AVALIAÇÃO DAS CONDIÇÕES HIGIÊNICO-SANITÁRIAS DE QUEIJOS MINAS FRESCAL PRODUZIDOS COM LEITE CRU, LEITE PASTEURIZADO E DE QUEIJO TEMPERADO EM ALGUNS MUNICÍPIOS DA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO

Evaluation of the sanitary-hygienic conditions of fresh cheese of Minas type produced with raw, pasteurized and seasoned milk in some cities of the Triangulo Mineiro region

MONICA HITOMI OKURA [1]
JOSÉ MOACIR [2]

SUMÁRIO

No presente trabalho, 30 queijos produzidos com leite pasteurizado com Inspeção Federal (com SIF), 50 queijos produzidos com leite cru sem Inspeção Federal (sem SIF) e 31 queijos temperados com especiarias. A presença de coliformes a 45º C acima dos valores permitidos pela legislação em 33%, 72% e 39%, respectivamente, sendo identificados vários gêneros pertencentes à família *Enterobacteriaceae* como 77,5% de *E. coli*, 12,5% de *Proteus*, 4,3% de *Providencia* e 5,7% de *Enterobacter.* Das amostras de queijos produzidos com SIF, verificou-se 86,4% de *E. coli*, 5,9% de *Proteus*, 3,8% de *Providencia,* 3,2% de *Enterobacter*, 0,29% de *Serratia* e 0,41% de *Klebsiella;* dos queijos produzidos sem SIF e nos queijos temperados 48,8% de *E. coli,* 41,4% de *Proteus*, 8,4% de *Providencia* e 1,4% de *Enterobacter.* A presença desses patógenos entéricos indica condições inadequadas de manipulação e armazenamento, caracterizando dessa forma risco potencial para a Saúde Pública. Além disso, realizando o teste de sensibilidade a antimicrobianos, as estirpes de *E. coli* isoladas do queijo com SIF manifestaram maiores índices de resistência à cefalotina (61,1%) e tetraciclina (46,6%), dos queijos sem SIF a maior resistência foram à ácido nalidíxico (62,7%) e cefalotina (42,7%) e dos queijos temperados a maior resistência foi para tetraciclina (68,9%), seguida de estreptomicina (60%) e ácido nalidíxico (57,8%). Assim, verifica-se a necessidade de treinamento dos produtores e implantação de boas práticas de fabricação, para que os queijos produzidos, na região do Triângulo Mineiro, possam atingir parâmetros mínimos de qualidade microbiológica e ser colocado no mercado com segurança alimentar.

Termos para indexação: qualidade higiênica; *Enterobacteriaceae*; resistência a antimicrobianos; contaminação microbiana

1 INTRODUÇÃO

O queijo Minas Frescal é um produto comercializado logo após a sua fabricação. Esse tipo de queijo apresenta grande susceptibilidade a contaminações microbianas, que podem ocorrer a partir do leite contaminado utilizado como matéria-prima (ROCHA et al., 2006). O leite é considerado um alimento próximo da perfeição por apresentar excelente valor nutritivo, contudo constitui em um excelente meio de cultura para os microrganismos (OKURA et al., 2005).

As análises dos alimentos para se verificar quais e quantos microrganismos estão presentes são fundamentais para se conhecer as condições de higiene em que esse alimento foi preparado, os riscos que ele pode oferecer

1. Aluna de pós graduação – FCAV-UNESP – Jaboticabal, SP email: moni@mednet.com.br
2. Universidade de São Paulo, Departamento de Odontologia de Ribeirão Preto. Av. do Café s/n. Campus USP. Bairro Monte Alegre. CEP 14.040-904. Ribeirão Preto, SP. email: jmmarin@forp.usp.br

à saúde do consumidor e se ele terá ou não a vida útil pretendida (IMIANOVSKY et al., 2004).

A finalidade de se avaliar a carga microbiana dos alimentos é importante, porque é por meio da manutenção que se induz a Proteção da Saúde do Consumidor (NASCIMENTO & NASCIMENTO, 2000). Os microrganismos mais relevantes no queijo Minas Frescal são os pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que apresentam importância não só por poder indicar contaminação fecal, mas também por estar geralmente implicado em processos infecciosos, demonstrando um grau considerável de deficiência higiênico-sanitária na elaboração do produto. A ingestão de queijos em condições inadequadas para o consumo pode trazer graves consequências para a população (HOFFMANN et al., 2004).

A resistência bacteriana aos antimicrobianos tem emergido como um problema mundialmente importante, fazendo com que muitas classes destes tenham se tornado menos efetivas nos últimos anos. Algumas vezes, parte da emergência de resistência está relacionada ao uso intensivo ou inadequado desses compostos, ocasionando a seleção de patógenos resistentes (GALES et al., 1997).

A utilização dos antimicrobianos gerou grande otimismo em relação à prevenção e ao tratamento dos processos infecciosos. Entretanto, o uso exagerado e nem sempre criterioso ou racional dos antibióticos e quimioterápicos trouxe dificuldades, sendo a maior delas representada pela progressiva resistência bacteriana às drogas (MANTILHA et al., 2008, VIEIRA et al., 2008). O uso de antibióticos de forma indireta e em longo prazo, devido à grande exposição de microrganismo a essas drogas, pode dar origem à seleção de cepas resistentes que poderá ser transferidas entre as bactérias (TAVARES, 1990).

Neste trabalho, foram determinados e quantificados números de coliformes a 45ºC, segundo a Técnica de Número Mais Provável, avaliando-se qualidade higiênico-sanitária de queijos tipo Minas Frescal produzidos com fiscalização (com SIF), sem fiscalização (sem SIF) e temperado com condimentos sem SIF comercializados em alguns municípios da região do Triângulo Mineiro. Também foram identificados gêneros da família *Enterobacteriaceae* e determinados os níveis de resistência a nove antimicrobianos sobre as estirpes de *E. coli* isoladas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridas 111 amostras de queijo Minas Frescal. Trinta amostras foram de queijos com SIF de laticínios com registro, 50 amostras de queijos sem SIF de produção informal vendidos no comércio e 31 amostras de queijos sem SIF, temperados com especiarias. Todas as amostras foram coletadas aleatoriamente em diferentes estabelecimentos comerciais da região do Triângulo Mineiro, no período de março a dezembro de 2007.

A amostra de queijo foi triturada e uma unidade analítica de 25 g foi diluída em 225 mL de água peptonada a 0,1%, considerando esta como diluição inicial 10^{-1}. Em seguida, transferiu-se um ml da diluição 10^{-1} para nove ml de diluente, considerando esta como diluição 10^{-2}. A diluição 10^{-3} foi obtida de maneira similar, transferindo um ml da diluição anterior para nove ml do diluente (SILVA et al., 2007).

a) Determinação do Número Mais Provável (NMP)

Após selecionar as três diluições, inoculou-se um ml da diluição em uma série de três tubos contendo caldo Lauril Sulfato Triptose (LST). Incubaram-se os tubos LST a 35ºC por 24 horas e foi observado se houve crescimento com produção de gás. Em caso positivo, transferiu-se uma alçada em tubo contendo nove ml de Verde Bile Brilhante (VB) e outra alçada em cinco ml de caldo *E.coli* Medium (EC). Os tubos VB foram incubados a 35ºC por 24 horas e anotou-se o número de tubos positivos com gás para confirmação de coliformes a 35ºC já os tubos EC foram incubados a 45ºC em banho-maria por

24 horas e foram anotados aqueles positivos para confirmação da presença de coliformes a 45ºC (SILVA et al., 2007).

De cada tubo de EC positivo com produção de gás, estriou-se uma alçada em placa contendo Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB) e incubou-se a 35ºC por 24 horas e observando-se o desenvolvimento de colônias nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico. Havendo colônias típicas, transferiram-se dez colônias bem isoladas em tubo contendo Ágar Triptona de Soja (TSA) inoculando-se a 35ºC por 24 horas. A partir da cultura pura em TSA, inocularam-se nos meios abaixo para realização das provas bioquímicas: Tríplice Açúcar Ferro, Ágar Citrato de Simmons, Indol, Vermelho de Metila, Teste de Voges – Proskauer, Uréia de Christensen e Fenilalanina desaminase conforme a técnica descrita por VANDERZANT & SPLITTSOESSER (1992).

b) Teste de suscetibilidade a antimicrobianos

Para realização do teste de susceptibilidade a antimicrobianos, foram separadas 330 estirpes de *E. coli*, aleatoriamente em 90, 150 e 90 das amostras de queijo com SIF, sem SIF e temperado, respectivamente. Foi realizado o teste de suscetibilidade ao antimicrobiano de todos isolados, usando a técnica de difusão em placas segundo NCCLS (2003). Para a realização desses testes, as estirpes de *E. coli* foram repicadas em tubos contendo cinco mL de caldo Tripticase soja e incubadas a 37ºC por 18 a 20 horas. Após a incubação, alíquotas das culturas foram gotejadas de forma assépticas em tubos, contendo quatro ml de solução salina esterilizada. A seguir, as culturas diluídas foram semeadas com o auxílio de "*swab*" estéril, em placas contendo agar Mueller-Hinton e, após aproximadamente três minutos, tempo necessário para a secagem da superfície do meio, foram colocados os polidiscos contendo os antimicrobianos. A leitura foi realizada após 18 a 24 horas de incubação a 37ºC através da medida dos diâmetros obtidos em milímetros (OLSIK & STROCBINE, 1993). Para os testes, foram utilizados nove antibióticos sendo eles: cefalotina (CFL 30), ceftriaxona (CRO 30), cotrimoxazol (SUT 25), tetraciclina (TET 30), gentamicina (GEN 10), estreptomicina (EST 10), amicacina (AMI 30), ácido nalidíxico (NAL 30) e ciprofloxacina (CIP 5). A interpretação dos resultados foi feita de acordo com os padrões do NCCLS (2003).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, foram encontrados 9/30 (30%), 35/50 (70%) e 19/31 (61,4 %) que se apresentaram em desacordo com a portaria vigente das amostras de queijo com SIF, de queijo sem SIF e queijo temperado, respectivamente (Tabela 1). Pode-se observar um número muito elevado de amostras que não se enquadram nos padrões permitidos pela ANVISA, conforme Resolução RDC nº12 (BRASIL, 2001).

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstraram que os queijos sem SIF e os temperados também sem inspeção apresentaram uma grande quantidade de amostras impróprias para o consumo humano. Entretanto, os resultados do queijo com SIF evidenciaram que somente a aplicação da pasteurização não resolve completamente o problema da qualidade dos queijos, evidenciando a necessidade de um investimento na melhoria das instalações, higienização adequada e monitorada dos equipamentos e utensílios e investimento em capacitação de funcionários nas empresas com Serviço implantado de inspeção sanitária (SIF).

Os alimentos obtidos por processos artesanais têm grande possibilidade de se apresentarem contaminados, devido ao uso de matérias-primas de fontes não seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados, elaboração em condições impróprias, armazenado e comercializado em temperatura inadequada, os quais são fatores que contribuem para aumentar os riscos responsáveis por enfermidades (FARDIN et al., 2008).

Tabela 1. Distribuição das contagens microbiológicas em Número Mais Provável (NMP/g) de coliformes a 45ºC e número de amostras de queijo Minas Frescal com SIF sem SIF produzidos artesanalmente e temperados sem SIF, colhidas na região do Triângulo Mineiro.

NMP/g de coliformes a 45º C	Amostras com SIF		Amostras sem SIF		Amostras temperadas	
	Frequência Nº	Frequência relativa (%)	Frequência Nº	Frequência relativa (%)	Frequência Nº	Frequência relativa (%)
3,0 a 5x10	17	56,6	7	14	10	32,2
5x10 a 10^2	1	3,4	1	2	2	6,4
10^2 a $5x10^2$	3	10	7	14	6	19,4
$5x10^2$ a $5x10^3$	9	30	35	70	13	42
Total das amostras	30	100	50	100	31	100

Anvisa: Valores máx. permitido $\leq 5,0x10^2$ NMP/g para queijo Minas Frescal e 10^2 NMP/g para queijo Minas Frescal temperado.

Com relação ao padrão permitido para coliformes a 45ºC, no caso do queijo sem SIF, o porcentual obtido por Salotti et al. (2006), foi próximo ao encontrado no presente trabalho, pois verificaram que 91,6% das amostras de queijo Minas Frescal sem SIF comercializados em Jaboticabal, SP, apresentaram números de coliformes a 45º C acima do limite permitido pela legislação. Souza et al., (2005) apresentam resultados de 90% para queijo Minas Frescal com SIF e 100% para queijo sem SIF de presença de coliformes a 45º C na cidade de Belo Horizonte.

Segundo Pereira et al. (1999), apesar das exigências para que o leite destinado a fabricação de queijos seja higienizado por meios mecânicos adequados e submetidos à pasteurização ou tratamento térmico equivalente, é intensa a comercialização dos queijos Minas fora dessas especificações. Além disso, a contaminação do leite pós-pasteurização, a utilização de fermentos e incorretas condições de manufatura e armazenamento contribuem também, de forma efetiva, para a má qualidade do produto final. Apesar da proibição legal imposta à comercialização de queijos frescos e moles, elaborados a partir dos leites crus no Brasil, a venda do queijo Minas Frescal produzido artesanalmente tem sido realizada abertamente em nosso meio, especialmente nos Estados de Minas Gerais e São Paulo (SALOTTI et al., 2006; SABIONI & PINHEIRO, 2008). Assim, foi possível coletar uma quantidade maior de amostras de queijo Minas Frescal sem SIF nos municípios da região do Triângulo Mineiro.

Em vista dos fatores expostos, o Serviço de Inspeção dos Produtos de Origem Animal, foi estruturada pelo Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura a obrigatoriedade do uso de leite pasteurizado na produção do queijo, entretanto ainda não há supervisionamento constante das amostras comercializadas por laticínios e pequenos produtores, impossibilitando ao consumidor a garantia de um queijo produzido com leite pasteurizado dentro dos padrões de qualidade para o consumo (OLIVEIRA et al., 2003).

Embora 18 (60%) das 30 amostras de queijo com SIF, 49 (98%), das 50 amostras de queijo sem SIF e 27 (87%) das 31 amostras de queijo sem inspeção temperado apresentassem coliformes a 45º C confirmadas pelos tubos EC, a presença de *E. coli* foi isolada em apenas 11 (37%) amostras de queijo com SIF, 26 (52%) das amostras de queijo sem SIF e 16 (52%) das amostras de queijo temperado. Estes resultados são compatíveis com os resultados de Silva et al. (2006), os quais descreveram os dados preliminares de um trabalho utilizando o método de tubos múltiplos, mostrando que *E. coli* não foi isolada de uma grande parte dos alimentos contaminados com coliformes a 45ºC, e a identificação bioquímica de *E. coli* foi necessária para a confirmação de contaminação fecal.

Considera-se que a legislação brasileira utiliza coliforme a 45ºC como equivalente à contaminação de coliforme de origem fecal, os resultados obtidos neste trabalho indicam que a utilização deste padrão para alimentos de

origem animal pode levar a uma interpretação inadequada, conforme verificado na Figura 1.

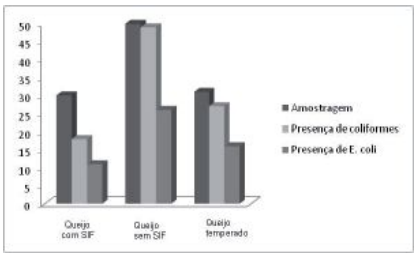

Figura 1. Número de amostras positivas pela Técnica de Tubos Múltiplos com queijos inspecionados (com SIF), queijo sem inspeção (sem SIF) e queijo temperado quanto à presença de coliformes a 45ºC e *Escherichia coli*

Pereira et al. (1999) relataram crescimento de *Klebsiella* sp, indologênica e termotolerante na técnica de tubos múltiplos no caldo EC, o que pode mascarar o resultado para *E. coli* e, consequentemente acrescentar valores mais elevados de coliformes a 45ºC, além da real população presente na amostra.

Conforme Figura 2 após isolamento e identificação bioquímica, foi possível encontrar seis gêneros de *Enterobacteriaceae*. Foram isoladas nas amostras positivas para coliformes a 45ºC as seguintes bactérias: *E. coli, Proteus, Providencia, Enterobacter, Serratia* e *Klebsiella*. Esses microrganismos foram relatados por Araújo et al. (2001) como capazes de causar infecções e/ou intoxicações alimentares podendo provocar febre, calafrios, cefaléia, mialgia, cólica abdominal, diarréia aquosa profusa, vômito, desidratação e choque.

Verificou-se que, de 30 amostras de queijos produzidos com leite pasteurizado, analisando 10 colônias das placas de EMB inoculados do caldo EC médium positivo, foram isoladas 279 cepas das quais 216 (77,5%) de *E. coli*, 35 (12,5%) de *Proteus*, 12 (4,3%) de *Providencia* e 16 (5,7%) de *Enterobacter;* das 50 amostras de queijo produzidas com leite cru (sem SIF) do total 670 cepas 578 (86,4%) foram de *E. coli*, 40 (5,9%) de *Proteus*, 36 (3,8%) de *Providencia*, 21 (3,2 %) de *Enterobacter*, 2 (0,29%) de *Serratia* e 3 (0,41%) de *Klebsiella* e das 31 amostras de queijo temperado do total de 970 cepas, 449 (48,8%) foram de *E. coli*, 381 (41,4%) de *Proteus*, 77 (8,4%) de *Providencia* e 13 (1,4%) de *Enterobacter* (Figura 2).

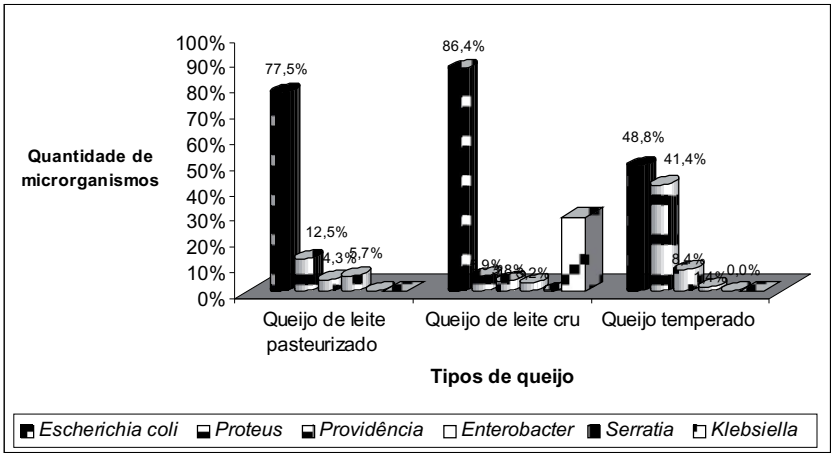

Figura 2. Porcentagem de espécies e gêneros da família *Enterobacteriaceae* isolados nos queijos Minas Frescal produzidos com leite pasteurizado, produzidos com leite cru e queijo temperado comercializados em alguns municípios da região do Triângulo Mineiro.

Os gêneros *Enterobacter, Klebsiella* e *Citrobacter,* podem ser microrganismos de origem fecal, mas também são encontradas no ambiente e são detectados nas provas para coliformes a 45ºC, que devido à sua definição seria apenas *E. coli*. Segundo Tebaldi et al. (2008), o grande problema da presença de microrganismos oportunistas como *Citrobacter, Enterobacter* e *Klebsiella* no produto é que esses podem causar doenças em pessoas imunodeprimidas, crianças ou idosos. Considerando que o queijo analisado neste trabalho é altamente consumido por crianças, como fonte de nutriente, é importante salientar que presença de bactérias *Enterobacteriaceae* torna o produto com alto risco para o consumo humano.

Dentre os microrganismos relevantes, podem ser mencionados os pertencentes à família *Enterobacteriaceae*, que além de indicar contaminação fecal, também podem estar implicados em processos infecciosos, ou da possibilidade de armazenar microrganismos multirresistentes, demonstrando um grau considerável de deficiência higiênico-sanitária na elaboração do produto, além de um perigo substancial no consumo destes produtos (HOFFMANN et al., 2004). Segundo Franco & Landgraf (2005) atualmente, ao invés de enumerar os coliformes fecais e *E. coli*, alguns laboratórios estão preferindo enumerar as bactérias pertencentes à família *Enterobacteriaceae* como um todo.

A constatação dessa realidade mostra que para a maioria dos queijos tipo Minas, aqueles fabricados a partir de leite cru muitas vezes em pequenas fábricas, em sítios e fazendas de menor porte, se apresentam em condições inadequadas para consumo. A má qualidade microbiológica evidenciada por produtos com regulamentação do SIF, com índice de condenação de 30% para o queijo Minas Frescal produzidos com SIF, permite questionar o controle feito pelos órgãos de fiscalização, sobretudo no acompanhamento de etapas operacionais. Os resultados encontrados demonstram que as condições higiênico-sanitárias do produto testado não são satisfatórias, podendo apresentar riscos à saúde dos consumidores em razão de sua larga comercialização no Estado (CAMPOS et al., 2006).

Diante desse quadro, seria recomendada a atuação mais incisiva dos órgãos de fiscalização sanitária, no intuito de aplicar o que é preconizado na produção deste tipo de queijo, como a pasteurização do leite. É uma prática simples que, se corretamente aplicada, permite a diminuição da carga microbiana inicial com consequente eliminação de patógenos. Além disso, a implementação das boas práticas de fabricação minimizaria o perigo da provável contaminação humana e ambiental (CAMPOS et al., 2006).

É impossível examinar cada alimento, como rotina, para verificar a presença de todos os patógenos devido ao alto custo da análise (NASCIMENTO & NASCIMENTO, 2000). Franco & Landgraf (2005) comentam que o uso da análise microbiológicos no controle dos perigos é impraticável, porque, enquanto o resultado não é liberado, é difícil armazenar na empresa produtos com vida de prateleira instável, encarecendo o seu armazenamento, ou seja, o produto. Uma das formas de controlar o processamento de um alimento é aplicar o princípio da Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), que consiste em analisar os principais perigos existentes no processamento, apontando soluções que garantam a segurança de todas as etapas, de acordo com os recursos locais. A boa qualidade do produto final é o maior indicativo da adequação dos métodos utilizados no controle do processo (ALMEIDA et al., 2005). Para um alimento ter uma boa qualidade sanitária, é necessário que seja livre de microrganismos patogênicos.

Montelli & Sadatsune (2001) comentam que em 95% de todas as cepas isoladas de material patológico são sensíveis ou resistentes. Por outro lado, nos Estados Unidos, apenas 21% dos laboratórios medem as zonas com precisão e a maioria dos clínicos, por medida de segurança, considera os resultados intermediários como resistentes. Considerando estirpes de *E. coli* resistentes os valores de intermediário + resistentes, na

Tabela 2 verificou-se que 61,1% das estirpes de *E. coli* isolados do queijo com SIF apresentaram resistência à cefalotina, 46,6% à tetraciclina, 25,5% a estreptomicina, 16,7% a ceftriaxona e 16,7% a cotrimoxazol. O queijo sem SIF apresentou resistência de 62,7% a ác. nalidíxico, 53,4% a cefalotina, 42,7% a tetraciclina, 33,3%, a estreptomicina, 8% a cotrimoxazol, 17,3% a amicacina e apenas 9,3% a ceftriaxona. Já para o queijo temperado sem SIF apresentaram resistência de 68,9% de tetraciclina, 60% a estreptomicina, 57,8% a ac. nalidíxico, 46,7% a cefalotina, 32,2% a amicacina, 26,7% a cotrimoxazol, 24,4% ampicilina, 6,6% à gentamicina e 16,7% à ciprofloxacina.

Os resultados deste trabalho foram compatíveis com Paneto et al. (2007) que avaliaram queijo Minas produzido com leite não pasteurizado da região Centro Oeste obteve estirpes de *E. coli* resistentes a cefalotina (60%), ácido nalidíxico (33%), tetraciclina (31%) e ampicilina (29%). Cunha et al. (2005) avaliaram a resistência aos antimicrobianos de queijo Minas Frescal, produzidos artesanalmente na região de Barbacena, obtiveram *E. coli* resistentes a amoxilina e ampicilina + sulbactran.

A avaliação do padrão de sensibilidade é importante, uma vez que podem ser utilizados em associação com os beta-lactâmicos ou glicopeptídeos, para o tratamento de infecções graves. A resistência as penicilinas naturais e alguns aminoglicosídeos indicam que a aquisição de resistência segue o mesmo padrão das cepas isoladas de seres humanos. Segundo Barbosa et al. (2007), alimentos de origem animal são considerados importantes vetores para a transferência de resistência aos antibióticos. Tal transferência é possível por meio da presença de resíduos de antibióticos no alimento e a possibilidade de transferência de patógenos resistentes pelo alimento.

4 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos dos queijos, indiferente de sua origem (queijo com SIF, sem SIF e temperado), caracterizaram como produtos em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, sugerindo que é necessária uma melhoria no controle higiênico-sanitário do processo de produção do queijo Minas Frescal e, ainda a necessidade de implantação de programas de monitoramento da presença de resistência ao antimicrobiano em bacté-

Tabela 02. Suscetibilidade aos antimicrobianos das estirpes de *Escherichia coli* isoladas de amostras obtidas de queijo Minas Frescal produzidos com SIF, sem SIF e queijo temperado comercializados em alguns municípios da região do Triângulo Mineiro.

Agente antimicrobiano	Queijo com SIF (n = 90)				Queijo sem SIF (n= 150)				Queijo temperado (n= 90)			
	I	%	R	%	I	%	R	%	I	%	R	%
CFL	23	25,6	32	35,5	56	37,4	24	16	34	37,8	8	8,9
CRO	5	5,5	10	11,2	13	8,7	1	0,6	5	5,5	2	2,2
SUT	8	8,9	7	7,8	3	2	9	6	0	0	24	26,7
TET	8	8,9	34	37,7	15	10	49	32,7	9	10	53	58,9
GEN	1	1,1	0	0	5	3,3	0	0	2	2,2	4	4,4
EST	5	5,5	18	20	39	26	11	7,3	36	40	18	20
AMI	3	3,3	0	0	19	12,7	7	4,6	20	22,2	9	10
NAL	49	54,4	0	0	74	49,3	20	13,4	38	42,2	14	15,6
CIP	0	0	0	0	0	0	0	0	14	15,6	1	1,1

I (intermediário), R (resistência), CFL (cefalotina), CRO (ceftriaxona), SUT (Cotrimoxazol),TET (tetraciclina), GEN (gentamicina), EST (Estreptomicina), AMI (amicacina), NAL (Ác. Nalidíxico) e CIP (ciprofloxacina).

rias isoladas de alimentos para dar suporte a programas que visem à prevenção do aparecimento de resistência a antimicrobianos. Verificou-se que as técnicas de tubos múltiplos após a quantificação dos coliformes a 45ºC necessitam incorporar uma continuidade nas análises para identificar e quantificar os coliformes fecais.

SUMMARY

In the present study, 30 units of cheese produced with pasteurized milk with federal inspection (with SIF), 50 units of cheese produced with raw milk without federal inspection (without SIF) and 31 units of cheese seasoned with spicery. The presence of coliforms at 45ºC above the values allowed by the law in 33%, 72% and 39% respectively, by several typed being identified as belonging to the *Enterobacteriaceae* family with *E. coli* of 77.5%, 12.5% of *Proteus*, 4.3% of *Providencia* and 5.7% of *Enterobacter*. For the cheese produced with SIF, it was noticed 86.4% of *E. coli*, 5.9% of *Proteus*, 3.8% of *Providencia*, 3.2% of *Enterobacter*, 0.29% of *Serratia* and 0.41% of *Klebsiella*; for the cheese produced without SIF and for the seasoned cheese, it was noticed 48.8% of *E. coli*, 41.4% of *Proteus*, 8.4% of *Providencia* and 1.4% of *Enterobacter*. These enteric pathogenic causes presence shows inappropriate conditions of handling and storage, which features potential risk to the Public Health. Besides, by carrying out the sensibility to antimicrobials test, the stocks of *E. coli* isolated from the cheese with SIF showed higher levels of endurance to tetracycline (37.7%) and cephalothin (35.5%), the cheese without SIF showed more resistance to tetracycline (32.7%) and nalidixic acid (13.3%), and the seasoned cheese showed more endurance to tetracycline (58.9%). So, it is verified the need of training for the producers and the implementation of good producing practice so that the cheese produced in the region of the Triangulo Mineiro may hit minimum parameters of microbiological quality and be offered in the market with feeding safety.

Index terms: Hygienic quality; *Enterobacteriaceae*; Antimicrobials resistance; Microbial contamination.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M. D. C. de. et al. Avaliação da padronização e das condições higiênico-sanitárias de queijos produzidos no Estado do Pará. **Rev. Higiene Alimentar,** v. 19, n.137, p. 104-107, nov./dez., 2005.

ARAÚJO, W.N. de et al. Determinação do nível de contaminação por coliformes totais no queijo Minas comercializado na Região Metropolitana de Salvador – Bahia. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.** v. 2, n.1, p. 5-9 , 2001.

BARBOSA, L. et al. Incidência de *Staphylococcus* coagulase positiva em leite tipo C e sensibilidade das cepas aos antibióticos. **Rev. Hig. Alimentar.** v. 21, n. 148, p. 105 – 109. jan./fev, 2007.

BRASIL. Leis, Decretos, etc. Resolução RDC 12 de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União,** Brasília – DF, n.7 – E, seção 1, p. 45-53, 10 de janeiro de 2001.

CAMPOS, M. R. J. H. et al. Caracterização fenotípica pelo antibiograma de cepas de *Escherichia coli* isoladas de manipuladores, de leite cru e de queijo "Minas Frescal" em um laticínio de Goiás, Brasil. **Ciênc. Rural**, v.36, n.4, p. 1221-1227, jul./ago, 2006.

CUNHA, G. G. S. et al. Resistência a antimicrobianos em *Salmonella sp* e *Escherichia coli* isolados de queijo "Minas Frescal". **Rev.Inst. de Lat."Cândido Tostes".** v.60, n.345, p. 59-62 jul/ago, 2005.

FARDIN, F.L. et al. Pesquisa de coliformes totais e fecais em queijos coloniais produzidos

na região central do Rio Grande do Sul. **Rev. Higiene Alimentar,** v.22, n.165, p.82-85, out. 2008.

FRANCO, B.D.G.M. e LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 2ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2005.

GALES, A. C.; PIGNATARI, A. C.; JONES, R.N.; BARETTA,M.; SADER, H.S. Avaliação da atividade *in vitro* dos novos antimicrobianos da classe das fluoroquinolonas, cefalosporinas e carbapenes contra 569 amostras clínicas de bactérias gram-negativas. **Rev. Assoc. Med. Brás**. v. 43, n.2, p.137-144. apr./jun, 1997.

HOFFMANN, F. L. et al. Qualidade microbiologia de queijos ralados de diversas marcas comerciais, obtidos do comércio varejista do município de São José do Rio Preto, SP. **Rev. Higiene Alimentar,** v. 18, n.122, p. 62-66, jul. 2004.

IMIANOVSKY, U. et al. Comparação de métodos na verificação da qualidade microbiológica de queijos. **Rev. Inst. Lat."Cândido Tostes"**. v.59, n.339, p. 79-85. jul./ago, 2004.

MANTILLA, S. P. S. et al. Resistência antimicrobiana de bactérias do gênero *Listeria spp* isoladas de carne moída bovina. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci**., v.45, n.2, p. 116-121, 2008.

MONTELLI, A. C.; SADATSUNET, T. Antibioticoterapia para o clínico. **SMB: Sociedade Brasileira de Microbiologia.** p. 07 – 53, 2001.

NASCIMENTO, M. da G.F. do; NASCIMENTO, E.R. do **Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 11p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 120).

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS,), **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically,** 5a ed. Wayne, Pa., M2-A8. v.23, n.1, 2003.

OLIVEIRA, M. M. A.; NUNES, I. F. da. S.; ABREU, M. C. Análise microbiológica e físico-química do leite pasteurizado tipo "C" comercializado em Teresina, PI. **Rev. Higiene Alimentar.** v. 17, n.111, p. 92-94, ago, 2003.

OLSVIK, O. & STROCBINE, N. A. PCR detection of heat-stabile, heat-labile, and shiga like toxin genes in *E. coli* In: PERSING, D.H.; SMITH, T. H.; TENOVER, F.; WHITE, T. J. (Eds). **Diagnostic molecular microbiology principles and applications**. Washington, D.C. American Society for microbiology. p. 271-276, 1993.

OKURA, M. H. et al. Isolamento e identificação de patógenos em leite cru produzido nas microrregiões do Triângulo Mineiro, MG. **ARS Veterinária.** v. 21, n.3, p.324-331, 2005.

PANETO, B.R. et al. Ocorrência de *Escherichia coli* toxigênica em queijo de Minas Frescal no Brazil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** V.59, n.2, p.508-512, apr, 2007.

PEREIRA, M.L. et al. Avaliação de ensaios analíticos para detecção de coliformes fecais em queijo Minas **Arq. Bras. Med. Zootec.** v.51, n.5, p.421-426 out., 1999.

ROCHA, J. S. et al. Condições de processamento e comercialização de queijo – de – minas frescal. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.** v. 58, n.2, p. 263 – 272, apr. 2006.

SABIONI, J. G.; PINHEIRO, R. M. Ocorrência de microrganismos patogênicos em queijos Minas-frescal, comercializados na Região de Ouro Preto, MG. **Rev. Higiene Alimentar,** v. 22, n.166, p. 117-120, nov/dez., 2008.

SALOTTI, B. M. et al. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil**. Arq. Inst. Biol.,** v.73, n.2, p. 171-175, abr./jun., 2006.

SILVA, M.P. Avaliação do padrão de coliformes a 45º C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciênc. Tecnol. Aliment.** v. 26, n.2, p. 352-359. abr./jun, 2006.

SILVA, N da. et al. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos.** 3ª ed. São Paulo: Livraria Varela, 2007, 552p.

SOUZA, E.L. de. et al. Antimicrobial effectivenes of spices: na Approach for Use in food conservaton systems. **Brazilian Archives of Biology and Technology** v. 48, n.4, p. 549-558, jul. 2005.

TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C. de.; RAMALHO, G. C. de A.; PICOOLI, R. H. Bactérias da família *Enterobacteriaceae* isoladas durante a vida de prateleira de ricota. **Rev. Higiene Alimentar.** v. 22, n. 165, p. 100-104, out, 2008.

VANDERZANT, C. e SPLITTSTOESSER, D. F. **Compendium for the microbiological examination of foods.** 3ed. Washington: Aerican Public Health Association, 1992, 1219p.

VIEIRA, R. H. S. dos F. et al. Contaminação fecal da ostra *Crassostrea rhizophorae* e da água de cultivo do estuário do Rio Pacoti (Eusébio, Estado do Ceará): isolamento e identificação de *Escherichia coli* e sua susceptibilidade a diferentes antimicrobianos. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.,** v.45, n.3, p.180-189, 2008.