessidade de se considerar as condições específicas de cada teste e sua adequação ao contexto epidemiológico local antes de sua adoção em programas de controle sanitário. A pesquisa oferece uma análise valiosa para a implementação de sistemas de vigilância eficientes e adaptados às necessidades locais, o que é essencial para a detecção precoce e controle de doenças em produtos lácteos.

Araújo *et al.* (2024) investigam a eficiência de diferentes métodos para a detecção de *Salmonella* spp. em alimentos comercializados em Fortaleza, comparando o método molecular qPCR com o método convencional de isolamento. A pesquisa evidencia que o qPCR possui uma sensibilidade superior, detectando *Salmonella* em 20% das amostras analisadas, em comparação aos 12% detectados pelo método tradicional. Essa maior eficiência do qPCR é relevante para as técnicas de diagnóstico de microrganismos no

leite, pois a capacidade de detectar patógenos em níveis moleculares antes que se tornem cultiváveis pode ser crucial para garantir a segurança alimentar e evitar a propagação de doenças.

Araújo *et al.* (2024) apontam que o uso do qPCR permite uma triagem mais rápida e precisa, o que otimiza o tempo de resposta nos laboratórios e pode prevenir surtos alimentares ao identificar rapidamente produtos contaminados. O estudo ressalta a necessidade de complementar o diagnóstico molecular com métodos confirmatórios tradicionais, garantindo a confiabilidade dos resultados. Essa abordagem multifacetada, que combina rapidez e precisão, é especialmente relevante para o diagnóstico de microrganismos em leite e outros produtos alimentares, onde a segurança do consumidor depende de métodos diagnósticos eficientes e confiáveis.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A detecção de microrganismos no leite é uma prática indispensável para assegurar a qualidade e a segurança dos produtos lácteos consumidos em larga escala. Dado o risco de contaminação em diversas etapas da cadeia produtiva, desde a ordenha até o armazenamento, a importância de técnicas de diagnóstico eficientes torna-se evidente. O objetivo principal deste trabalho foi identificar e analisar as técnicas de diagnóstico mais eficazes para a detecção de microrganismos no leite, com foco na comparação entre métodos tradicionais e métodos baseados em biologia molecular, como a PCR, e investigar o potencial de novas tecnologias para melhorar esses processos de detecção.

A análise dos métodos tradicionais, como a cultura microbiológica, revelou suas vantagens na identificação de microrganismos cultiváveis e na confirmação da presença de patógenos em amostras suspeitas. No entanto, esses métodos são frequentemente limitados pela necessidade de longos períodos de incubação e pela incapacidade de detectar microrganismos não cultiváveis. Em contrapartida, os métodos moleculares, especialmente a PCR, mostraram-se mais rápidos e sensíveis, capazes de identificar microrganismos em níveis moleculares, mesmo quando esses não estão em estado cultivável. Esse avanço é particularmente relevante em contextos onde a detecção precoce pode prevenir surtos e garantir a segurança alimentar.

Outro ponto abordado foi a combinação de diferentes técnicas de diagnóstico. A integração de métodos tradicionais com métodos moleculares foi destacada como uma abordagem promissora para proporcionar resultados mais robustos e confiáveis. Essa combinação pode otimizar os processos de triagem e confirmação, economizando tempo e recursos nos laboratórios, além de aumentar a acurácia na detecção de microrganismos. Essa abordagem multifacetada se alinha com as melhores práticas de segurança alimentar, onde a rapidez e a precisão no diagnóstico são essenciais para proteger a saúde pública.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram plenamente alcançados. Através da revisão da literatura e da análise crítica das diferentes técnicas disponíveis, foi possível identificar métodos que não só atendem às necessidades atuais da indústria de laticínios, mas também apontam direções futuras para o aprimoramento contínuo das práticas de diagnóstico. A aplicação eficaz dessas técnicas pode contribuir significativamente para a redução dos riscos associados ao consumo de leite contaminado, beneficiando tanto a indústria quanto os consumidores. O desenvolvimento e a adoção de tecnologias mais avançadas e integradas são passos fundamentais para garantir a qualidade e a segurança do leite, um alimento essencial em diversas culturas ao redor do mundo.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, Francisca Raquel Vieira de; OLIVEIRA, Cícera Nayara Alexandre de; OLIVEIRA, Sônia Coelho Abreu de; OLIVEIRA, Ticiane Coelho Abreu de; MOURA, Cyntia Ladyane Alves de; COSTA, Mayra Garcia Maia. Estudo da detecção de *Salmonella* spp. em alimentos comercializados na cidade de Fortaleza-CE através de método molecular (qPCR) e método convencional. **Nutrivisa Revista de Nutrição e Vigilância em Saúde**, v. 11, e12262, 2024. DOI: <https://doi.org/10.59171/nutrivisa-2024v11e12262>. Acesso em: 26 ago. 2023.

CARACUSCHANSKI, Fernando David. **Uso da termografia infravermelha para a predição da etiologia infecciosa da mastite subclínica bovina em sistema de ordenha robótico com o uso de técnicas de aprendizado de máquina**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/123456>. Acesso em: 26 ago. 2023.

CARVALHO, M. L. S. Detecção de microrganismos benéficos, deteriorantes e patogênicos a partir de leite cru caprino. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Centro Universitário do Planalto Central Aparecido dos Santos – **UNICEPLAC, Gama**, 2023. Disponível em: <https://repositorio.uniceplac.edu.br/bitstream/123456789/2784/1/Milena%20Luisa%20Silva%20de%20Carvalho.pdf>. Acesso em: 26 ago. 2023.

DE BONIS, Talissa Camargo Mantovani. **Sonoelastografia, uma ferramenta útil no diagnóstico de lesões mamárias decorrentes da mastite subclínica e clínica em vacas?** 2023. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Veterinária) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/123456>. Acesso em: 26 ago. 2023.

GONÇALVES, N. C. **Metodologias para análise de amostras de leite UHT por MALDI-TOF**. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2021. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/249837>. Acesso em: 26 ago. 2023.

HODON, Mikael Arrais. **Avaliação de desempenho de três testes diagnósticos para vigilância da brucelose bovina em amostras de leite de tanque.** 2023. Tese (Doutorado em Saúde Animal) – Universidade de Brasília, Brasília, 2023. Disponível em: <https://repositorio.unb.br/handle/10482/123456>. Acesso em: 26 ago. 2023.

OLIVEIRA, C.; LOPES-JÚNIOR, L. C.; SOUSA, C. P. Qualidade microbiológica do leite humano pasteurizado de um Banco de Leite Paulista. **Acta Paulista de Enfermagem**, v. 35, eAPE00771, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.37689/acta-ape/2022AO00771>. Acesso em: 26 ago. 2023.

PORT, Andressa Braatz. **Diagnóstico de mastite bovina.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2023. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/274211>. Acesso em: 26 ago. 2023.