

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE PATÓGENOS EM LEITE CRU PRODUZIDO NAS MICRORREGIÕES DO TRIÂNGULO MINEIRO, MG

(ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PATHOGENS OF RAW MILK PRODUCED IN THE
TRIÂNGULO MINEIRO MICROREGIONS, MINAS GERAIS STATE, BRAZIL)

(AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS EN LECHE CRUDA PRODUCIDA EN LAS
MICRORREGIONES DEL TRIÂNGULO MINERO, MG, BRASIL)

M. H. OKURA¹, E.C. RIGOBELLO², F. A. ÁVILA³³

RESUMO

Na região do Triângulo Mineiro, MG, é comum o consumo de leite não pasteurizado, *in natura*. Este trabalho teve por objetivo identificar bactérias presentes no leite cru dessa região e avaliar a resistência a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* e de *Salmonella* sp. Foram coletadas 324 amostras de leite cru no período de outubro-novembro de 2001, na Cooperativa do Vale do Rio Grande em Uberaba, MG, e, após isolamento e caracterização, foram identificadas quatorze gêneros ou espécies de bactérias. Os principais gêneros ou espécies encontrados com maior frequência foram *Escherichia coli* (21,6%), seguidas por *Klebsiella* sp (19,7%), *Pseudomonas* sp (15,7%), *Shigella* sp (10,8%), *Enterobacter* sp (9,5%), *Serratia* sp (8,9%), *Escherichia fergusonii* (4,9%), *Salmonella* sp (1,8%), *Proteus* sp (1,8%), *Arizona* sp (1,8%), *Providência* sp (1,2%), *Citrobacter* sp (1,2%), *Edwardsiella* sp (0,9%) e *Escherichia hermannii* (0,6%). Os modelos de resistência às drogas antimicrobianas foram estudados em 70 cepas de *Escherichia coli* e seis cepas de *Salmonella* sp isoladas do leite cru. O teste de sensibilidade foi realizado pelo método de difusão em ágar com discos impregnados de antimicrobianos. Foram utilizadas as seguintes drogas: gentamicina, ampicilina, sulfametoxazol+trimetoprima, ceftriaxona, aztreonam, ampicilina e cefalotina para as cepas de *E. coli* e acrescentando cloranfenicol e ácido nalidíxico para cepas de *Salmonella* sp. Os resultados revelaram a baixa frequência de cepas de *E. coli* resistentes a diversos antimicrobianos, destacando-se somente 2,8% que se apresentaram resistentes para o antibiótico aztreonam, 5,7% para sulfametoxazol+trimetoprima, 8,5% para cefalotina e 30,0% para ampicilina. Das seis cepas de *Salmonella* sp isoladas, 100,0% apresentaram resistência para o antibiótico cefalotina e 66,6% para a ampicilina.

PALAVRAS-CHAVE: *Enterobacteriaceae*. *E. coli*. *Salmonella*. Leite cru.

SUMMARY

In the region of Triângulo Mineiro, Minas Gerais State, Brazil, it is common to consume non-pasteurised milk, *in natura*. The aim of this study was to identify and evaluate the bacteria present in this kind of raw milk and the antimicrobial resistance of *Escherichia coli* and *Salmonella* sp isolates. Three hundred and twenty-four milk samples were collected between October and November 2001 at the Cooperativa do Vale do Rio Grande in Uberaba, Minas Gerais State, Brazil, in which 14 different genera or species of bacteria were identified in bovine raw milk. The most frequent genera or species found were *Escherichia coli* (21.6%) followed by *Klebsiella* sp (19.7%), *Pseudomonas* sp (15.7%), *Shigella* sp (10.8%),

¹ Estudante de Pós-Graduação em Microbiologia – Parte da Dissertação de mestrado – Unesp - Jaboticabal - SP.

² Estudante em nível de Doutorado do PPG em Microbiologia - Unesp - Jaboticabal - SP, bolsista da CAPES.

³ Professor Titular do Departamento de Patologia Veterinária - Unesp - Jaboticabal - SP, Rodovia Paulo Donato Castellane, km 5, CEP 14870-000 – Jaboticabal, SP, favila@fcav.unesp.br.
Apoio financeiro FAPESP, CAPES e CNPq

Enterobacter sp (9.5%), *Serratia* sp (8.9%), *Escherichia fergusonii* (4.9%), *Salmonella* sp (1.8%), *Proteus* sp (1.8%), *Arizona* sp (1.8%), *Providencia* sp (1.2%), *Citrobacter* sp (1.2%), *Edwardsiella* sp (0.9%) and *Escherichia hermannii* (0.6%). The antimicrobial resistance pattern was studied in seventy isolates of *Escherichia coli* and six of *Salmonella* sp, which were isolated from raw milk. The susceptibility test was carried out through the agar diffusion method with discs that were filled with antimicrobial drugs. The following drugs were used: gentamicin, amikacin, sulphamethoxazole+trimethoprim, ceftriaxone, aztreonam, ampicillin and cephalothin for the *E. coli* isolates, and chloranphenicol and nalidixic acid for *Salmonella* sp isolates were added. The results have shown the low frequency of isolates that were resistant to several antimicrobial, and only 2.5% of the samples have shown resistance to the antibiotics aztreonam, 5.7% to the sulphamethoxazole+trimethoprim, 8.5% to the cephalotin and 30.0% to the ampicillin. Of the six *Salmonella* sp strains isolated 100,0% showed resistance to cephalothin and 66,6 to ampicillin.

KEY-WORDS: *Enterobacteriaceae*. *E. coli*, *Salmonella*. Raw Milk.

RESUMEN

En la región del Triângulo Mineiro, MG, Brasil, es común el consumo de leche no pasteurizada, *in natura*. Este trabajo tuvo como objetivo identificar bacterias presentes en la leche cruda de esta región y evaluar la resistencia a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* y de *Salmonella* sp. Fueron colectadas 324 muestras de leche cruda en el período de octubre a noviembre de 2001, en la Cooperativa del Valle del Rio Grande de Uberaba, MG, Brasil y, después del aislamiento y caracterización, fueron identificadas 14 géneros o especies de bacterias. Los principales géneros o especies encontrados con mayor frecuencia fueron : *Escherichia coli* (21,6%), seguidas por *Klebsiella* sp (19,7%), *Pseudomonas* sp (15,7%), *Shigella* sp (10,8%), *Enterobacter* sp (9,5%), *Serratia* sp (8,9%), *Escherichia fergusonii* (4,9%), *Salmonella* sp (1,8) *Proteus* sp (1,8%), *Arizona* sp (1,8%), *Providência* sp (1,2%), *Citrobacter* sp (1,2%), *Edwardsiella* sp (0,9%) y *Escherichia hermannii* (0,6%). Los modelos de resistencia a las drogas antimicrobianas fueron estudiados em 70 cepas de *Escherichia coli* y seis cepas de *Salmonella* sp aisladas de la leche cruda. El teste de sensibilidad fue realizado por el método de difusión en agar con discos impregnados de antimicrobianos. Fueron utilizadas las siguientes drogas: gentamicina, amicacina, sulfametoxazol+trimetoprima, ceftriaxona, aztreonam, ampicilina y cefalotina para las cepas de *E. coli* y acrecentando cloranfenicol y ácido nalidíxico para las cepas de *Salmonella* sp. Los resultados revelaron la baja frecuencia de cepas de *E. coli* resistentes a diversos antimicrobianos, destacándose solamente 2,8% que se presentaron resistentes para aztreonama, 5,7% para sulfametoxazol-trimetoprima, 8,5% para cefalotina y 30,0% para ampicilina. De las seis cepas de *Salmonella* sp aisladas 100% presentaron resistencia para la cefalotina y 66,66% para la ampicilina.

PALABRAS-CLAVE: *Enterobacteriaceae*. *E. coli*. *Salmonella*. Leche cruda.

INTRODUÇÃO

O leite tem sido considerado como o alimento humano mais próximo da perfeição, por apresentar excelente valor nutritivo, devido ao seu teor de proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas, sais minerais e água (HOFFMANN et al., 1998). Entretanto, pela sua riqueza em nutrientes, constitui em importante fonte alimentar para o homem e excelente meio de cultura para o desenvolvimento de um grande número de microrganismos. Tanto a qualidade como a conservação deste alimento estão diretamente relacionados com a sua carga microbiana (TIMM et al., 2003).

Conforme Santos e Bergmann (2003a), as alterações na qualidade de produtos lácteos têm sido atribuídas as altas contagens bacterianas no leite cru e a produção de leite de alta qualidade deve ser a prioridade para estabelecer um forte mercado para o leite e derivados, uma vez que a qualidade do leite cru determina a qualidade

dos produtos lácteos.

A qualidade do leite cru está intimamente relacionada com o grau de contaminação inicial e com o binômio tempo/temperatura em que o leite permanece desde a ordenha até o processamento (XAVIER, et al., 2000). Sendo o leite praticamente o único alimento de origem animal, o qual pode ser ingerido sem cozimento, estando o mesmo em íntimo contato com diferentes pessoas durante o processo de produção e distribuição, o que acarreta um aumento de oportunidades para a introdução de microrganismos patogênicos no mesmo (SILVA, 1999).

A composição do leite é muito equilibrada, tanto qualitativa como quantitativamente, sendo considerado o alimento ideal por excelência (SANTOS e BERGMANN, 2003b). Segundo os mesmos autores, o perfil microbiológico do leite cru influencia a vida útil dos produtos lácteos, com o desenvolvimento de sabores indesejáveis no leite e derivados e, em menor escala, com

a diminuição no rendimento industrial.

Conforme Santana et al. (2001), no Brasil, o leite “in natura” em geral apresenta altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos e coliformes.

Os coliformes fecais são empregados como indicadores de contaminação fecal, ou seja, precárias condições higiênico-sanitárias (SILVA, 2001). O estudo da ocorrência de coliformes, inclusive *Escherichia coli*, no leite cru tem suas razões devido sua associação com contaminações de origem fecal, sua multiplicação no leite em temperatura ambiente e produção de alterações e, ainda, devido à disponibilidade de provas sensíveis para sua detecção e enumeração (PARO, 2000).

De acordo com Ávila (1994), a contaminação do leite e de derivados por diversos sorotipos de *Salmonella* sp e *E. coli* constituem importantes problemas de saúde pública. Por isso, existe interesse na pesquisa sobre a contaminação desses produtos, uma vez que essas bactérias causam enfermidades, como gastroenterite aguda e septicemias.

Levantamentos epidemiológicos realizados em vários países evidenciaram que as salmonelas estão entre os agentes patogênicos mais freqüentemente encontrados em surtos de toxinfecção de origem alimentar, tanto em países desenvolvidos, como em desenvolvimento (D'AOUST, 1989). Nos países em desenvolvimento, as diarreias agudas causadas por água ou alimentos contaminados constituem a principal síndrome das febres tifóide, paratifóide e das salmoneloses, as quais têm sido responsáveis por elevada taxa de mortalidade e morbidade infantil. Entretanto, na quase totalidade dos países em desenvolvimento, a falta de notificação epidemiológica tem tornado difícil avaliar a situação real das salmoneloses (FIRSYTHE, 2002).

A contaminação do leite cru representa um sério risco à saúde humana, uma vez que sototipos de *E. coli* encontrados em bovinos como agentes infecciosos, também podem ser responsáveis por doenças em seres humanos, especialmente diarreia aguda em crianças e adultos (GYLES et al., 1998).

O presente estudo tem como objetivo isolar e identificar bactérias de leite cru entregues no laticínio da Cooperativa do Vale do Rio Grande de Uberaba, MG, e avaliar a resistência de cepas de *E. coli* e *Salmonella* sp isoladas perante vários antimicrobianos.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das amostras de leite cru das microrregiões do Triângulo Mineiro

No período de outubro a novembro de 2001, foram coletadas 324 amostras de 100 mL de leite diretamente dos latões na plataforma da Cooperativa Regional de Produtores de Leite do Vale do Rio Grande Ltda de

Uberaba, Uberaba, MG. As amostras foram transportadas em caixa de isopor, contendo gelo reciclável, para o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Universidade de Uberaba, Uberaba, MG.

Isolamento e identificação de *Escherichia coli*

Foram pipetados asepticamente 25 mL de cada amostra e adicionados a 225 mL de caldo cérebro coração (BHI) homogeneizado e mantido a 35° C por duas horas (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992). Com o auxílio de uma alça de platina, uma porção foi estriada em placas de ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e ágar MacConkey Sorbitol Telurito (MCST). As placas foram mantidas a 35° C por 24 horas e, após esse período de incubação, observou-se o desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli*. Duas colônias de cada placa foram transferidas para tubos contendo ágar tríplice açúcar ferro (TSI).

Após essa identificação parcial, as colônias típicas foram selecionadas e a espécie confirmada nas seguintes provas bioquímicas: teste de citrato, teste de indol, teste de malonato, teste VM-VP (vermelho de metila e Voges-Proskauer) (VANDERZANT e SPLITTSTOESSER, 1992). As cepas de *E. coli* sorbitol negativo nas placas de ágar MCST foram submetidas a teste de aglutinação em lâmina com anti-soro específico (Probac do Brasil) para detecção de *E. coli* O157:H7. As cepas de *E. coli* isoladas também foram testadas sorologicamente para determinação de sua composição antigênica somática “O” (sorogrupo) e para tal utilizaram-se os anti-soros polivalentes e monovalentes da Probac do Brasil. Foram utilizados os anti-soros contra os sorogrupos (EPEC) O26, O55, O111, O119, O114, O125, O142, O158, O86, O126, O127, O128.

Teste de sensibilidade a antimicrobianos

Um total de 70 cepas de *E. coli* e seis cepas de *Salmonella* sp foram testadas de acordo com o método de difusão em ágar, recomendado pelo NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (2000). Para a realização desses testes, as cepas foram repicadas em tubos contendo 5 mL de caldo tripticase soja e incubadas a 37° C por 20 horas. Após a incubação, alíquotas das culturas foram gotejadas de forma asséptica até a obtenção de turvação idêntica à da solução padrão de cloreto de bário, preparada pela adição de 0,5 mL de ácido sulfúrico a 1% (v/v) (escala de Macfarland). A seguir, as culturas diluídas foram semeadas, com auxílio de suabes esterilizados, em placas com ágar Mueller-Hinton e, após aproximadamente três minutos, tempo necessário para a secagem da superfície do meio, foram colocados discos impregnados com os antibióticos e quimioterápicos, abaixo identificados: aztreonama – ATM (30 mg), gentamicina – GEN (10 mg), amicacina – AMI (30 mg), sulfametoxazol-trimetoprima – SZT (25 mg), ceftriaxona – CRO (30 mg), ampicilina – AMP (10 mg),

cefalotina – CFL (30mg). A leitura foi realizada após 24 horas de incubação a 37° C, pela medida dos halos de inibição, com a utilização de régua milimetrada. Os diâmetros obtidos em milímetro foram comparados com os da tabela fornecida pelo fabricante (Bristol) dos discos utilizados.

Identificação de *Salmonella* sp

Transferiu-se um mililitro de leite cru para 9,0 mL de caldo Tetrationato e um mililitro para 9,0 mL de caldo Selenito Cistina para enriquecimento seletivo e foi mantido a 35° C por 24 h, conforme Vanderzant e Splittstoesser (1992). Após esse período de incubação, agitaram-se os tubos de enriquecimento seletivo em agitador tipo “vortex” e com auxílio de uma alça de platina, uma porção do material, de cada um desses tubos, foi esgotado por superfície em placas de ágar Entérico de Hectoen (HE), ágar Bismuto Sulfito (BS), ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), ágar *Salmonella Shigella* (SS) e ágar Verde Brilhante (BG). As placas foram mantidas a 35° C, por 24 h, e, no caso de desenvolvimento de colônias típicas, duas colônias de cada placa, foram transferidas para tubos de ágar TSI e ágar Lisina Ferro (LIA). Os tubos foram mantidos a 35° C por 24 h e, no caso em que foi observada a reação típica de *Salmonella* sp, foi feito o teste sorológico somático polivalente para confirmação. As colônias bioquimicamente sugestivas de *Salmonella* no meio de TSI foram, inicialmente, ressuspensas em 0,3 mL de solução salina (NaCl a 0,85% - p/v) esterilizada. Posteriormente, foram submetidas a teste de aglutinação em lâmina com soro polivalente anti-*Salmonella* contendo anticorpos contra os antígenos “O” pertencentes aos grupos A, B, C₁, C₂, D, E, contra o antígeno Vi e contra os flagelares a; b; c; d; i; 1,2,5) (Probac do Brasil). Alíquotas de 0,2 mL de ressuspensões bacterianas que não aglutinaram foram transferidas a tubos de vidro estéril e aquecidas em banho-maria fervente, durante 10 minutos, e novamente testadas contra esses mesmos soros polivalentes anti-*Salmonella*. As culturas positivas nesse teste foram submetidas às seguintes provas: teste de urease, teste de fermentação do dulcitol, teste de indol, teste de fermentação de lactose e sacarose, teste de vermelho de metila e Voges-Proskauer, teste de citrato, teste de descarboxilação da lisina em caldo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram submetidas às análises microbiológicas 324 amostras de leite cru e, desse total, 245 (75,6%) amostras permitiram o isolamento de 327 cepas de vários gêneros ou espécies de bactérias. Esses resultados eram esperados, uma vez que as amostras não sofreram qualquer tipo de tratamento térmico e foram mantidas à temperatura ambiente por um longo período de tempo, desde a sua obtenção até a chegada no laticínio. Por causa da alta

competitividade entre indústrias que compram o leite nas mesmas áreas, os caminhões quase sempre trafegam de forma ociosa, sendo obrigados a aumentar seu raio de ação, em busca de novos produtores, retardando a entrega na usina com reflexos no seu custo operacional e na qualidade do produto.

Sabe-se que em todo o mundo está ocorrendo um grande aumento no consumo de leite e seus derivados, principalmente devido às novas tecnologias aplicadas e a valorização da saúde pelos consumidores. Por esses motivos, a possível presença de bactérias patogênicas e deterioradoras neste produto demonstra a importância de sua pesquisa em tais alimentos a fim de que se garanta sua boa qualidade até o momento do seu consumo.

As análises microbiológicas destacaram a presença de *E. coli* em considerável percentual (21,6%), podendo evidenciar-se outros microrganismos, conforme pode ser verificado na Tabela 1. Dentre as bactérias patogênicas isoladas estão incluídos os gêneros *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter*. Embora todos estes gêneros sejam de ocorrência comum na matéria fecal, sabe-se que *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Citrobacter* também são constatados em outros ambientes naturais (solo e vegetais), persistindo por períodos maiores neste ambiente, com *Salmonella* e *Shigella* (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS, 1985).

Citrobacter sp e *Proteus* sp são habitantes normais do intestino do homem e dos animais, sendo também encontrados no ambiente e alimentos. As espécies do gênero *Proteus* estão muito difundidas na natureza (água poluída e solo), desempenhando papel essencial nos processos de putrefação e, como outros enteropatógenos, estão envolvidas em infecções oportunistas extra-intestinais e em casos de diarreia (LÁZARO et al., 1999).

Esses resultados são compatíveis com os estudos sobre a qualidade de produtos lácteos de fabricação caseira, incluindo leite cru e seus derivados, realizados por IN et al. (1995) na Coréia do Sul, em que concluíram que 57,0% das amostras de leite cru examinadas eram impróprias para o consumo por apresentarem *E. coli* (25,0%), *Proteus* (23,0%) e outros microrganismos deteriorantes e patogênicos.

Rea et al. (1992), em estudo sobre a ocorrência de bactérias indicadoras e patogênicas no leite cru, na Irlanda, evidenciaram 100,0% de coliformes nas amostras analisadas e, destas, 60,0% estavam contaminadas por *E. coli*.

É importante enfatizar a presença de bactérias do gênero *Shigella* em 10,8% das amostras de leite analisadas, pois são responsáveis por uma doença conhecida como shigelose ou disenteria bacilar, em que mais da metade dos casos ocorre em crianças de 1 a 10 anos de idade (MURRAY, 2000). As bactérias dos gêneros *Shigella* e

Salmonella causam fundamentalmente infecções intestinais e podem ser veiculadas através de manipuladores de alimentos, principalmente se estes indivíduos não possuírem bons hábitos higiênicos. Esse tipo de veiculação, por intermédio de alimento contaminado por fezes de indivíduos infectados, entretanto, ocorre de forma ocasional (FRANCO e GONÇALVES, 2002). O portador humano desempenha um papel fundamental na disseminação da doença e constitui um ponto crítico no processamento de alimentos (SILVA, 1999). A preocupação com a presença dessa bactéria no leite é extremamente importante porque esse alimento é a principal fonte de proteínas, carboidratos e vitaminas para as crianças na faixa etária de desenvolvimento.

Com relação a *Escherichia hermannii*, Mizuguchi e Lázaro (1995) relatam seu isolamento no homem a partir de fezes e feridas, mas sem nenhuma alusão de sua ocorrência em animais. No entanto, a deposição de fezes humanas no solo seria uma potencial fonte de

contaminação para animais com a intervenção das moscas domésticas como vetor mecânico.

Das microrregiões analisadas, a microrregião I apresentou 99,9% de enterobactérias, seguida pelas microrregiões B(91,8%), E(91,7%), D(90,0%), H(83,1%), K(81,7%), J (78,8%), F(72,7%), G(65%), A(64,8%) e a C(50,1%), apresentando todas as microrregiões contaminação acima de 50,0%. As microrregiões D, E e H, que apresentaram maior índice de *E. coli*, têm em comum grandes distâncias do centro de Uberaba, de onde foram coletadas as amostras de leite, indicando que boas condições de transporte são importantes para manter a boa qualidade do produto (Tabela 2). Nenhuma das 70 cepas de *E. coli* isoladas apresentaram aglutinação com os soros polivalentes A, B e C e respectivos monovalentes das espécies EPEC (*E. coli* enteropatogênica).

Com relação à sensibilidade das cepas de *E. coli* isoladas ante diferentes antibióticos e quimioterápicos (Tabela 3), revelam que duas cepas (2,8%) apresentaram-se resistentes para o antibiótico aztreonama, quatro (5,7%) para a associação sulfametoxazol+trimetoprima, seis (8,5%) para cefalotina e vinte e uma (30,0%) para ampicilina. Pela análise desses resultados, pode-se verificar que foram bem semelhantes aos encontrados por Dias et al. (1999), que observaram 49,6% de resistência de *E. coli*, ante a ampicilina. Lázaro et al. (1994), usando a mesma técnica de difusão em discos de antimicrobianos para testar 94.827 cepas de *E. coli* isoladas de bovinos, ovinos, suínos e aves, relatam o aparecimento de cepas resistentes a antimicrobianos, tais como gentamicina, estreptomina, ampicilina, tetraciclina, amicacina e sulfonamidas, inclusive com a ocorrência de cepas multirresistentes a dois ou mais desses antimicrobianos de importância terapêutica. Nos resultados apresentados na Tabela 4, pode-se observar que das seis cepas de *Salmonella* sp isoladas duas apresentaram resistência ao antibiótico cefalotina e quatro

Tabela 1 – Número e porcentagem de bactérias identificadas em 245 amostras de leite cru de microrregiões do Triângulo Mineiro, MG.

Bactérias	Número de isolamentos	%
<i>E. coli</i>	70	21,6
<i>Klebsiella</i> sp	64	19,7
<i>Pseudomonas</i> sp	51	15,7
<i>Shigella</i> sp	35	10,8
<i>Enterobacter</i> sp	31	9,5
<i>Serratia</i> sp	29	8,9
<i>E. fergusonii</i>	16	4,9
<i>Salmonella</i> sp	6	1,8
<i>Proteus</i> sp	6	1,8
<i>Arizona</i> sp	6	1,8
<i>Providência</i> sp	4	1,2
<i>Citrobacter</i> sp	4	1,2
<i>Edwardsiella</i> sp	3	0,9
<i>E. hernanii</i>	2	0,6
TOTAL	327	100,0

Tabela 2 - Porcentagem de cepas das enterobactérias isoladas nas microrregiões do Triângulo Mineiro, MG.

Região	<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Shigella</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Proteus</i>	<i>Citrobacter</i>	%
A	2,7	29,7	10,8	2,7	2,7	13,5	0	2,7	64,8
B	0	16,7	33,4	16,7	16,7	8,3	0	0	91,8
C	5,6	11,1	0	5,6	5,6	22,2	0	0	50,1
D	10,0	40,0	0	0	10,0	30,0	0	0	90,0
E	0	41,7	16,7	8,3	0	25,0	0	0	91,7
F	0	14,6	20,8	12,5	12,5	8,3	2,0	2,0	72,7
G	6,5	21,7	13,0	10,8	4,3	4,3	2,2	2,2	65,0
H	0	33,3	27,7	5,5	5,5	11,1	0	0	83,1
I	0	0	22,2	22,2	33,3	11,1	11,1	0	99,9
J	0	7,0	35,0	12,3	17,5	3,5	3,5	0	78,8
K	0	31,6	18,3	15,0	6,7	6,7	1,7	1,7	81,7

A - Região do Posto das Bandeiras, B - Ponte Alta a Sacramento, C - Ponte Alta até Uberaba, D - Campo Florido, E - Região Taquaral a Palestina, F - Água Comprida, G - Chuá a Capelinha do Barreiro, H - Posto de Conceição a Fazenda Capivara, I - Uberaba (Fazendas Particulares), J - Uberaba, K - Região da Baixa até Perto da Fosfertil

Tabela 3 - Distribuição quanto à resistência a diferentes antimicrobianos, de 70 cepas de *E. coli*, isoladas de leite cru de microrregiões do Triângulo Mineiro, MG.

Micro-regiões	Nº Isolados	ATM	SZT	AMP	CFL
A	11	1	1	5	1
B	2	0	0	0	0
C	2	1	0	0	0
D	4	0	0	0	0
E	5	0	0	2	1
F	7	0	0	4	1
G	10	0	1	6	1
H	6	0	0	0	1
I	0	0	0	0	0
J	4	0	0	1	0
K	19	0	2	3	1
Total	70	2	4	21	6
%	100,0	2,8	5,7	30,0	8,5

ATM = Aztreonam (30µg), SZT = Sulfametoxazol+trimetoprima (25µg), AMP = Ampicilina (10µg) e CFL = Cefalotina (30µg). A - Região do Posto das Bandeiras, B - Ponte Alta a Sacramento, C - Ponte Alta até Uberaba, D - Campo Florido, E - Região Taquaral a Palestina, F - Água Comprida, G - Chuá a Capelinha do Barreiro, H - Posto de Conceição a Fazenda Capivara, I - Uberaba (Fazendas Particulares), J - Uberaba, K - Região da Baixa até Perto da Fósferil.

Tabela 4 - Distribuição quanto à resistência a diferentes antimicrobianos, de seis cepas de *Salmonella* sp, isoladas de leite cru da região do Triângulo Mineiro, MG.

Micro-regiões	Nº Isolados	AMP	CFL
A	1	0	1
B	0	0	0
C	1	1	1
D	1	1	1
E	0	0	0
F	0	0	0
G	3	2	3
H	0	0	0
I	0	0	0
J	0	0	0
K	0	0	0
Total	6	4	6
%	100	66,6	100,0

AMP: Ampicilina = 10µg, CFL: Cefalotina = 30µg. A - Região do Posto das Bandeiras, B - Ponte Alta a Sacramento, C - Ponte Alta até Uberaba, D - Campo Florido, E - Região Taquaral a Palestina, F - Água Comprida, G - Chuá a Capelinha do Barreiro, H - Posto de Conceição a Fazenda Capivara, I - Uberaba (Fazendas Particulares), J - Uberaba, K - Região da Baixa até Perto da Fósferil.

apresentaram resistências múltiplas aos antibióticos cefalotina e ampicilina. De acordo com Lazaro et al. (1999), os coliformes antibiótico – resistentes podem ser importantes não só por sua potencialidade patogênica mas também por transferirem, através de plasmídios, resistência para outras bactérias patogênicas, convertendo-se em sério problema de Saúde Pública.

A criação intensiva de gado leiteiro e/ou de corte tem como conseqüência o uso indiscriminado de substâncias antimicrobianas visando prevenir doenças causadas por bactérias e protozoários, melhorar a conversão alimentar e reduzir o custo com a alimentação (BENENSON, 1992). Entretanto, o uso indiscriminado

dessas substâncias, associadas ou não, pode levar a uma seleção de cepas resistentes e comprometer o efeito da antibioticoterapia utilizada em infecções humanas ou em animais (VALQUEZ-MORENO, 1990).

A ocorrência de cepas, consideradas selvagens, resistentes aos antimicrobianos é fato preocupante, quando observadas as características de patogenicidade da bactéria em questão e a possibilidade de infecções extra-intestinais, decorrentes de gastroenterites em grupos mais sensíveis da população, como são as crianças, idosos, imunossuprimidos e imunocomprometidos (VARNAM e EVANS, 1991).

REFERÊNCIA

- ÁVILA, C. R. **Pesquisa de *Salmonella* spp, em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “minas frescal” comercializado no Município de Piracicaba.** Piracicaba, SP. 1994. 84p. Dissertação (Mestrado). Escola de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.
- BENENSON, A. S. Salmonellosis. In: El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. Washington D.C.: **Organización Panamericana de la Salud**, 1992, p.458-463, (OSP-Publicación Científica, 538).
- D’Aoust, J. Y. *Salmonella*. In: DOYLE, M. P. **Foodborne bacterial pathogens.** New York, Marcel Dekker, 1989. p.327-445.
- DIAS, R. S. Surto de toxinfecção alimentar causado pela ação simultânea de enterotoxina estafilocócica e *Salmonella enteritidis* – estudo de caso. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.58, n.1, p.7-11, 1999.
- FIRSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar.** São Paulo: Varela, 2002. p.285.
- FRANCO, R. M., GONÇALVES, P. M. R. *Shigella*: taxonomia, epidemiologia, isolamento e identificação em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.92/93, p.26-32, 2002.
- GYLES, C., JOHNSON, R., GAO, A., ZIEBELL, K., PIERARD, D., ALEKSIC, S., BOERLIN, P. Association of enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin with serotypes of Shiga-like-toxin-producing *E. coli* of human and bovine origins. **Applied Environment Microbiology**, v.64. p.4134-4141, 1998.
- HOFFMANN, F. L., GARCIA-CRUZ, C. H., VINTURIM, T. M., FAZIO, M. L. S., CARMELLO, M. T. Qualidade microbiológica do leite consumido em São José do Rio Preto, SP. **Indústria de Laticínios**, Mar/abr., 1998.
- IN, Y. M. Changes of the microbiological quality of raw milk after use of the grading system in Korea. **Korean Journal Dairy Science**, v.17, n.3, p.224-229, 1995.
- INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. Leche y productos. In: **Ecología microbiana de los alimentos: productos alimenticia.** Zaragoza: Acribia, 1985, v.2, cap.18, p.472-525.
- LÁZARO, N. S., RODRIGUES D. P., MENDONÇA C. L., DUQUE V. M., PASSOS R. F. B., HOFER E. Comportamento de amostras de *Escherichia coli* isoladas de bovinos frente a Antimicrobianos. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v.16, n.5, p.198-201, 1994.
- LÁZARO, N. S., RODRIGUES D. P., MENDONÇA C. L., *Enterobacteriaceae* oriundas de fontes humanas e animal: produção de enterotoxina termoestável e nível de resistência a antimicrobianos. **Higiene Alimentar**, v.13, n.64, p.49-57, 1999.
- MIZUGUCHI, N., LÁZARO, N. S. *Enterobacteriaceae* em lesões de bovinos produzidas por *Cochliomyia homnivorax* (Coquerel, 1858) (Díptera: *Calliphoridae*). **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, v.17, n.6, p.269-272, 1995.
- MURRAY, P. R. *Enterobacteriaceae* In: JAWETZ, E., ADELBERG, E. A. **Microbiologia médica.** 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, p.193-203.
- NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.** 5thed. Wayne, 2000. 33p.
- PARO, F. M. **Análise de pontos críticos para o controle da qualidade microbiológica de leite tipo B em micro-usina na região de Ribeirão Preto, SP.** Jaboticabal (SP), 2000. 64p. Dissertação (Mestrado em microbiologia) – FCAV, Universidade Estadual Paulista.
- REA, M. C. Incidence of pathogenic bacteria in raw milk in Ireland. **Journal Applied Bacteriology**, n.73, p.331-336, 1992.
- SANTANA, E. H. W., BELOTI, V., BARROS, M. A. F. Microrganismos psicotróficos em leite. **Higiene Alimentar**, v.15, n.88. p.27-32, 2001.
- SANTOS, D., BERGMANN, G. P. B. Influência da temperatura durante o transporte, na qualidade microbiológica do leite cru. Parte I – mesófilos aeróbios. **Higiene Alimentar**, v.17, n.109. p.69-74, 2003a.
- SANTOS, D., BERGMANN, G. P. A. Estudo das características físico-químicas e microbiológicas dos leites produzidos por mini-usinas da região de Marília – São Paulo – Brasil. **Higiene Alimentar**, v.17, n.110. p.56-63, 2003b.
- SILVA, J. A. As novas perspectivas para o controle sanitário dos alimentos. **Higiene Alimentar**, v.13 n.65. p.19-25, 1999.

SILVA, J. V. Monitoramento da qualidade microbiológica de queijo tipo “Minas frescal” fabricado artesanalmente. **Indústria de Laticínios**, p. 71-75, jul/ago, 2001.

TIMM, C. D. Avaliação da qualidade microbiológica do leite Pasteurizado integral, produzido em microusinas da região sul do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, v.17 n.106. p.100-104, 2003.

VALQUEZ-MORENO, L. Antibiotic residues and drug resistant bacteria in beef and chicken tissues. **Journal Food Science**, v.55, n.3, p.632-634, 1990.

VANDERZANT, C., SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium of methods for the microbiological examination of food** 3 ed. Washington, DC: American Public Health Association (APHA), 1992. p.87.

VARNAM, A. H., EVANS, M. G. **Foodborne pathogens – an illustrated text**. Wolf Publishing, c.4, 1991.

XAVIER, L. S. et al. Coleta de leite em latões e a granel: Estudos de casos. **Revista Instituto Lactício “Cândido Tostes”**, v.54, n.54, p.22-26, 2000.