

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE LEITES PASTEURIZADOS COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DE MONTE CARMELO, MINAS GERAIS

Júlio César Mendonça Resende ¹

Laryssa Freitas Ribeiro²

Denise Dias Alves Cocco³

Cássio Resende de Moraes⁴

RESUMO

O presente estudo avaliou a qualidade microbiológica de amostras de leite pasteurizado e o perfil de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli*. Quatro amostras adquiridas em supermercados de Minas Gerais foram analisadas quanto à presença de *E. coli*, seguida de testes de sensibilidade a antimicrobianos por difusão em disco. Duas amostras apresentaram crescimento bacteriano. Todos os isolados foram sensíveis à ciprofloxacina, tetraciclina, cloranfenicol e amoxicilina/ácido clavulânico, enquanto resistência à ampicilina foi observada em alguns isolados, evidenciando diversidade de resistência intraespécie. Os resultados destacam a necessidade de Boas Práticas de Fabricação (BPF), monitoramento contínuo da higiene e uso racional de antimicrobianos, considerando os riscos à saúde pública e a disseminação potencial de genes de resistência.

Palavras-chave: antibióticos; bactérias; Boas Práticas de Fabricação; saúde pública.

ABSTRACT

The present study evaluated the microbiological quality of pasteurized milk samples and the antimicrobial resistance profile of *Escherichia coli* isolates. Four samples purchased from supermarkets in Minas Gerais were analyzed for the presence of *E. coli*, followed by antimicrobial susceptibility testing using the disk diffusion method. Two samples showed bacterial growth. All isolates were susceptible to ciprofloxacin, tetracycline, chloramphenicol, and amoxicillin/clavulanic acid, whereas resistance to ampicillin was observed in some isolates, indicating intraspecies resistance diversity. The results highlight the need for Good Manufacturing Practices (GMP), continuous hygiene monitoring, and rational use of antimicrobials, considering the risks to public health and the potential spread of resistance genes.

-
1. Graduado em Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério – UNIFUCAMP / Monte Carmelo –MG) (juliocmresende@gmail.com)
 2. Professora orientadora, graduada em Medicina Veterinária, mestre e doutora em Medicina Veterinária (Universidade Estadual Paulista - UNESP/Jaboticabal-SP). Professora de Medicina Veterinária (Centro Universitário Mário Palmério - UNIFUCAMP/Monte Carmelo-MG) (laryssaribeiro84@gmail.com).
 3. Licenciada em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP). Especialista (Lato Sensu) em Educação especial. (denisedias09@hotmail.com)
 4. Licenciado em Ciências Biológicas pelo Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP). Mestre e Doutor em Genética e Bioquímica pelo Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia (UFU). Professor no UNIFUCAMP (cassio.1015@hotmail.com)

Keywords: antibiotics; bacteria; Good Manufacturing Practices; public health

1. INTRODUÇÃO

O leite é um produto obtido por meio da ordenha completa e ininterrupta de vacas sadias, mantidas em boas condições de higiene, alimentação e descanso. Sua composição físico-química pode variar conforme o tipo de leite e fatores associados à alimentação e ao manejo dos animais (Lobe, 2025).

A produção leiteira e o processamento de seus derivados possuem grande relevância econômica e social no Brasil. O país ocupa a terceira posição entre os maiores produtores mundiais, com uma produção anual superior a 34 bilhões de litros de leite, presente em 98% dos municípios brasileiros. Essa atividade é predominantemente conduzida por pequenas e médias propriedades rurais, sendo responsável pela geração de aproximadamente quatro milhões de empregos diretos e indiretos (Embrapa, 2024; Brasil, 2024).

Por ser amplamente consumido em todas as fases da vida, o leite exige rigoroso controle higiênico-sanitário desde a extração até o processamento, a fim de garantir sua inocuidade e qualidade. A elevada carga microbiana durante a coleta ou manipulação compromete diretamente a qualidade do produto final (Lobe, 2025).

Embora seja um dos alimentos mais nutritivos, o leite também pode atuar como veículo de transmissão de patógenos de origem alimentar, como a *Escherichia coli* (Oltramari *et al.*, 2012). A presença desse microrganismo está relacionada a doenças transmitidas por alimentos (DTAs) e a diversas zoonoses, configurando um importante risco à saúde pública. Dessa forma, o monitoramento microbiológico do leite e de seus derivados torna-se fundamental para evitar a contaminação e multiplicação desses patógenos (Resende *et al.*, 2012; Cruvinel; Ribeiro, 2024; Lobe, 2025).

Entre as bactérias de interesse, o gênero *Escherichia* apresenta cinco espécies — *E. albertii*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermannii* e *E. vulneris* — pertencentes à família Enterobacteriaceae. Dentre elas, *E. coli* é a mais relevante do ponto de vista clínico e zoonótico, por abrigar cepas patogênicas capazes de causar infecções em humanos e animais. Trata-se de um bacilo Gram-negativo, de formato cilíndrico e extremidades arredondadas (McVey, Kennedy e Chengappa, 2013; Barel *et al.*, 2022; Lobe, 2025).

A resistência antimicrobiana, por sua vez, tem se consolidado como um dos maiores desafios de saúde pública global no século XXI. O uso indiscriminado de antibióticos em animais de produção tem contribuído para o surgimento de cepas bacterianas resistentes,

capazes de persistir e disseminar-se no ambiente, nos alimentos e na microbiota humana. Essa situação representa um grave risco à eficácia dos tratamentos antimicrobianos convencionais e reforça a importância de estudos voltados à identificação e ao monitoramento de microrganismos resistentes em produtos de origem animal, como o leite.

O estudo da resistência antimicrobiana em isolados de *Escherichia coli* provenientes de leite pasteurizado é, portanto, essencial para compreender os riscos potenciais à saúde do consumidor e contribuir para o aprimoramento das práticas higiênico-sanitárias nas indústrias de laticínios. Além disso, pesquisas nessa área oferecem subsídios para políticas públicas e estratégias voltadas ao uso racional de antimicrobianos na cadeia produtiva do leite, promovendo a segurança alimentar e a saúde coletiva.

Considerando a crescente preocupação com a disseminação de bactérias resistentes a antimicrobianos, torna-se essencial o monitoramento da sensibilidade dessas cepas. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de amostras de leite pasteurizado e submeter os isolados de *Escherichia coli* ao teste de sensibilidade a antibacterianos, contribuindo para o entendimento do perfil de resistência microbiana nesse alimento.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Coleta e transporte das amostras

O estudo foi conduzido utilizando quatro amostras de leites pasteurizados, adquiridas em supermercados das cidades de Monte Carmelo, Iraí de Minas e Coromandel, no estado de Minas Gerais. Imediatamente após a compra, as amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas contendo blocos de gelo, garantindo a manutenção da temperatura adequada e preservando a qualidade microbiológica do leite durante o transporte.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises de Produtos de Origem Animal (Agrolab), vinculado ao Centro Universitário Mário Palmério (UNIFUCAMP), onde foram submetidas às análises microbiológicas. Todas as atividades laboratoriais foram realizadas seguindo normas de biossegurança, incluindo o uso de jaleco, luvas e capela de fluxo laminar, para evitar contaminação das amostras e assegurar a segurança do pesquisador.

As amostras foram codificadas e identificadas individualmente durante os procedimentos laboratoriais.

2.2 Preparo das diluições das amostras

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE LEITES PASTEURIZADOS

O preparo das diluições foi realizado conforme o protocolo recomendado pela APHA (2001). De cada amostra de leite, 25 mL foram transferidos assépticamente para frascos contendo 225 mL de água peptonada a 0,1%, previamente esterilizada. A mistura foi homogeneizada, obtendo-se a diluição inicial de 10^{-1} . Posteriormente, foram realizadas diluições decimais sucessivas até 10^{-3} , utilizando o mesmo diluente estéril, garantindo a padronização e a reprodutibilidade dos testes.

Para controle de qualidade, o diluente e os meios de cultura foram previamente verificados quanto à esterilidade, e todos os procedimentos foram realizados em duplicata.

2.3 Contagem de *Escherichia coli*

Para a quantificação de *E. coli*, 0,1 mL de cada diluição foi depositado em placas de ágar MacConkey, em duplicata. Após a homogeneização do inóculo, as placas foram incubadas a 35 °C por 24 horas. Cinco colônias características de cada amostra foram selecionadas, isoladas e repicadas em caldo Brain Heart Infusion (BHI) para posterior análise e preservação.

Os isolados foram armazenados em freezer a -20 °C em BHI com 20% de glicerol para futuras análises, garantindo a viabilidade das culturas.

2.4 Teste de sensibilidade a antimicrobianos

Todos os 10 isolados de *E. coli* foram submetidos ao teste de sensibilidade a antimicrobianos, seguindo a metodologia de Bauer et al. (1966). Assim, inicialmente, os isolados foram semeados em placas de ágar triptona de soja (TSA) e incubados a 37 °C por 24 horas.

Posteriormente, a turbidez de uma amostra de água ultrapura estéril utilizada para diluições foi medida em espectrofotômetro, servindo como controle. As colônias presentes nas placas de TSA foram transferidas para tubos contendo 10 mL de água ultrapura estéril, utilizando swabs estéreis. A suspensão foi homogeneizada em vórtex e ajustada até atingir turbidez equivalente a 0,5 na escala de McFarland.

As culturas padronizadas foram então semeadas em placas contendo ágar Mueller-Hinton. Após a secagem da superfície do meio, discos impregnados com os seguintes antimicrobianos foram aplicados: amoxicilina/ácido clavulônico (30 µg), ampicilina (10 µg), ceftriaxona (30 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacina (5 µg) e tetraciclina (30 µg). A

escolha desses antimicrobianos baseou-se em sua relevância clínica e na frequência de uso no tratamento de infecções por *E. coli* em humanos e animais.

As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, após as quais os halos de inibição foram mensurados com régua milimetrada. A interpretação dos resultados seguiu os critérios do CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2007), exceto para o ceftiofur, cuja referência foi baseada no CLSI (2008). Os resultados foram classificados como suscetível intermediário ou resistente.

2.5 Controle de qualidade e replicatas

Todos os experimentos foram realizados em duplicata, e foram utilizados controles positivos e negativos para validar os procedimentos. A utilização de cepas-padrão de *E. coli* (ATCC) como controle positivo permitiu confirmar a precisão do teste de sensibilidade, enquanto os controles negativos asseguraram a ausência de contaminação nos meios e diluentes.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das quatro amostras de leite pasteurizado analisadas, duas apresentaram colônias características de *Escherichia coli* (Figura 1). A confirmação morfológica e bioquímica dos isolados permitiu selecionar colônias representativas das amostras positivas, as quais foram submetidas ao teste de sensibilidade a antimicrobianos pela técnica de difusão em disco.

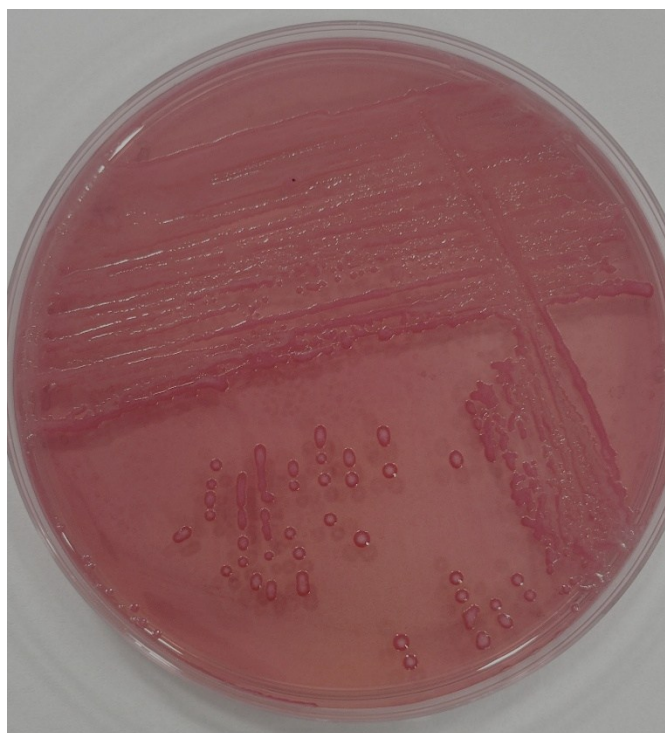
Na amostra 1, todos os cinco isolados apresentaram sensibilidade aos antimicrobianos tetraciclina (30 µg), amoxicilina/ácido clavulânico (30 µg), ceftriaxona (30 µg), cloranfenicol (30 µg) e ciprofloxacina (5 µg). Contudo, foi observada resistência uniforme à ampicilina (10 µg) (Figura 2), evidenciando um possível padrão de resistência específico a esse β-lactâmico. Na amostra 4, observou-se um comportamento heterogêneo: três isolados foram sensíveis à tetraciclina, ciprofloxacina e cloranfenicol, enquanto um isolado apresentou resistência à ceftriaxona e dois demonstraram sensibilidade intermediária à amoxicilina/ácido clavulânico e à ampicilina.

Esses resultados corroboram estudos recentes que destacam a heterogeneidade da resistência antimicrobiana em isolados provenientes de produtos lácteos artesanais (LOBE, 2025; APHA, 2023). A interpretação quantitativa dos halos deve ser realizada seguindo as normas do CLSI (2023), permitindo a classificação das bactérias como sensíveis, intermediárias ou resistentes aos antimicrobianos testados.

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE LEITES PASTEURIZADOS

Além disso, a visualização direta do crescimento das colônias fornece informações sobre o padrão de crescimento e morfologia bacteriana, essenciais para a caracterização dos isolados antes da análise de resistência, complementando os dados obtidos por métodos moleculares ou bioquímicos.

Figura 1. Colônias características de *E. coli* em ágar Mac Conkey, proveniente de leite pasteurizado comercializado na região de Monte Carmelo, MG.



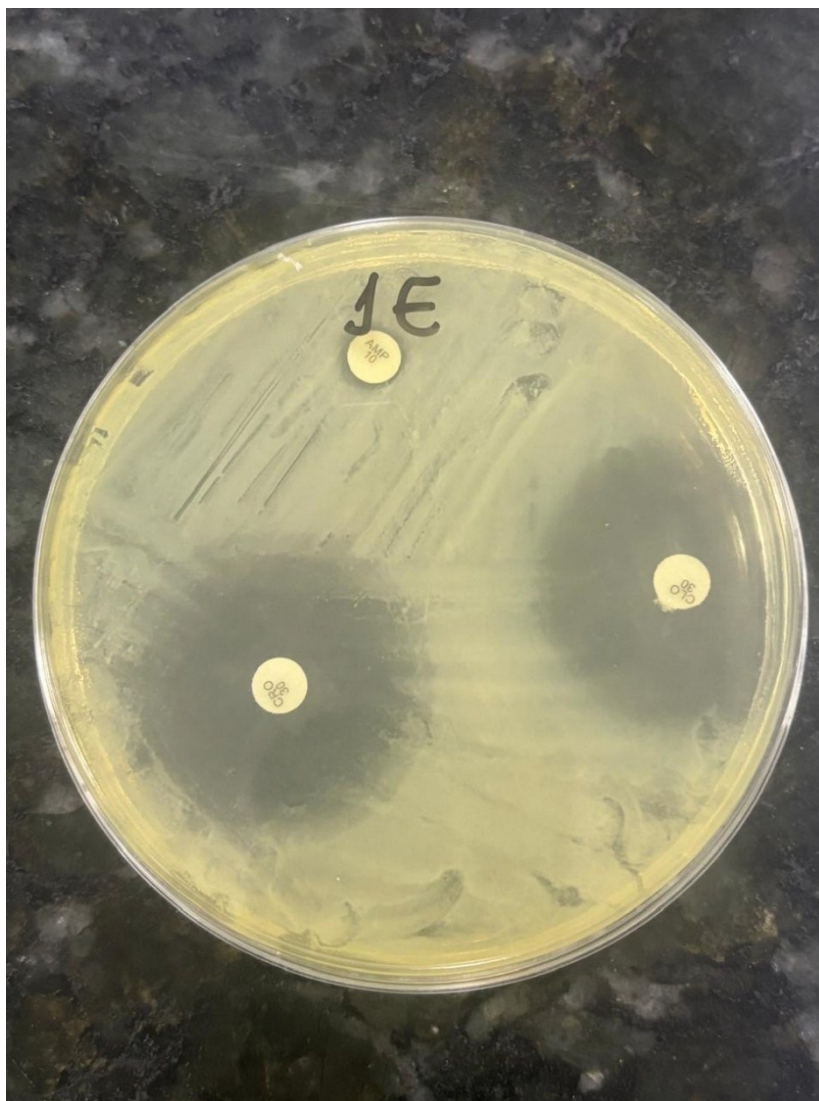
Fonte: elaborado pelo autor (2025).

Os dados mostram que, apesar de a pasteurização ser eficaz na diminuição da quantidade de microrganismos, problemas higiênicos e sanitários após o processamento podem possibilitar a recontaminação do leite. Circunstâncias como a limpeza inadequada dos utensílios, armazenamento em temperatura imprópria ou contaminação cruzada durante o envase constituem causas possíveis para a presença de *E. Coli* no resultado final. Achados semelhantes foram relatados por Ataíde *et al.* (2008), que identificaram coliformes totais em 64,3 % das amostras de leite pasteurizado tipo C avaliadas, indicando deficiência nas condições de higiene e falhas no controle de temperatura durante o processo de pasteurização.

A presença de *E. coli* em leite pasteurizado é um indicador de contaminação fecal e de não conformidade com a Instrução Normativa nº 76/2018, que estabelece a ausência desse

microrganismo em 25 mL de amostra (Brasil, 2018). Esses resultados confirmam que, mesmo em produtos regulamentados, há vulnerabilidade no controle de qualidade microbiológica, especialmente em laticínios de menor porte.

Figura 2. Placa petri contendo ágar Muller Hinton, com discos de antimicrobiano, após a incubação, mostrando halos de inibição



Fonte: elaborado pelo autor (2025).

O perfil de resistência observado — com destaque para a ampicilina — é coerente com os achados de Ultramari *et al.* (2012), que verificaram resistência à ampicilina em 26,31 % dos isolados de *E. coli* provenientes de leite pasteurizado, além de sensibilidade de 100 % à

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE LEITES PASTEURIZADOS

ciprofloxacina e à amoxicilina/ácido clavulânico. Os autores associam essa resistência à exposição contínua de bactérias a β -lactâmicos, tanto na medicina veterinária quanto humana, favorecendo a seleção de cepas produtoras de β -lactamases, enzimas que inativam esse grupo de antimicrobianos.

A resistência à ampicilina observada neste estudo reforça essa tendência, indicando que *E. coli* provenientes de alimentos podem atuar como reservatórios de genes de resistência. Essa constatação é preocupante sob a ótica de saúde pública, uma vez que tais genes podem ser transferidos horizontalmente para outras bactérias, potencialmente patogênicas, dentro do trato intestinal humano.

Por outro lado, a sensibilidade à ciprofloxacina, cloranfenicol e tetraciclina demonstra que esses fármacos ainda apresentam eficácia frente às cepas avaliadas. No entanto, a detecção de resistência à ceftriaxona — antibiótico de terceira geração amplamente empregado em infecções humanas — deve ser interpretada como um alerta. De acordo com Lobe (2025), cepas de *E. coli* produtoras de β -lactamases de espectro estendido (ESBL) têm sido isoladas de derivados lácteos, evidenciando a disseminação silenciosa de mecanismos de resistência em alimentos de origem animal.

Esses resultados são semelhantes ao estudo de Cruvinel e Ribeiro (2024), que identificaram cepas resistentes a antibióticos β -lactâmicos em leite pasteurizado. Eles também descobriram que todas as cepas eram sensíveis à tetraciclina e ao cloranfenicol, com resistência à ciprofloxacina e ceftazidima. A sensibilidade à tetraciclina e ao cloranfenicol reforça a eficácia desses antibióticos, enquanto a resistência aos β -lactâmicos ressalta a persistência de genes de resistência devido ao seu uso contínuo na agricultura e medicina.

Além disso, a heterogeneidade observada entre os isolados da amostra 4 reflete a diversidade genética intraespécie e sugere diferentes origens ou pressões seletivas das cepas, conforme observado também por Lobe (2025) em estudo com *E. coli* isoladas de queijo colonial artesanal. Esse comportamento reforça a necessidade de abordagens integradas de vigilância, combinando análise fenotípica e molecular para identificar genes de resistência e monitorar sua disseminação.

De modo geral, os resultados deste trabalho corroboram as conclusões de Ataíde et al. (2008) e Oltramari et al. (2012), ao indicarem que a recontaminação pós-pasteurização e a resistência antimicrobiana de *E. coli* ainda constituem desafios relevantes para a indústria de laticínios. A persistência de cepas resistentes em produtos pasteurizados representa um risco

potencial à saúde pública, considerando o conceito de “Uma Só Saúde” (One Health), que reconhece a interconexão entre a saúde humana, animal e ambiental.

Portanto, torna-se imprescindível a adoção de boas práticas de fabricação (BPF), a manutenção preventiva de equipamentos, o monitoramento contínuo da higiene nas linhas de envase e o uso racional de antimicrobianos nos sistemas produtivos. Adicionalmente, recomenda-se que futuros estudos incluam análises moleculares para identificação de genes de resistência, ampliando o conhecimento sobre a disseminação de microrganismos resistentes em produtos de origem animal.

4. CONCLUSÃO

Dois dos quatro leites pasteurizados comercializado na região de Monte Carmelo, Minas Gerais, apresentaram isolados de *E. coli*. Dessas duas amostras, todos os isolados foram sensíveis à ciprofloxacina, tetraciclina, cloranfenicol e amoxicilina/ácido clavulânico, enquanto resistência à ampicilina foi observada em alguns isolados.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo evidenciou que, mesmo depois da pasteurização, algumas amostras de leite ainda apresentavam contaminação por *Escherichia coli*, o que indica falhas nas práticas de higiene após o processamento. Os isolados encontrados resistiram à ampicilina, mas tiveram sensibilidade a outros antimicrobianos, mostrando uma diversidade genética e variação de resistência na mesma espécie.

Os resultados ressaltam a importância das Boas Práticas de Fabricação (BPF), do rigor no controle de higiene e armazenamento, e do uso correto de antimicrobianos na criação de animais. A presença de cepas resistentes representa um possível risco à saúde pública, pois pode permitir a transferência de genes de resistência para bactérias patogênicas.

Assim, sugere-se programar estratégias de monitoramento que incluam análises fenotípicas e moleculares para rastrear a propagação de microrganismos resistentes em produtos lácteos. Uma pesquisa confirma que a segurança do leite pasteurizado não depende apenas do tratamento térmico, mas também da manutenção de práticas higiênicas corretas, alinhadas ao princípio de “Uma Só Saúde”.

RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE ISOLADOS DE *Escherichia coli* DE LEITES PASTEURIZADOS

REFERÊNCIAS

APHA – American Public Health Association. **Committee on Microbiological Methods for Foods. Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001.

ATAÍDE, W. S. *et al.* **Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado.** *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, São Paulo, v. 67, n. 1, p. 73-77, 2008.

BAREL, M. *et al.* ***Escherichia coli* serogroups in slaughterhouses: antibiotic susceptibility and molecular typing of isolates.** *International Journal Of Food Microbiology*, [S.L.], v. 371, p. 109673, jun. 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Mapa do leite: panorama da produção brasileira.** Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>. Acesso em: 29 out. 2025.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018.** Estabelece os regulamentos técnicos de identidade e qualidade do leite cru refrigerado e do leite pasteurizado. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 30 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n.º 58, de 06 de novembro de 2019.** Altera a Instrução Normativa n.º 76, de 26 de novembro de 2018. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 07 nov. 2019. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-mapa-58-de-06-11-2019%2C1305.html>. Acesso em: 29 out. 2025.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacterial Isolated from Animals.** 2008.

CRUVINEL, A. C. de O.; RIBEIRO, L. F. **Resistência antimicrobiana em cepas de *Escherichia coli* isoladas de leite pasteurizado.** *Revista GETEC: Gestão, Tecnologia e Ciências*, Monte Carmelo, v. 13, n. 2, p. 1–9, 2024. Disponível em: <https://revistas.fucamp.edu.br/index.php/getec/article/view/3381>. Acesso em: 31 out. 2025.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Anuário do leite 2024.** Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2024. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1164754/1/Anuario-Leite-2024.pdf>. Acesso em: 29 out. 2025.

LOBE, L. A. S. **Perfil de sensibilidade a antimicrobianos e pesquisa de genes de resistência em *Escherichia coli* isolados de queijo colonial artesanal proveniente do Oeste de Santa Catarina.** 2025. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2025.

RESENDE, J. C. M.; RIBEIRO, L. F.; COCCO, D. D. A.; MORAIS, C. R..

MCVEY, D. S.; KENNEDY, M.; CHENGAPPA, M. M. **Veterinary Microbiology**. 3. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2013.

OLTRAMARI, K. *et al.* **Resistência a antimicrobianos em Escherichia coli isolada de leite pasteurizado. Revista Tecnológica**, Maringá, v. 20, n. 2, p. 51-58, 2012.