

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Quantificação e perfil de resistência aos antibióticos de *Staphylococcus*
coagulase positiva presentes em queijo Minas artesanal comercializado
em feiras livres de Uberlândia-MG.**

Cristiane Moreira Caixeta

Monografia apresentada à Coordenação do Curso
de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de
Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas

Uberlândia - MG
Dezembro-2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Quantificação e perfil de resistência aos antibióticos de *Staphylococcus*
coagulase positiva presentes em queijo Minas artesanal comercializado
em feiras livres de Uberlândia-MG.**

Cristiane Moreira Caixeta

Prof. Dra. Daise Aparecida Rossi

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da
Universidade Federal de Uberlândia, para a
obtenção do grau de bacharel em Ciências
Biológicas

Uberlândia - MG
Dezembro-2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

**Quantificação e perfil de resistência aos antibióticos de *Staphylococcus*
coagulase positiva presentes em queijo Minas artesanal comercializado
em feiras livres de Uberlândia-MG.**

Cristiane Moreira Caixeta

Prof. Dra. Daise Aparecida Rossi
(Faculdade de Medicina Veterinária)

Homologado pela coordenação do Curso
de Ciências Biológicas em / /

Coordenador(a)

Uberlândia - MG
Dezembro-2004

Andei.

Por caminhos difíceis, eu sei.

Mas, olhando o chão sob meus pés, vejo a vida correr.

E assim, a cada passo que der, tentarei fazer o melhor que puder.

Aprendi.

Não tanto quanto quis, mas vi que, conhecendo

O universo ao meu redor, aprendo a me conhecer melhor.

E assim escutarei o tempo, que ensinará

A tomar a decisão certa em cada momento.

E partirei, em busca de muitos ideais.

Mas sei que hoje

Se encontram meu passado, futuro e presente.

Hoje sinto em mim a emoção da despedida.

Hoje é um ponto de chegada e, ao mesmo tempo, ponto de partida.

Agradeço:

A Deus por mais essa etapa da minha vida.

A Daise pela oportunidade e atenção.

A Jupy's e Analice pela paciência, pelos ensinamentos e pelos bons momentos que tivemos no laboratório.

A Thesca, Cristiane, e demais colegas do LAB90 pelo apoio na realização desse trabalho.

Ofereço:

A minha mãe, por tudo que ela faz por mim, por sua paciência e dedicação.

A Vivi, à vovó, a Talice e todos de minha família que sempre estiveram comigo.

As minhas eternas amigas Marília, Malu, Loló, Carol (a ordem dos fatores não interfere o produto). Vocês são minhas células companheiras.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1. Obtenção das amostras	4
2.2. Análise microbiológica	4
2.3. Antibiograma	5
2.4. Análises físico-químicas	5
2.5. Análise dos dados	5
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	6
4. CONCLUSÃO	12
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

	Pág.
Tabela 1. Acidez (%ácido láctico) em 25 queijos artesanais coletados em feiras livres de Uberlândia-MG, durante os meses de julho a novembro de 2004.	6
Tabela 2. Contagem de <i>Staphylococcus</i> sp. de acordo com o teor de umidade de queijos Minas artesanal, coletados em feiras livres da cidade de Uberlândia-MG, nos meses de julho a novembro de 2004.	8
Figura 1: Perfil de resistência/ sensibilidade de 17 cepas de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva isoladas de queijo tipo Minas artesanal comercializado em feiras livres na cidade de Uberlândia- MG, 2004.	10

RESUMO

O queijo tipo Minas artesanal é uma variedade nacional amplamente consumida. Muitas vezes, seus produtores não tomam os cuidados necessários quanto à qualidade da matéria-prima ou cuidados higiênico-sanitários, incluindo processamento e comercialização. Em quase totalidade das produções artesanais, são produzidos com leite cru proveniente de animais que não são submetidos a controle sanitário adequado. Além disso, trata-se de um queijo que não possui padrões legais de identidade e qualidade. Foram coletadas 25 amostras de queijo Minas artesanal comercializado em feiras livres de Uberlândia-MG e verificada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, sua correlação com umidade e perfil de resistência/ suscetibilidade frente aos antimicrobianos. Verificou-se que há correlação positiva e significativa entre umidade e UFC g⁻¹ de *Staphylococcus* coagulase positiva. Das 17 cepas isoladas, 70,59% foram resistentes à penicilina, 35,29% à tetraciclina, 17,65% à eritromicina e oxacilina, nenhuma se mostrou resistente à ciprofloxacina e cefalotina e 64,72% das cepas tiveram resistência intermediária à eritromicina. Foi observada também resistência a múltiplos antibióticos: 41,18% apresentaram resistência a 2 deles e 17,65% apresentaram resistência a 3 antibióticos. Conclui-se que é necessária uma padronização desse queijo e um controle quanto às condições higiênico-sanitárias em sua produção, incluindo a utilização de matéria-prima de boa qualidade, uma vez que o produto em más condições de fabricação oferece riscos à Saúde Pública.

Palavras-chave: queijo Minas artesanal, *Staphylococcus* coagulase positiva, resistência, antimicrobianos.

1. INTRODUÇÃO

O queijo tipo Minas artesanal é uma variedade nacional amplamente consumida. Trata-se de um queijo que não possui padrões legais de identidade e qualidade, assim como o queijo Minas Padrão, com o qual possui alguma similaridade. De origem brasileira, é produzido nos mais diversos estados, tendo sua fabricação iniciada no século XIX em Minas Gerais. Trabalho realizado por LONDOÑO et al. (1999), indica que o Minas artesanal possui composição média de 41% a 43,3% de umidade; 33,9% a 62,51% de gordura, 0,49 a 1,52% de ácido láctico e pH variando de 5,19 a 8,99, sendo as variações dependentes do período de maturação do queijo.

Muitas vezes, o Minas artesanal é conhecido por outras denominações, como Minas Curado, ou recebe o nome da região onde é produzido. Os mais conhecidos são os queijos do Serro, de Coalho e Canastra. Como característica comum nas diferentes variedades, são produzidos de forma artesanal e usando leite cru como matéria-prima. Ainda, apresentam um elevado rendimento e um processo de fabricação simples de curto prazo, o que possibilita um rápido retorno do investimento e, conseqüentemente, preços mais acessíveis aos consumidores (ALMEIDA & FRANCO, 2003).

Por ser de fabricação simples, o queijo Minas artesanal é produzido por um grande número de pequenos produtores rurais, que muitas vezes, não tomam os cuidados necessários quanto à qualidade da matéria-prima ou cuidados higiênico-sanitários, tanto na produção quanto na comercialização. Em sua maioria, queijos artesanais são produzidos com leite cru proveniente de animais que não são submetidos à controle sanitário adequado.

O leite utilizado como matéria-prima na fabricação de queijos deve ser pasteurizado para a eliminação dos patógenos e redução da microbiota contaminante. O emprego do leite cru na produção de queijos exige maiores cuidados na manipulação, assepsia adequada dos utensílios, armazenamento em temperaturas adequadas, pessoas treinadas, e que essas sejam sãs e também que este leite seja produzido por um animal sadio e que não esteja em tratamento com antibióticos ou outras drogas que deixem resíduos.

Segundo LOGUERCIO & ALEIXO (2001) quando o queijo Minas é fabricado de forma artesanal, por pessoas não qualificadas, pode ocorrer contaminação por diversos microrganismos, comprometendo tanto a sua qualidade como a segurança da saúde do consumidor. Portanto, é necessário que se estabeleçam boas práticas higiênicas, para prevenir uma possível contaminação ou recontaminação do produto.

O consumo de queijos e outros alimentos contaminados com microrganismos patogênicos representa um risco à Saúde Pública, tendo notável importância e destaque a análise microbiológica dos alimentos, como ferramenta para verificar as condições higiênico-sanitárias desses produtos (ALMEIDA & FRANCO, 2003). Os resultados de análises permitem a intervenção preventiva e a produção de alimentos seguros.

A presença de alguns microrganismos no queijo é indicativo de condições sanitárias impróprias durante a produção, processamento, transporte ou estocagem. Dentre os microrganismos utilizados como bioindicadores de contaminação do leite e de sua manipulação inadequada destaca-se o *Staphylococcus aureus* (SILVA et al., 1997a).

Os estafilococos são cocos Gram positivos, pertencentes à família *Micrococcaceae*, que apresentam forma de cachos de uva. São bactérias anaeróbias facultativas com maior crescimento sob condições aeróbias, quando então produzem catalase. São bactérias mesófilas, capazes de crescer de 7°C a 47,8°C. A espécie *Staphylococcus aureus* está associada mais freqüentemente às doenças estafilocócicas, quer sejam causando intoxicações alimentares ou infecções (PELCZAR et al., 1996).

As células de *Staphylococcus aureus* são termolábeis e desta forma são facilmente eliminadas por processos térmicos como a pasteurização. Entretanto, as enterotoxinas são termoestáveis, resistindo, portanto, às temperaturas utilizadas no processamento de produtos lácteos (FREITAS & MAGALHÃES, 1990). Segundo GERMANO & GERMANO (1995) contagens maiores que 10^5 UFC g⁻¹ em alimentos é capaz de produzir toxinas em quantidade suficiente para causar intoxicações alimentares.

O uso indiscriminado de antibióticos, que ocorre quando o agente etiológico não é identificado, pode favorecer o aparecimento de bactérias multirresistentes. BRITO et al. (2001) associam o agravamento da resistência bacteriana ao uso freqüente e indiscriminado de antibióticos e aos mecanismos de transferência de resistência entre microrganismos. Bactérias multirresistentes em contato com ordenhadores, veterinários, manipuladores e com os equipamentos das indústrias de alimentos podem ser disseminadas aos alimentos e se transformarem em um sério problema de Saúde Pública.

A maioria das amostras de estafilococos tem se tornado resistente a múltiplos antibióticos, incluindo beta-lactâmicos, quinolonas, aminoglicosídeos, macrolídeos, cloranfenicol, mupirocina e outros (CHAMBERS, 1997). Cepas de *Staphylococcus aureus* que possuem resistência a meticilina são também resistentes à nafcilina, cefalosporina, imipenem e outros beta-lactâmicos e são denominadas MRSA (BOYCE, 1992). Entre os métodos recomendados para detectar amostras de MRSA de maneira rápida e segura pelo

National Committee for Clinical Laboratory Standards está o teste de difusão em disco (NCCLS, 1997a; NCCLS, 1997b).

Por ser o queijo Minas amplamente consumido pela população e sua qualidade dependente da microbiota do leite utilizado, passível de falhas durante o processo de fabricação, manipulações, condições de armazenamento e comercialização, este estudo possui como objetivos:

- quantificar *Staphylococcus* sp. em queijos Minas artesanal comercializados em feiras livres da cidade de Uberlândia-MG;
- verificar a relação entre umidade e UFC g⁻¹ de *Staphylococcus* sp. e acidez e UFC g⁻¹ de *Staphylococcus* coagulase positiva;
- verificar a suscetibilidade/resistência das cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas frente aos antimicrobianos;
- verificar, por meio de análise físico-química, como estes queijos podem ser classificados quanto à umidade e desta forma, verificar se estão dentro dos padrões microbiológicos estabelecidos pelo Ministério da Agricultura.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção das Amostras

Para determinar o local e número de amostras coletadas, foi obtido junto a Prefeitura de Uberlândia-MG um mapa contendo todos os pontos cadastrados para venda do queijo Minas nas feiras livres da cidade. Os pontos de venda foram visitados e de cada comerciante foi coletada uma amostra.

Foram visitados 25 pontos de venda, totalizando 25 amostras coletadas, no período de julho a novembro de 2004. As amostras eram adquiridas e transportadas em caixa isotérmica, na própria embalagem em que eram comercializadas, até o Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada na Universidade Federal de Uberlândia.

Informações sobre o local de venda e forma de manipulação do queijo foram observadas e anotadas.

2.2. Análise microbiológica

Foi realizada a quantificação de *Staphylococcus* sp. utilizando o protocolo de análise proposto por SILVA et al. (1997a). Para análise, 25g da amostra foi diluída em 225mL de solução de citrato 2% estéril e submetida a diluições decimais. As diluições eram inoculadas na superfície de placas contendo ágar Baird-Parker (BP) e incubadas a 35°C por 48 horas. Após incubação, as colônias eram contadas e classificadas como típicas (negras com halo de precipitação da lecitinase) e atípicas (outros tipos). Colônias típicas e atípicas foram então submetidas às provas de catalase e coagulase e à coloração diferencial de Gram. Foram consideradas como *Staphylococcus* coagulase positiva as colônias que apresentaram resultados positivos nos três testes. As unidades formadoras de colônias (UFC) foram calculadas de acordo com a diluição e o número de colônias confirmadas.

2.3. Antibiograma

Os isolados identificados como *Staphylococcus* coagulase positiva foram então submetidos à prova de suscetibilidade/resistência a antimicrobianos através do método de difusão em discos (BAUER et al, 1966; NCCLS, 1999). Para isso, as amostras estocadas foram cultivadas em caldo BHI e após o crescimento, repicadas em 3 mL de caldo Müller-Hinton. A suspensão foi incubada a 37°C até atingir a turvação equivalente a 0,5 de escala MacFarland. Com o auxílio de suabe estéril, a cultura foi semeada em placas de ágar Müller-Hinton de modo a obter um crescimento confluyente. Após a secagem, foram adicionados os

discos com os seguintes antimicrobianos e concentrações: penicilina G (10UI), oxacilina (1µg), eritromicina (15µg), tetraciclina (30µg), cefalotina (30µg) e ciprofloxacina (5µg). As placas foram então, incubadas a 37°C por 20 horas (NCCLS, 1999). As zonas de inibição foram medidas em milímetros e o biótipo foi classificado como resistentes, intermediários (sensibilidade parcial) ou suscetíveis ao antibiótico testado (POWER, 1988; NCCLS, 1999).

2.4. Análises físico-químicas

Foram realizadas análises de umidade e acidez. Para a análise da umidade, a metodologia utilizada foi do método gravimétrico conforme recomendação da Association of Official Analytical Chemists (A.O.A.C.,1995) e para a análise da acidez foi usado o Método Ponderal (SILVA et al. 1997b).

2.5. Análise dos dados

Foi realizada correlação entre os resultados das percentagens de ácido láctico e contagem de *Staphylococcus* sp (UFC g⁻¹) e, entre umidade e contagem de *Staphylococcus* sp. Posteriormente foi aplicado o Teste t de Student para verificar a significância dos resultados.

A análise do perfil de resistência/ suscetibilidade foi realizada de forma descritiva e comparados às informações disponíveis na literatura.

3- RESULTADOS E DISCUSSÕES

No momento da coleta, pôde-se verificar que as condições de venda das amostras não eram adequadas, pois as mesmas eram expostas, não havendo preocupação em se evitar o contato com o ambiente. Em apenas duas barracas os queijos eram acondicionados em caixas de vidro. Entretanto, nenhuma amostra estava em ambiente refrigerado. O comerciante manipulava os queijos, frutas, legumes, congelados e outros alimentos diretamente com as mãos, inclusive o dinheiro, sem que estas fossem higienizadas. As facas empregadas nos cortes dos queijos também não sofriam nenhum processo de sanitização. Essas características foram consideradas como causas possíveis de contaminação ou recontaminação dos queijos, e implicando, ainda, contaminação cruzada entre os diferentes alimentos.

Quanto à aparência externa do produto, uma das amostras (1/25), se encontrava parcialmente coberta por uma substância negra não definida. No interior de 8% (2/25) das amostras foram encontrados pêlos de animais.

Durante a coleta, foi observada a ausência de embalagem original e de rótulo indicando origem, composição, data de fabricação e validade em todas as amostras. Das 25 amostras coletadas, 12% (3/25) foram classificadas como queijos de baixa umidade (até 35,9% de umidade), 68% (17/25) como queijos de média umidade (36% a 45,9%) e 20% (5/25) como queijos de alta umidade (46% a 54,9% de umidade). Essa variação pode ocorrer em consequência dos diferentes períodos de maturação em que os queijos se encontravam no momento da coleta. Porém, esses dados não podem ser confirmados, pois os queijos não apresentavam data de fabricação e validade.

A acidez expressa em % de ácido láctico, conforme a classificação quanto à umidade dos queijos, pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1. Acidez (% ácido láctico) em 25 queijos artesanais coletados em feiras livres de Uberlândia-MG, durante os meses de julho a novembro de 2004.

Classificação quanto a umidade	Nº da Amostras	Acidez % ácido láctico	Média (% acidez)
Baixa umidade (até 35,9%)	12	0,4659	0,7720%
	16	0,9318	
	23	0,9318	

Média umidade (de 36% a 45,9%)	1	0,615	
	2	0,7454	
	5	0,5963	
	9	0,9504	
	10	1,1181	
	11	0,3354	
	13	0,8386	
	14	0,9318	
	15	0,8386	0,7585%
	17	0,2423	
	18	0,7641	
	19	0,8386	
	20	0,9318	
	21	0,8945	
	22	0,4100	
24	1,0623		
25	0,7820		
Alta umidade (de 46% a 54,9%)	3	0,8013	
	4	0,5963	
	6	0,7641	0,7566%
	7	0,6336	
	8	0,9877	

A acidez média dos queijos de baixa umidade foi de $0,7720\% \pm 0,2651$; nos queijos de média umidade $0,7585\% \pm 0,2463$ e nos queijos de alta umidade, a média foi de $0,7566\% \pm 0,1551$. Os resultados obtidos concordam com índices médios observados por LONDOÑO et al. (1999), que caracterizando queijos Minas Meia Cura, observou que nessa variedade as porcentagens variam entre 0,49% a 1,52% de ácido láctico.

Todas as 25 amostras analisadas (100%) apresentaram contagens de *Staphylococcus* sp. acima dos permitidos pelos padrões preconizados pela Portaria nº 146/96 (BRASIL, 1996). A contagem média observada foi de $5,0 \times 10^6$ UFC g⁻¹, variando de $2,3 \times 10^4$ UFC g⁻¹ a $>2,5 \times 10^7$ UFC g⁻¹ (Tabela 2).

Tabela 2. Contagem de *Staphylococcus* sp. de acordo com o teor de umidade de queijos Minas artesanal, coletados em feiras livres da cidade de Uberlândia-MG, nos meses de julho a novembro de 2004.

Classificação	Nº da Amostra	Umidade	<i>Staphylococcus</i> sp. UFC g ⁻¹	Padrão ²
Baixa umidade (Até 35,9%)	12	33,67%	5,0x10 ^{4*}	< 10 ³ UFC g ⁻¹
	16	34,53%	4,1x10 ^{5*}	
	23	33,80%	3,4x10 ^{5*}	
Média umidade (36% a 45,9%)	1	45,24%	1,24x10 ^{7*}	<10 ³ UFC g ⁻¹
	2	45,27%	2,7x10 ^{6*}	
	5	40,30%	2,12 x10 ^{7*}	
	9	40,96%	2,05x10 ^{6*}	
	10	40,55%	6,8x10 ^{5*}	
	11	43,39%	3,5x10 ^{5*}	
	13	38,79%	2,0x10 ^{6*}	
	14	37,99%	2,3x10 ^{4*}	
	15	40,55%	3,72x10 ^{5*}	
	17	45,01%	6,8x10 ^{4*}	
	18	36,85%	3,05x10 ^{6*}	
	19	36,83%	1,4x10 ^{5*}	
	20	39,37%	1,12x10 ^{6*}	
21	36,61%	1,43x10 ^{5*}		
22	42,96%	1,12x10 ^{6*}		
24	38,17%	6,4x10 ^{4*}		
25	38,93%	1,13x10 ^{6*}		
Alta umidade (46% a 54,9)	3	47,32%	>2,5x10 ^{7*}	<10 ³ UFC g ⁻¹
	4	50,04%	1,69x10 ^{6*}	
	6	46,67%	1,27x10 ^{7*}	
	7	48,91%	2,18x10 ^{7*}	
	8	47,97%	1,52x10 ^{7*}	

¹ Unidades formadoras de colônias por grama (UFC g⁻¹); ² Portaria nº 146/96.; (*) Contagens acima dos padrões

As altas contagens de *Staphylococcus* sp. observadas no presente trabalho são preocupantes e indicam que o consumo desses queijos pode causar prejuízos à Saúde Pública. Segundo GERMANO & GERMANO (1995), contagens maiores que 10^5 UFC g⁻¹ podem produzir toxinas estafilocócicas em quantidade suficiente para causar intoxicação alimentar.

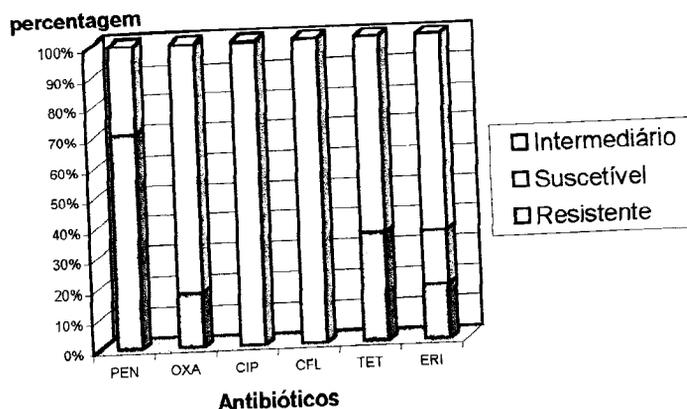
Altas contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos de alta umidade foram verificadas por CAMARA et al (2002), que ao analisar queijos tipo Minas frescal artesanal, comercializados no Mercado Municipal de Campo Grande, MS, obteve contagens acima de 10^6 UFC g⁻¹, chegando a valores superiores a 10^8 UFC g⁻¹.

Quando as percentagens de ácido láctico foram correlacionadas com as contagens de *Staphylococcus* sp. (UFC g⁻¹), o coeficiente de correlação obtido foi negativo (-0,0736), indicando que essas variáveis não são correlacionadas. Porém, quando as contagens foram correlacionadas com a percentagem de umidade, o coeficiente calculado foi de 0,5688 (p<0,05), indicando que quanto maior a umidade, maior a probabilidade de contaminação pelo microrganismo. Esse resultado já era esperado, pois *Staphylococcus*, de modo geral, cresce em alta atividade de água, como no caso de *S. aureus*, em que aw varia de 0,83 a 0,99.

Das 25 amostras adquiridas, foram isoladas 17 cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva. De modo geral, essas cepas se mostraram suscetíveis aos antibióticos testados.

Os testes de suscetibilidade aos antimicrobianos demonstraram que 100% (17/17) das cepas foram suscetíveis à ciprofloxacina e cefalotina, 82,5% (14/17) à oxacilina, 58,82% (10/17) à tetraciclina, 29,41% (5/17) à penicilina e 17,65% (3/17) à eritromicina. Em relação à resistência, 70,59% (12/17) das cepas foram resistentes à penicilina, 35,29% (7/17) à tetraciclina, 17,25% (3/17) à eritromicina e oxacilina e nenhuma cepa resistente à ciprofloxacina e cefalotina. Verificou-se também que 64,72% das cepas tiveram resistência intermediária à eritromicina. (Figura 1).

Figura 1: Perfil de resistência/ sensibilidade de 17 cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva isoladas de queijo tipo Minas artesanal comercializado em feiras livres na cidade de Uberlândia- MG, 2004.



PEN= penicilina (10UI), **OXA**= oxacilina (1µg), **CIP**= ciprofloxacina (5µg), **CFL**= cefalotina (30µg), **TET**= tetraciclina (30µg), **ERI**= eritromicina (15µg). R=resistente, S=suscetível, I=intermediário.

A resistência à penicilina foi observada em 70,59% das cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva. SENA (2000) obteve resultado superior para cepas de *Staphylococcus aureus* isoladas de amostras de queijo tipo coalho (87%). Foram também inferiores aos descritos por RAPINI et al (2004) para cepas de *Staphylococcus coagulase* positiva isolados de queijo tipo coalho. Quando este antibiótico foi introduzido no comércio, em 1940, quase totalidade das cepas de *S. aureus* apresentavam sensibilidade. Com o uso indiscriminado ao longo dos anos, surge o fenômeno da resistência bacteriana (PANLILIO,1992). Esse autor citou que mais de 90% das cepas desse microrganismo apresentavam resistência não apenas à penicilina, mas também a outros beta-lactâmicos.

A resistência à oxacilina e eritromicina foi de 17,65% e à cefalotina 0%. RAPINI et al (2004) observou valores superiores de resistência (60 % a eritromicina e 42,8% a cefalotina e oxacilina).

Foi observada também resistência a múltiplos antibióticos: 41,18% (7/17) apresentaram resistência a 2 deles e 17,65% (3/17) apresentaram resistência a 3 antibióticos. Segundo SENA (2000), a elevada resistência múltipla a antibióticos representa um risco potencial à saúde pública e pode dificultar o tratamento de doenças, agravando quadros clínicos com potencial de cura.

4. CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho realizado permitem concluir que:

- 100% amostras de queijo minas artesanal adquiridos em feiras livres de Uberlândia apresentaram contagens de *Staphylococcus* sp. superiores aos valores permitidos pela legislação, indicando a necessidade de uma orientação sanitária e de controle de qualidade junto a esses produtores.
- A umidade do queijo está correlacionada com a quantidade de *Staphylococcus* sp. presente na amostra: quanto maior a umidade, maior a contagem desse microrganismo.
- A acidez das amostras não está correlacionada à quantidade de *Staphylococcus* sp. presente nos queijos tipo minas artesanal.
- A maioria das cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva (70%) apresentou resistência à penicilina G e resistência intermediária à eritromicina (65%), porém, foram sensíveis a ciprofloxacina e cefalotina (100%), oxacilina (83%), tetraciclina (65%). Além disso foi verificada resistência a múltiplos antibióticos: 35,29% apresentaram resistência a 2 deles e 17,65% apresentaram resistência a 3 antibióticos, o que representa um risco potencial à saúde pública e pode dificultar o tratamento de doenças, agravando quadros clínicos com potencial de cura.
- 12% dos queijos analisados foram classificados como de baixa umidade, 68% média umidade e 20% de alta umidade. Essa variação indica uma falta de padronização e de identidade desse queijo, e a necessidade de se estabelecer esses padrões, já que é um queijo tão consumido pela população brasileira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, P.M.P.; FRANCO, R.M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo minas frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp e coliformes fecais. **Revista Higiene Alimentar**. São Paulo, v.17, n.111, p.79-85, 2003.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 12. ed. Washington, 1995. 1094p.

BAUER, A. W.; KIRB, W. M. M.; SHERRIS, J. C. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.**, v. 45, n.4, p. 493-496, 1966.

BOYCE, J.M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* hospitals and long-term care facilities: microbiology, epidemiology and preventive measures. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, v.13, p.725-737, 1992.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e do Abastecimento**. Portaria nº 146, de 07/03/96. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1996.

BRITO, M.A.V.P.; BRITO, J.R.F.; SILVA, M.A.S.; CARMO, R.A. Concentração mínima inibitória de dez antimicrobianos para amostras de *Staphylococcus aureus* isoladas de infecção intramamária bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n.5, p.531-537, 2001.

CÂMARA, S.A.V.; AMARAL, G.B.; MULLER, M.T.; SILVEIRA, K.C.S.; ALMEIDA, T.N.; MEDEIRO, C.F. Avaliação Microbiológica de queijos minas frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2000. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.16, n.101, p.32-36, 2002.

CHAMBERS, H.F. Methicillin resistance in staphylococci: Molecular and Biochemical Basis and Clinical Implications. **Clinical Microbiology Reviews**, v.10, p881-791, 1997.

FREITAS, M.A.Q.; MAGALHÃES, H. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus aureus* isolados de vacas com mastite. **Revista de Microbiologia**. São Paulo, v.21, n.4, p. 315-319, 1990.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. Higiene do leite: Aspectos gerais das mastites. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.36, n.9, p. 12-16, 1995.

HARMON, R.J.; EBERHART, R.J.; JASPER, D.E. et. al. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection. Arlington: National Mastitis Council, 1990. 34p.

KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T.L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. Manual of Clinical Microbiology. In: Murray, P.R.; Baron, E.J.; Tenover, F.C. & Tenover, R.H. Washington, D.C. ASM Press, p. 282-298, 1995.

LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G. Microbiologia de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**. Santa Maria, vol.31, n.6. 2001. Disponível em : http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782001000600024&lng=es&nrm=isso&tlng=pt.. Acesso em: 17 de maio de 2004.

LONDOÑO, M.M.D.; FURTADO, M.M.; ABREU, L.R. Determinação das características de fabricação, padrões físico-químicos e sensoriais do queijo minas meia cura. **Revista Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Jan/Fev, n. 306, 54, p.11-16, 1999.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY PERFORMANCE STANDARDS. Antimicrobial disk susceptibility tests. Approved Standard M2-A5 NCCLS, Vilanova, PA. 1999.

NCCLS, NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY PERFORMANCE STANDARDS. Performance Standards for antimicrobial Disk Susceptibility Tests, v. 17, n.01, 1997a.

NCCLS, NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY PERFORMANCE STANDARDS. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That grow Aerobically, v.17, n.02, 1997b.

PANLILIO, A.L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. hospitals, 1975-1991. **Infect. Control Hospital Epidemiology**. v.13, p.582-586, 1992.

POWER, D.A.; McCUEN, P.J. Manual of BBL Products and Laboratory Procedures. 6^aed. Becton Dickinson Microbiology Systems. Cockeysville. 1988.

RAPINI, L.S.; TEIXEIRA, J.P.; MARTINS, N.E.; CERQUEIRA, M.M.O.P.; SOUZA, M.R.; PENNA, C.F.A.M. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.56, n.1, p.130-136, 2004.

SENA, M.J. Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolado de queijos coalho comercializados em Recife/PE. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 75p. 2000.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.A.C.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997a.295p.

SILVA, P.H.F.; PEREIRA, D.B.C.; OLIVEIRA, L.L.; COSTA, L.C.G. **Físico-Química do leite e derivados – Métodos Analíticos**. Juiz de Fora: Oficina de impressão Gráfica e editora ltda. 1997b. 190p.

PELCZAR Jr., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R. **Microbiologia**. 2^a ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 1071p.

TALAN, D.A.; GOLDSTEIN, E.J. STAATZ, D. OVERTURF, G.D. *Staphylococcus intermedius* in canine gingival and canine-inflicted human wound infections: laboratory characterizatiton of a newly recorgized zoonotic pathogen. **Journal of Clinical Microbiology**. 27:28, 1989.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L **Microbiologia**. 6^aed. Porto Alegre: Artmed Editora. 2002. 827p.