

Ocorrência e perfil de suscetibilidade aos antibióticos de micro-organismos isolados de cortes de carne bovina

Michelle Aparecida Alcântara
Igor Renan Honorato Gatto
Dora Inés Kozusny-Andreani

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a ocorrência e o perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de micro-organismos isolados de cortes de carne *in natura*. Foram avaliadas 90 amostras de carne, exposta ao consumo, as quais foram adquiridas em supermercados e açougues, nos quais foi verificado o sistema de armazenamento, a higiene do local, dos utensílios e dos equipamentos. Nos procedimentos microbiológicos foram avaliados coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*, pesquisa para *Salmonella spp.*, contagem de *Staphylococcus aureus*. Os micro-organismos isolados foram avaliados quanto à resistência aos antimicrobianos. A resistência foi comprovada medindo-se os halos de inibição nos testes de difusão em disco. Foi possível observar que a maioria dos locais de venda não estava de acordo com a legislação. Foram isolados coliformes totais e coliformes fecais em 73,33% das amostras de carne, com confirmação de *Escherichia coli* em 55,55%, enquanto que *Salmonella spp* foi isolada em 27,77%, *Staphylococcus aureus* em 93,34% e *Klebsiella sp* em 3,33% das amostras. Verificou-se, por meio do teste de sensibilidade a antibióticos, que todas as cepas bacterianas isoladas foram multidrogas resistentes. Os resultados obtidos revelaram que a maioria da carne bovina comercializada *in natura* não estava apta para o consumo humano por encontrar-se fora dos padrões exigidos pela legislação vigente, acarretando riscos à população humana.

Palavras-chave: Carne bovina. Coliformes. *Salmonella*. *Staphylococcus aureus*.

Profile and occurrence of antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from beef cuts

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the occurrence and antibiotic sensitivity profile of microorganisms isolated from fresh beef cuts. We evaluated 90 samples of meat exposed to the consumer, which were purchased in supermarkets and butcheries, which has been found in the storage system, looking for hygiene of the place and devices. In microbiological procedures

Michelle Aparecida Alcântara é Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo), campus Fernandópolis, SP. Bolsista do Programa de Iniciação Científica da Unicastelo.

Igor Renan Honorato Gatto é Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo), campus Fernandópolis, SP.

Dora Inés Kozusny-Andreani é Profa. Dra. do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Camilo Castelo Branco (Unicastelo), campus Fernandópolis, SP, Laboratório de Microbiologia.

Endereço para correspondência: Rua Luiz Pezatti, 399, Jd. Rio Grande. CEP 15600-000. Fernandópolis/SP. E-mail: doraines@terra.com.br

were assessed total coliforms, fecal coliforms and *Escherichia coli*, search for *Salmonella* spp. and *Staphylococcus aureus*. The micro-organisms isolated were evaluated for resistance to antibiotics. The resistance of the microorganisms has been set or not by the formation of the zone of growth inhibition around the antibiotic disks. It was observed that most of the butcheries were not in accordance with the regulations in law. We isolated total coliforms and fecal coliforms in 73.33% of meat samples, with confirmation of *Escherichia coli* in 55.55%, while *Salmonella* was isolated in 27.77%, *Staphylococcus aureus* in 93.34% and *Klebsiella* sp in 3.33% of the samples. It was found through the test sensitivity to antibiotics, that all the bacterial strains isolated were multi-drug resistant. The results showed that the majority of beef meat sold was not in good condition, leading to a risk to public health.

Keywords: Beef. Coliforms. *Salmonella*. *Staphylococcus aureus*.

INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) tem sido foco de discussões nos últimos anos, devido à preocupação mundial com as estratégias que permitam seu controle e, conseqüentemente, garantam a colocação de produtos seguros no mercado consumidor (SHINOHARA et al., 2008). A contaminação de carne e seus derivados por micro-organismos patogênicos representa risco à saúde pública (MEAD, 2004), e o impacto econômico negativo causado pela DTAs é preocupante devido às conseqüências e perdas no âmbito industrial, turístico e social (NASCIMENTO, 2000).

A carne e os seus derivados apresentam características intrínsecas que favorecem o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos, podendo ser transmitidos à população humana. Diversos trabalhos científicos relatam o envolvimento de bactérias dos gêneros *Samonella*, *Staphylococcus* e *Escherichia coli* em surtos de enfermidades de origem alimentar em humanos (MANTILLA et al., 2007; SILVA et al., 2007; DIAS et al.; 2008; WELKER et al., 2010).

A carne bovina em cortes e moída *in natura* tem sido reconhecida como fonte primária de infecção quando manipulada de forma incorreta, acarretando graves conseqüências à saúde dos consumidores assim como aos manipuladores. A contaminação da carne por micro-organismos provém do próprio animal ou pode ser transmitida durante o processo de abate ou dos processos tecnológicos (ALMEIDA et al., 2010).

A carne, por apresentar alta atividade de água e por ser rica em substâncias nitrogenadas, minerais, fatores de crescimento e pH próximo a 5,6, torna-se um meio favorável para o desenvolvimento de diversos micro-organismos (GIL, 2000). No entanto, esses micro-organismos necessitam de condições favoráveis para a sua proliferação, destacando-se a temperatura, o fracionamento da carne que envolve intensa manipulação, que aumentam o risco de contaminação devido à contaminação cruzada, mãos e utensílios mal higienizados, assim como a transferência dos contaminantes da parte externa da carne para parte interna. O transporte pode ser considerado um fator importante de contaminação e proliferação dos micro-organismos quando o tempo transcorrido entre o embarque e o destino final é longo, podendo ocasionar descongelamento lento, expondo o alimento ao

risco de contaminação microbiana (MCCABE-SLLERS; BEATTIE, 2004; NØRRUNG; BUNCIC, 2008).

A Análise de Risco Microbiológico, ferramenta importante para gestão de segurança alimentar, surgiu como consequência da necessidade de se uniformizar a gestão de riscos associados com a segurança de alimentos, focando o perigo microbiológico em particular, em determinado tipo de alimento para um consumidor específico (OLIVEIRA; FRANCO, 2003).

Para avaliação da qualidade sanitária de alimentos e para apontar os riscos de contaminação de origem fecal são utilizados micro-organismos indicadores, destacando-se os coliformes e *Salmonella* (FRANCO; LANDGRAF, 2006). Os coliformes totais constituem um grupo de bactérias Gram-negativas, não esporuladas pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. A presença destas bactérias evidencia maior probabilidade que o alimento tenha entrado em contato com material de origem fecal. A espécie *Escherichia coli*, originária do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente é isolada com maior frequência em alimentos, razão pela qual é considerada indicador de contaminação fecal (SILVA et al., 2007).

O gênero *Salmonella* é um bacilo Gram-negativo, não esporogênico, anaeróbio facultativo, amplamente distribuído na natureza, sendo o homem e os animais os principais reservatórios (QUINN et al., 2005). Sua presença em alimentos torna estes impróprios para o consumo, sendo a doença (salmonelose) geralmente contraída pelo consumo de alimentos contaminados de origem animal, principalmente a carne bovina, a carne de aves, os ovos e o leite (SILVA et al., 2007).

Staphylococcus aureus são cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, coagulase e catalase positivos, beta hemolíticos. É um dos agentes responsáveis por surtos de intoxicação alimentar, provocada pelas enterotoxinas formadas quando ocorre a multiplicação das células (STANFORD, 2006; SILVA et al., 2007). Estão amplamente difundidos na natureza e fazem parte da microbiota normal da pele e mucosa de mamíferos e aves sendo a cavidade nasal o principal hábitat no homem (TORTORA et al., 2012). Os portadores nasais e os manipuladores de alimentos com as mãos e braços que apresentem feridas infectadas com *S. aureus* são importantes fontes de contaminação do alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2006).

A contaminação de alimentos com bactérias resistentes a antibióticos deve ser analisada com maior rigor na saúde pública, principalmente porque a resistência a antibióticos pode ser transferida de uma bactéria para outra bactéria patogênica, comprometendo o tratamento de doenças infecciosas (ADESIJI et al., 2011). A prevalência de patógenos resistentes a antimicrobianos, isolados de alimentos, tem aumentado nas últimas décadas. Este incremento pode ser atribuído à pressão de seleção induzida pelo uso de antimicrobianos na criação de animais para produção de alimentos e ao consumo indiscriminado de antibióticos por humanos (VAN DEN BOGAARD; STOBBERING, 2000; VAN et al., 2007). Em função ao exposto o presente trabalho objetivou avaliar ocorrência e perfil de sensibilidade aos antimicrobianos de micro-organismos isolados de cortes de carne bovina comercializada na região de Fernandópolis e Jales, SP.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia, da Unicastelo, Campus Fernandópolis. Foram utilizadas neste trabalho 90 amostras de carne bovina (músculo), exposto ao consumo, as quais foram adquiridas em 30 postos de venda (supermercados e açougues) das regiões de Jales e Fernandópolis, SP.

Cada amostra de carne constituída de frações de 300g foi depositada em caixa plástica esterilizada, a qual foi acondicionada em recipiente isotérmico contendo gelo e em seguida, o material foi transportado ao Laboratório para realização das análises microbiológicas. Determinou-se o número mais provável (NMP) de coliformes totais, fecais e *Escherichia coli*, pesquisa para *Salmonella*, *Klebsiella* e *Staphylococcus* coagulase positiva, seguindo a metodologia de análise microbiológica para alimentos (BRASIL, 2001).

De cada amostra foram colhidos assepticamente 25g, e transferidos para 225 mL de água salina peptonada a 0,1% (DIFCO) estéril e colocados em homogeneizadores esterilizados. Esta diluição correspondeu a uma proporção de 1:10, ou seja, 10g do homogeneizado continha um grama da amostra. A partir da diluição inicial, a diluição 1:100 foi retirando-se 1 mL da diluição inicial para 9,0 mL do diluente (água salina peptonada 0,1%); a diluição 1:1000 foi preparada retirando-se 1mL da diluição 1:100 para 9mL do diluente, observando-se sempre o uso do mesmo diluente. Estas diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} até 10^{-6} foram usadas para posterior procedimento microbiológico.

Para contagem de coliformes totais, fecais e *Escherichia coli* foi empregado o método clássico do Número Mais Provável (NMP) descrito por Silva et al (2007). As amostras de carne diluídas em água peptonada (0,1%) foram submetidas a teste presuntivo: três alíquotas de três diluições foram inoculadas em uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluição. O LST contem lactose e a observação de crescimento com produção de gás a partir da lactose, após 24-48h de incubação a 35° C, é considerada suspeita (presuntiva).

Para a confirmação dos coliformes totais e fecais, uma alçada de cada tubo suspeito (formação de gás) foi transferida para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e Caldo *Escherichia coli* (EC), meios seletivos que contem lactose. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos VB, após 24 a 48h de incubação a 35° C, foi considerada confirmativa de coliformes totais. Crescimento com produção nos tubos EC, após 24h de incubação a 45,5° C, foi considerada confirmativa da presença de coliformes fecais.

Os tubos de EC positivos para coliformes fecais foram considerados suspeitos da presença de *E. coli*. Para confirmação uma alçada de cada tubo foi estriada em Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB), meio seletivo diferencial para distinguir *E. coli* dos demais coliformes fecais. Quando se observou desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* (colônias com brilho metálico ou pretas) duas colônias foram isoladas para as provas bioquímicas de indol, vermelho de metila (VM), Voges Proskauer (VP) e citrato (método denominado IMViC).

Para pesquisa de *Salmonella* spp. a amostra contida na água salina peptonada foi incubada a 37°C/24 horas e estas amostras transferidas para dois diferentes caldos de enriquecimento seletivo, Rappaport-Vassiliadis (DIFCO) e Tetrionato-Novobiocina (DIFCO), incubados a 37 e 42°C/24 horas. Cada amostra foi semeada em placas de Petri com Ágar Verde Brilhante (Oxoid) e em Ágar Hektoen (Oxoid), e incubadas por 24 horas a 37°C. As colônias típicas obtidas nas placas foram confirmadas por meio do Sistema API20.

A presença de *Staphylococcus aureus* foi analisada pelo método de contagem direta em placas como descrito por Silva et al. (2007), utilizou-se o meio Agar Baird-Parker (BP). Pela técnica de semeadura em superfície, alíquotas de 0,1mL das diluições 10^{-1} a 10^{-6} foram distribuídas em placas contendo meio de cultura, espalhadas em toda a superfície de forma uniforme até total absorção. A seguir, foram incubadas a 35° C por 24-48h. Foram contadas as colônias típicas que são circulares com 2-3mm de diâmetro, pretas ou cinzas escuras, lisas, convexas com bordas perfeitas, massa de células esbranquiçadas nas bordas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente.

Para confirmação das colônias típicas foram selecionadas 5 colônias para o teste da coagulase. Cada colônia foi transferida para tubos de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), as células foram perfeitamente homogeneizadas com o caldo e uma alçada de cada tubo de BHI foi transferida para tubos com Agar Trypticase Soya (TSA) inclinados. Os tubos foram incubados 35° C por 24h. Os tubos de TSA foram utilizados para teste da catalase e reservados também, para possíveis testes adicionais, enquanto que os tubos de BHI foram empregados para o teste de coagulase. Os testes de catalase e coagulase foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Cappuccino e Sherman (1996).

Para o teste de suscetibilidade aos antimicrobianos utilizou-se a técnica de difusão em agar descrita por Bauer et al. (1966). Foram utilizados para esta avaliação os antibióticos trimetoprim (tri), neomicina (neo), ampicilina (amp), enrofloxacina (enr), cefotaxime (cef), amicacina (ami), clindamicina (cli), ciprofloxacina (cip) canamicina (can), sulfazotrim (sul), estreptomicina (stp), cloranfenicol (clo). Para a confecção do antibiograma os micro-organismos foram cultivados em meio caldo nutritivo, a uma temperatura de 35°C e por um período de 24 horas. Placas de Petri contendo meio Muller-Hinton (OXOID®) foram inoculadas de forma homogênea com 0,1mL da cada cultura, contendo 10^9 UFC mL⁻¹. Posteriormente, foram distribuídos os discos contendo os respectivos antimicrobianos e as placas de Petri foram incubadas a 35°C por 18 horas, quando a sensibilidade aos antibióticos foi lida e interpretada de acordo com as recomendações da National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2005). Foram consideradas estirpes multirresistentes aquelas que apresentaram resistência a 5 ou mais antibióticos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos aspectos gerais do ambiente dos locais de comercialização da carne, verificou-se desorganização e falta de higiene em 53,33% dos locais amostrados, não havia pia específica para higienização das mãos com sabonete bactericidas e papel toalha. Em 6 destes locais os funcionários manipularam a carne e dinheiro ao mesmo tempo.

Quanto ao uso da vestimenta, na maioria dos casos não foi possível observar o tipo de calçado utilizado; por esta razão, estes dados não são apresentados. Foi possível observar que 66,66% dos funcionários apresentaram vestimentas limpas e proteção nos cabelos, 10% usando cabelos compridos e sem proteção. Cabelos curtos foram verificados em 23,34%, dos quais 50% com uso de boné, e o restante sem proteção.

Foi observado também que dos comerciantes que não usavam luvas, alguns portavam unhas compridas e esmaltadas e uso de anéis. Utilização de luvas de procedimento e máscaras pelos funcionários foi observada em 83,33% dos locais avaliados, no entanto, na maioria verificou-se que as luvas não eram trocadas periodicamente, apresentando aspecto sujo. Segundo Boulos e Bunho (1999), as luvas, quando utilizadas, devem ser mantidas sempre limpas e em perfeitas condições sanitárias para evitar os riscos de contaminação do alimento. Quanto ao uso de luvas, existem controvérsias sobre a sua eficácia com relação à higiene de alimentos; elas funcionam como uma barreira física, estando sujeitas a rompimentos, e podem facilitar o crescimento de micro-organismos na pele devido a cobrirem as mãos e manterem a umidade e os nutrientes facilitando o desenvolvimento dos agentes microbianos (RODRIGUES et al., 2003).

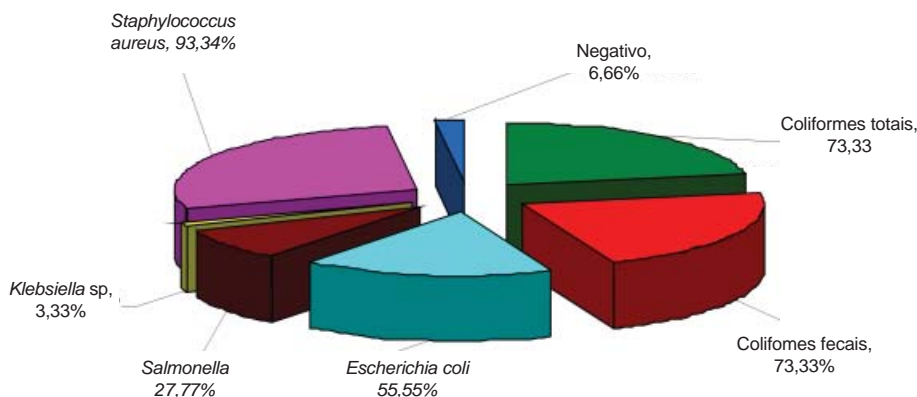
A carne em todos os locais era mantida sob refrigeração; no entanto, em 50% dos locais de venda os refrigeradores eram compartilhados com outros alimentos crus ou processados. O uso de utensílios adequados foi observado em 100% dos locais, porém superfícies de corte e facas encontravam-se mal conservadas e sujas em 83,33% das observações. De modo geral foi observado que utensílios e equipamentos utilizados pelos comerciantes estavam em conformidade com a legislação, porém invariavelmente estes se encontravam mal conservados e/ou sujos, potencializando o risco de contaminação. Frente aos aspectos verificados nos diferentes locais de comercialização de carne foi possível prever que a qualidade final da carne estaria comprometida devido às condições higiênico-sanitárias precárias encontradas. Lundgren et al. (2009) afirma que a falta de higiene dos utensílios e equipamentos leva à contaminação dos alimentos, alterando a sua qualidade e gerando riscos à saúde das pessoas que irão consumir esse alimento.

Dentre as 90 amostras analisadas, 73,33% (66 amostras) continham micro-organismos indicadores, potencialmente patogênicos (Figura 1, Tabela 1). Em 73,33% das amostras foram encontrados coliformes totais e fecais. Do total de amostras analisadas foi confirmada, por provas bioquímicas, presença de *Escherichia coli* em 50 das amostras, totalizando 55,55%. Resultados semelhantes foram obtidos por Lundgren et al. (2009) quando avaliaram os aspectos sanitários da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa (PB). Estes autores verificaram presença de coliformes totais e fecais em 100% das amostras. Em 70% das amostras os coliformes

fecais apresentaram valores superiores a $2,4 \times 10^3$ NMP g^{-1} , com confirmação de *E. coli* em 60% das amostras. Costa et al. (2000) avaliaram 30 amostras de carne bovina comercializada em diferentes pontos de venda da cidade de São Luis (MA) e verificaram que 100% continham coliformes, dos quais 90% eram coliformes fecais, sendo que o maior número de amostras contaminadas foi observado em feiras livres e, menor nos supermercados.

Segundo Silva et al. (2007), fazem parte do grupo de coliformes os gêneros *E. coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras. Em 3 amostras de carne, positivas para coliformes totais, foi identificada a presença de *Klebsiella* sp.

FIGURA 1 – Porcentagem de amostras contaminadas com coliformes totais, coliformes fecais, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus aureus* isoladas de carne bovina comercializada na região de Fernandópolis e Jales, SP.



Pelos dados da Tabela 1 e Figura 1, das 90 amostras de carne avaliadas, 25 amostras (27,77%) estavam contaminadas por *Salmonella* sp, as contagens variaram de $1,2 \times 10^1$ a $2,5 \times 10^4$ UFC g^{-1} . Estes resultados são similares aos obtidos por Almeida et al. (2010), que isolaram *Salmonella* em 25% das amostras de acém bovino comercializado em estabelecimentos do município do Rio de Janeiro, enquanto Lundgren et al. (2009) e Adesiji et al. (2011) não detectaram a presença desta bactéria em nenhuma das amostras analisadas. Verificou-se que das 25 amostras que estavam contaminadas com *Salmonella*, 9 apresentaram contaminação conjunta com *Escherichia coli* (Figura 2). Estes resultados sugerem que as carnes podem ter sido contaminadas devido às condições higiênico-sanitárias inadequadas dos locais de comercialização, de armazenamento assim como dos manipuladores.

TABELA 1 – Contagens de coliformes totais, coliformes fecais, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Klebsiella* sp e *Staphylococcus aureus* isolados de carne bovina *in natura*.

Micro-organismos	Contagens	Número de amostras	%
	3,8 x 10 ⁷	30	33,33
Coliformes totais (NMP g⁻¹)	4,5 x 10 ⁶	25	27,78
	2,1 x 10 ³	6	6,67
	5,4 x 10 ¹	5	5,55
Coliformes fecais (NMP g⁻¹)	3,2 x 10 ⁶	55	61,1
	1,0 x 10 ⁴	11	12,23
	3,8 x 10 ⁷	10	11,11
<i>Escherichia coli</i> (NMPm g⁻¹)	5,2 x 10 ⁶	25	27,78
	2,3 x 10 ³	10	11,11
	1,1 x 10 ¹	5	5,55
	2,5 x 10 ⁴	15	16,67
<i>Salmonella</i> spp (UFC g⁻¹)	3,4 x 10 ²	5	5,55
	1,2 x 10 ¹	5	5,55
	2,4 x 10 ²	3	3,33
<i>Klebsiella</i> sp (UFC g⁻¹)	2,4 x 10 ²	3	3,33
<i>Staphylococcus aureus</i> (UFC g⁻¹)	1,8 x 10 ⁶	81	90,01
	3,2 x 10 ⁵	3	3,33
Amostras negativas	-----	6	6,66

NMP: número mais provável; UFC: unidade formadora de colônias.

De acordo com a Resolução RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001) que determina ausência de *Salmonella* em 25 gramas de produto analisado, é possível afirmar que 25 amostras de carne avaliadas não estavam de acordo com a Lei, e em função dos valores de contagem elevados (1,2 x 10 a 2,5 x 10⁴ UFC g⁻¹) são impróprias para consumo, constituindo-se em fatores de risco para saúde pública.

FIGURA 2 – Colônias de *Salmonella* spp (preta com borda branca) e *Escherichia coli* (rosa), cultivadas em meio Ágar Hektoen, isoladas de carne bovina (músculo).



Em 93,34% das amostras analisadas foi detectada a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, as contagens foram elevadas, variaram entre $3,2 \times 10^5$ e $1,8 \times 10^6$. A utilização de métodos bioquímicos permitiu identificar como *S. aureus*. Em pesquisas realizadas por Lundgren et al. (2009) e Adesiji et al. (2011), foi verificado que 100% das mostras de carne avaliadas estavam contaminadas por *S. aureus*. A contagem elevada de *S. aureus* pode estar associada à contaminação por manipulação inadequada, falta de controle higiênico-sanitário nos equipamentos, utensílios e superfícies de trabalho (SILVA et al., 2007; ADESIJI et al., 2011). O manipulador de alimentos pode ser considerado em uma fonte importante de contaminação por *S. aureus*, já que este micro-organismo faz parte da microbiota normal de mãos, fossas nasais e pele de humanos (TORTORA et al., 2012).

O perfil microbiológico observado nas amostras de carne (músculo) permite afirmar que a maioria dos estabelecimentos que comercializam carne *in natura* não apresentam boas condições de higiene, exceto 6 amostras (6,66%), provenientes de dois supermercados não estavam contaminadas com nenhum dos micro-organismos isolados. Estes resultados demonstram a necessidade de busca de métodos eficientes de controle higiênico-sanitário nos estabelecimentos assim como de programas educativos direcionados aos manipuladores de alimentos e dos consumidores.

O perfil de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella* sp, isoladas de carne bovina *in natura*, obtidos pelo teste de sensibilidade esta representado na Tabela 2.

TABELA 2 – Percentagem de resistência aos antimicrobianos de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *Klebsiella* sp. isoladas de carne bovina *in natura*.

Antibióticos	Porcentagem de cepas resistentes			
	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Klebsiella</i>
Trimetoprim	0	10	25	25
Neomicina	10	10	25	25
Ampicilina	100	100	50	0
Enrofloxacina	10	0	50	25
Cefotaxime	50	25	45	0
Amicacina	25	95	100	100
Vancomicina	10	0	50	50
Clindamicina	100	90	75	25
Ciprofloxacina	40	40	50	0
Canamicina	100	80	50	25
Sulfazotrim	70	75	75	50
Estreptomicina	25	0	100	0
Cloranfenicol	100	60	25	0

Verificou-se que as cepas bacterianas apresentaram ampla resistência, 100% dos isolados de *E. coli* foram resistentes a ampicilina, clindamicina, canamicina e cloranfenicol, enquanto que 100% de *Salmonella* spp apresentaram resistência a ampicilina, para os demais antibióticos ambos os gêneros de bactérias apresentaram padrões variados. No entanto 100% de *E. coli* foram suscetíveis a trimetoprim, enquanto *Salmonella* apresentou suscetibilidade a enrofloxacina e estreptomicina.

Todos os isolados de *Klebsiella* sp foram sensíveis à ampicilina, cefotaxime, ciprofloxacina, cloranfenicol e estreptomicina, no entanto 100% das cepas foram resistentes a amicacina. Em *S. aureus* verificou-se multirresistência, a porcentagem de resistência variou ente 25 a 100%.

A ampla resistência das duas espécies bacterianas (*E. coli* e *Salmonella* sp), verificadas neste trabalho, são preocupantes. Sabe-se que a resistência aos antibióticos pode ou não ter origem genética. A resistência genética, na maioria dos micro-organismos resistentes, ocorre em decorrência de alterações no genoma e de processos subsequentes de seleção. A resistência não genética se deve a replicação ativa das bactérias, a qual é geralmente necessária para a maior parte das ações dos agentes antimicrobianos, por esta razão os micro-organismos que estão inativos são resistentes, porém a sua descendência é suscetível (QUINN et al., 2005).

A aquisição de resistência a múltiplos agentes antimicrobianos por uma bactéria está se tornando cada vez mais comum. A produção de cepas multidrogas resistentes (MDR) mediante aquisição de múltiplos genes ocorre em etapas sequenciais de transferência de genes e seleção ambiental em áreas de elevada utilização de agentes antimicrobianos (SILVA; NEUFELD, 2006). O desenvolvimento de resistência a antimicrobianos de bactérias patogênicas que contaminam alimentos de origem animal constituem risco à saúde pública, e os resultados obtidos neste trabalho reforçam a necessidade de controle sobre o uso de antibióticos no tratamento de doenças em animais e humanos.

CONCLUSÕES

Nas condições em que foi desenvolvido este trabalho e pelos resultados obtidos, pode-se concluir:

- a maioria dos estabelecimentos não estava de acordo com as normas da legislação;
- da maioria das amostras foram isolados coliformes totais e coliformes fecais (73,33%), com confirmação de *Escherichia coli* em 55,55% das amostras;
- *Salmonella* spp foi isolada em 27,77%, *Staphylococcus aureus* em 93,34% e *Klebsiella* sp em 3,33% das amostras;
- todas as cepas bacterianas isoladas foram multidrogas resistentes;
- a maioria da carne bovina comercializada *in natura* não estava apta para o consumo humano por encontrar-se fora dos padrões exigidos pela legislação, acarretando risco à saúde pública.

AGRADECIMENTOS

À UNICASTELO, pela concessão da bolsa PIBIC.

REFERÊNCIAS

- ADESIJI, Y. O.; ALLI, O. T.; ADEKANLE, M. A.; JOLAYEMI, J. B. Prevalence of *Arcobacter*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* species in retail raw chicken, pork, beef and goat meat in Osogo, Nigéria. *Sierra Leone Journal of Biomedical Research*, v.3, n. 1, p.6-12, 2011.
- ALMEIDA, A. C.; SOUZA, R. M.; PINHO, L.; SOBRINHO, E. M.; SILVA, B. C. M. Determinação de perigos microbiológicos em carnes bovinas resfriadas provenientes de abates clandestinos e comércio ilegal. *Acta Veterinária Brasileira*. v.4, n.4, p.278-285, 2010.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCH, M. Antibiotic testing by standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.

BOULOS, M. E. M. S.; BUNHO, R. M. *Guia de leis e normas para profissionais e empresas da área de alimentos*. São Paulo: Varela, 1999, 200p.

BRASIL. Leis e Decretos, etc. Resolução RDC n.12 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 jan. 2001.

CAPPUCCINO, J. G.; SHERMAN, N. *Microbiology. A laboratory Manual*. 4.ed. The Benjamin/CCummings Publishing Company, Inc., 1996, 477p.

DIAS, P. A.; CONCEIÇÃO, R. C. S.; COELHO, F. J. O.; TEJADA, T. S.; SEGATTO, M.; TIMM, C. D. Qualidade higiênico sanitária de carne bovina moída e de embutidos frescos comercializados no sul do Rio Grande do Sul Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.75, n.3, p.359-363, 2008.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. *Microbiologia de alimentos*. São Paulo: Atheneu, 2006. 182p.

GIL, J. A. S. I. *Manual de inspeção sanitária de carnes*. 2.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2000. 485p.

LUNDGREN, P. U.; SILVA, J. A.; MACIEL, J. F.; FERNANDES, T. M. Perfil da qualidade higiênico-sanitária da carne bovina comercializada em feiras livres e mercados públicos de João Pessoa/Paraíba-Brasil. *Alimentos e Nutrição*, v.20, n.1, p.113-119, 2009.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T.; SANTOS, E. B.; GOUVÊA, R. Importância da *Listeria monocytogenes* em alimentos de origem animal. *Revista FZVA*, v.14, n.1, p.180-192, 2007.

MCCABE-SELLERS, B. J.; BEATTIE, S. E. Food Safety: Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. *Journal of American Dietetic Association*, v.1004, p.1708-1717, 2004.

MEAD, G. C. Microbiological quality of poultry meat: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science*, v.6, n.3, p.135-142, 2004.

NASCIMENTO, F. C. A. Aspectos socioeconômicos das doenças veiculadas pelos alimentos. *Nutrição em Pauta*, v.40, p. 22-26, 2000.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS (NCCLS). *Performance standards for antimicrobial disk susceptibility* (Approved Standards, M2-A4) Villanova, 2005; PA National Committee for Clinical Laboratory Standards.

NØRRUNG, B.; BUNCIC, S. Microbial safety of meat in European Union. *Meat Science*, v.22, n.3, p.263-271, 2008.

OLIVEIRA, F. S.; FRANCO, B. D. G. A. Nova ferramenta para gestão de segurança alimentar. *Higiene Alimentar*, v.17, p.14-20, 2003.

QUINN, P. J. MARKEY, B. K.; CARTER M. E.; DONNELLY, W. J., LEONARD. F. C. *Microbiologia Veterinária e Doenças Infeciosas*. Porto Alegre: Artmed, 2005.512p.

RODRIGUES, K. L.; GOMES, L. P.; CONCEIÇÃO, R. C. dos S.; BROD, C. S.; CARVALHL, J. B., ALEIXO, J. A. G. Condições higiênico-sanitárias no comércio ambulante de alimentos em Pelotas/RS. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.23, n.3, p.447-452, 2003.

SHINOHARA, K. S.; BARROS, V. B.; JIMENEZ, S. M. C.; MACHADO, E. C. L.; DUTRA, R. A. F.; LIMA FILHO, J. L. *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado por alimentos. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.13, n.5, p.1675-1683, 2008.

SILVA, C. H. P. M.; NEUFELD, P. M. *Bacteriologia e micologia para laboratório clínico*. Rio de Janeiro: Livraria e editora Revinter Ltda., 2006. 497p.

SILVA, N. da; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; SANTOS, R. F. S.; GOMES, R. A. R. *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos*. São Paulo: Varela, 2007. 536p.

STANFORD, T. L. M.; SILVA, C. G. M.; MOTA, R. A. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp isolados de leite in natura. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.26, p.41-45, 2006.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. *Microbiologia*. 10.ed. Porto Alegre: Artmed, 2012. 934p.

VAN DEN BOGAARD, A. E.; STOBBERING, E. E. Epidemiology of resistance to antibiotic: links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, v.14, p.327-335, 2000.

VAN, T. H.; MOUTAFIS, G.; COLE, P. J. Antibiotic resistance in food-borne bacterial contaminants in Vietnam. *Applied Environmental Microbiology*, v.73, n.24, p.7906-7911, 2007.

WELKER, C. A. D.; BOTH, J. M. C.; LONGARAY, S. M.; HAAS; SOEIRO, M. L. T.; RAMOS, R. C. Análise microbiológica de alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA) ocorridos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, v.8, n.1, p.44-48, 2010.

Recebido em: dez. 2012

Aceito em: abr. 2013