

Escherichia coli* O 157: H7 EM LEITE PRODUZIDO NO BRASIL**Escherichia coli* O 157: H7 IN MILK PRODUCED IN BRAZIL**

Aline Sandes Batista¹; Ludmilla Santana Soares e Barros^{1*}, Evélin Santiago Vasconcelos dos Santos¹, Maria Helena Silva²

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar os parâmetros higiênico-sanitário do leite em vinte e seis propriedades do Recôncavo Baiano, Bahia, Brasil, através de aplicação de questionário, determinação da contagem de micro-organismos indicadores e isolamento de *Escherichia coli* O 157: H7, em amostras de leite *in natura* obtidos por ordenha não mecanizadas e mecanizadas. A contagem de mesófilos aeróbios no leite obtido pela ordenha não mecanizada foram superiores a mecanizada. Quanto a contagem de fungos filamentosos e levedura os resultados sugerem que a higiene foi insatisfatória durante o processo de ordenha em todas as propriedades avaliadas. Quanto ao NMP de coliformes totais em leite, as propriedades com sistema mecanizado apresentou valores inferiores aos da ordenha não mecanizada, demonstrando melhores condições higiênico-sanitárias durante a ordenha e estocagem, embora a legislação não estabeleça padrões em relação a estes micro-organismos. Os resultados de *E. coli* foram maiores no leite obtido por ordenha mecanizada. Não houve dados significativos com relação ao número *S. aureus* e bactérias psicrotólicas em nenhuma dos sistemas de ordenhas. Já a *Escherichia coli* O157: H7 foi encontrada uma amostra positiva em uma propriedade leiteira, após ter sido realizado testes bioquímicos específicos para esta espécie. A respeito dos parâmetros higiênico-sanitário 90% das 18 propriedades que realizavam ordenha não mecanizada apresentavam falhas nos procedimentos de higiene e limpeza na ordenha. Com relação às oito propriedades que realizam ordenha mecanizada, só uma apresentou falhas nos procedimentos de higiene da ordenha.

Palavras-chave: leite *in natura*, parâmetros higiênico-sanitária, ordenha mecânica e não mecânica.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the hygienic-sanitary parameters of milk in twenty- six properties Reconcavo Baiano, Bahia, Brazil,

through questionnaires, determining the count of microorganisms indicators and isolation of *Escherichia coli* O 157:H7 in milk samples in natura obtained by non- mechanized and mechanized milking. The aerobic mesophilic counts in milk obtained by non-mechanized mechanized milking were higher. As the count of filamentous fungi and yeast results suggest that hygiene is unsatisfactory during the milking process in all the evaluated properties. Regarding the MPN of coliforms in milk, mechanized system with properties inferior to the non- mechanized milking values, demonstrating best sanitary conditions during milking and storage , although the law prescribes standards for these micro - organisms . The results of *E. coli* were higher in milk obtained by mechanized milking. There was significant with respect to *S. aureus* and psychrotrophic number in any of milking systems data. Have *Escherichia coli* O157:H7 positive sample was found in a dairy property after specific biochemical tests have been conducted for this species . Regarding hygiene and sanitary parameters 90 % of 18 properties that had performed no mechanized milking failures in hygiene and cleaning procedures for milking . With respect to the eight properties that perform mechanized milking , only one had flaws in milking hygiene procedures.

Keywords: fresh milk, hygienic and sanitary parameters, mechanical and non-mechanical milking.

INTRODUÇÃO

Diversos países vêm buscando prevenir as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA's) através da produção de alimentos livres de patógenos. Acredita-se ser possível alcançar essa meta através de investimento em pesquisas na área de controle de qualidade dos alimentos, que vai desde a seleção da matéria-prima, processamento, transporte e armazenamento. Além disso, estes fatores deverão estar sempre associados à educação sanitária permanente da população sobre práticas higiênicas durante a manipulação dos alimentos (FRAZIER, 1993;

¹ Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. Rua Rui Barbosa, 710, Centro. Cruz das Almas. Bahia. Brasil. CEP 44380-000.

² Universidade Federal da Bahia. Salvador. Bahia

*Autor correspondente. barros@ufrb.edu.br.

PRATA, 2001; IFT, 2004; FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004; FAGUNDES *et al.*, 2006; ZOCCAL, 2012).

Dentre os alimentos mais consumidos diariamente encontra-se o leite e seus derivados, por desempenhar um papel nutricional importantíssimo para o homem, particularmente nos primeiros anos de vida. No Brasil, o consumo destes produtos é bastante elevado, por isso a sua qualidade assume um papel de destaque sob o ponto de vista de Saúde Pública, merecendo uma atenção especial dos órgãos competentes (FAGUNDES; OLIVEIRA, 2004; BARROS *et al.*, 2010; BARROS *et al.*, 2011; IBGE, 2010; IBGE, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011a; OLIVEIRA *et al.*, 2011b; OLIVEIRA *et al.*, 2012; BARROS *et al.*, 2013).

Pesquisas nacionais citam que o leite produzido no país, de modo geral, ainda apresenta alta contagem de micro-organismos, demonstrando com estes dados que há deficiências na higiene durante sua produção. Tendo em vista que a qualidade do produto final está diretamente associada à carga microbiana inicial presente no produto, o que indica que estes resultados são fruto da inexistência na maioria das vezes de um tratamento térmico, falta de higiene durante o processamento ou da temperatura inadequada de estocagem, na qual o leite *in natura* é mantido (FRAZIER, 1993; FONSECA; SANTOS, 2000; FAGUNDES *et al.*, 2006; BARROS *et al.*, 2010; BARROS *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2011a; OLIVEIRA *et al.*, 2011b; OLIVEIRA *et al.*, 2012; BARROS *et al.*, 2013).

Os fatores acima expostos contradizem a Legislação Federal, como o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 1997), a Instrução Normativa (IN) 51 (BRASIL, 2002) e a IN 62 (BRASIL, 2011).

Dentre os micro-organismos que podem estar presentes no leite cru destacam-se: os não patogênicos, mas que alteram as propriedades do leite devido a produção de enzimas termotolerantes (PADINHA *et al.*, 2001; FAGUNDES *et al.*, 2006; PINTO *et al.*, 2006; BARROS *et al.*, 2010; BARROS *et al.*, 2011; MOLINERI *et al.*, 2012), e os patogênicos, responsáveis pelas intoxicações alimentares, como a espécie *Staphylococcus aureus* e os coliformes termotolerantes, que são indicadores de possível contaminação de origem fecal (JAY, 2005; MORAES *et al.*, 2005; ALVES, 2006; LORENZETTI, 2006; TEBALDI *et al.*, 2008;

OLIVEIRA *et al.*, 2011a; OLIVEIRA *et al.*, 2011b; OLIVEIRA *et al.*, 2012)

A *E.coli* O157:H7 é um dos mais importantes micro-organismos responsáveis pelas DTA's, gerando um número considerado de vítimas de sua ação, principalmente paciente imunodeprimido, tem o bovino como o principal reservatório e o meio de transmissão mais comum é o consumo de alimentos contaminados, como carne cruas ou mal cozidas e leite cru (BRENER, 1984; FORSYTHE, 2002; GONÇALVES *et al.*, 2002; BARROS *et al.*, 2013).

A sua ocorrência em número elevado principalmente em alimentos frescos de origem animal indica manipulação em condições de higiene precária ou armazenamento inadequado. A criação intensiva de animais também favorece a contaminação dos alimentos por este micro-organismo, devido à possível contaminação dos rios e lençóis freáticos, pelas fezes dos animais e da circulação dessa bactéria no meio ambiente quando o esterco é usado como adubo (GONÇALVES *et al.*, 2002; CAPRIOLI *et al.*, 2005; BARROS *et al.*, 2013).

Existem relatos indicando a associação entre o consumo de leite cru e a colite hemorrágica ou a síndrome hemolítica urêmica (SWERDLOW *et al.*, 1992; CHAPMAN *et al.*, 1993; RENWICK *et al.*, 1993; RICE *et al.*, 1996; KIRK *et al.*, 1997; MATTHEWS *et al.*, 1997; CERQUEIRA *et al.*, 1999; RANDALL *et al.*, 1999) e até mesmo o leite tratado pode estar contaminado, se a pasteurização for inadequada ou ocorrer contaminação pós-pasteurização (CERQUEIRA *et al.*, 1997; KATIC & RADENKOV, 1998).

Considerando toda a explanação anterior, este trabalho teve como objetivo isolar a *Escherichia coli* O157: H7 e determinar micro-organismos indicadores em leite cru de propriedades não mecanizadas e mecanizadas do Recôncavo Baiano e avaliar as propriedades fornecedoras através de aplicação de questionário sobre as condições higiênico-sanitária da ordenha e da sanidade dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de leite *in natura* foram coletadas no período de novembro de 2012 a abril de 2013, em 26 propriedades leiteiras na região do Recôncavo Baiano (estado da Bahia), nos municípios de Teodoro Sampaio, Belém-Distrito de Cachoeira, São Gonçalo, Conceição de Feira e São Francisco do Conde.

Inicialmente foram divididas em 02 grupos de estudo, 18 propriedades em que se encontraram

fazendas com ordenhas não mecanizadas (as amostragens foram realizadas diretamente dos latões nas propriedades, em pontos de coletas ou caminhão transportador e 08 propriedades com ordenhas mecanizadas as amostragens foram retiradas diretamente do tanque de expansão, onde às medidas profiláticas de controle de qualidade higiênica do leite eram rigorosas e realizadas diariamente.

Das 18 propriedades não mecanizadas aproximadamente 80% dos animais são mestiços mantidos a pasto, e ordenhados uma vez ao dia, com produção de 66,6 litros/dia, com sistema “balde ao pé” e com a presença de bezerro. O leite é mantido em latões alguns plásticos e outros de metal e recolhido diariamente pela manhã pelo caminhão transportador ou levados diretamente até a propriedade um.

Foram aplicados questionários individuais em cada propriedade, com o objetivo de conhecer as condições higiênicas antes, durante e após o processo de ordenha e a sanidade dos animais. Contendo as seguintes informações: tipo de ordenha; horário das ordenhas; volume de produção; origem da água e se a mesma era clorada ou não; como era realizada a limpeza do estábulo; dos equipamentos; de tetos e do ordenhador.

Adicionalmente foi realizado um levantamento sobre a sanidade das vacas e das técnicas de armazenagem do leite pós-coleta.

Em cada propriedade foi coletada 500 mL de leite *in natura* (01 amostra da ordenha matinal). Sendo imediatamente armazenadas em frascos estéreis devidamente identificados com nome da propriedade e a data de coleta. Em seguida, as amostras foram transportadas em caixas de isopor com gelo e enviadas para o laboratório do Centro de Ciências Agrárias Ambientais e Biológicas (CAABB) da Universidade Federal do Recôncavo Baiano (UFRB), onde foram mantidas sob refrigeração e imediatamente submetidas às análises microbiológicas.

Todas as análises microbiológicas realizadas com o fito de se detectar as concentrações de Coliformes Totais (CT), Coliformes Termotolerantes (CF) foram efetuadas conforme a Instrução Normativa nº62 (BRASIL, 2003). As detecções de *E. coli* O15 H7 foram realizadas através dos uso do **Singlepath Elisa – E.coli O157:H7®**.

A análise de variância dos resultados e as médias dos mesmos foram comparadas pelo teste de Tukey, ao final de 5% de probabilidade (BANZANATTO; KRONKA, 1992).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o questionário aplicado *in loco* antes da coleta das amostras de leite, as propriedades produtoras de leite apresentaram práticas distintas de higiene, onde 90% das 18 propriedades não mecanizadas pesquisadas apresentavam falhas nos procedimentos de higiene e limpeza antes da ordenha, a exemplo utilização de água não tratada e não clorada e o não uso de toalhas descartáveis.

Com relação aos cuidados profiláticos de doenças todas as propriedades não mecanizadas vacinavam seus animais contra Febre Aftosa, Brucelose e Raiva. Com base nas informações 16 das 18 propriedades só requisitavam o Médico Veterinário caso houvesse problemas atípicos. Estas não faziam o controle do uso de vermífugos e de carrapaticidas, já as duas propriedades que recebem a visita mensal do Médico Veterinário agendavam períodos, doses e princípio ativo tanto do vermífugo quando do carrapaticida a serem utilizados.

Quando questionados em relação à presença de mastite nos animais, todos os ordenhadores disseram que raramente ocorre, mesmo tendo constatado que o teste para este diagnóstico não era realizado diariamente pelo ordenhador. Relatou-se que em todas as propriedades executavam-se práticas de limpeza dos utensílios e dos equipamentos e higienização dos tetos das vacas. Mas o que na prática observou-se foi que a água utilizada não era de fonte segura, não era realizada a cloração desta água nem controle microbiológico, sendo na maioria das propriedades proveniente de poços artesianos e/ou aguadas onde se coletava com vasilhames sem higienização adequada, além também de serem utilizadas pelos animais das propriedades.

Em 15 propriedades não mecanizadas os ordenhadores não utilizavam qualquer tipo de uniforme especial para a função, com exceção de uma propriedade e as práticas de higienização dos tetos e dos utensílios eram realizadas de forma inadequada e sem critérios e principalmente por que não usavam papel toalha descartáveis e sim panos reutilizáveis.

Somente em uma propriedade rural foi observada a presença de sanitário próximo ao estábulo.

Com relação aos animais que pertencem as 08 propriedades mecanizadas são mais selecionados quando comparados ao sistema anterior. Recebem ração e suplementos minerais nos cochos e tem acesso ao pasto. Produzem em média 8.000 L/dia, a ordenha é realizada duas vezes ao dia em sala específica, com sistema

fechado. O leite obtido é refrigerado em tanque de expansão e a cada 02 dias transportado por um caminhão isotérmico.

Constatou-se que somente uma das 08 propriedades mecanizadas pesquisadas, havia falhas nos procedimentos de higiene e limpeza antes, durante a ordenha. Em relação aos cuidados profiláticos de doenças e parasitoses, todas as propriedades vacinavam seus animais contra Febre Aftosa, Brucelose e Raiva e tinham maior controle das doses de vermífugo e de carrapaticida que são utilizados além de possuírem assistência mensal do Médico Veterinário.

Com relação ao controle de mastite todos os ordenadores disseram que raramente ocorre e afirmaram categoricamente que fazem o teste para este diagnóstico diariamente. Constatou *in loco* que a maioria das propriedades executavam práticas de limpeza dos utensílios e dos equipamentos e higienização dos tetos das vacas, utilizando pastilhas de cloro e as teteiras com álcool iodado e utilizavam papel toalha descartáveis. A água utilizada era na maioria proveniente de poços artesianos.

Todos os ordenadores utilizavam uniforme especial para a função e tinham sanitários a sua disposição nos estábulos.

Neste estudo, foi encontrada uma amostra de leite suspeita STEC. Tal detecção ocorreu na propriedade Nº 1, em que o leite foi obtido por ordenha não mecanizada.

Nas Tabelas 1 e 2 estão expressos os resultados de Número Mais Provável de Coliformes Totais em leite cru obtidos em propriedades com sistema de ordenha não mecanizada e mecanizada na região do Recôncavo Baiano. Observa-se que os resultados variaram de $1,1 \times 10^3$ NMP/mL a $3,6 \times 10^9$ NMP/mL no leite obtido por ordenha não mecanizada, enquanto $1,1 \times 10^3$ NMP/mL a $4,6 \times 10^6$ NMP/mL para o leite obtido através de ordenha mecanizada, o qual apresentou valores inferiores em relação ao leite obtido por ordenha não mecanizada, demonstrando melhores condições higiênico-sanitárias durante a ordenha e estocagem, embora a legislação não estabeleça padrões em relação a estes micro-organismos, os resultados sugerem que em alguma etapa da cadeia produtiva houve falhas, as quais devem ser identificadas e sanadas.

Ainda nas mesmas Tabelas 1 e 2 verificam-se os resultados para *E. coli* <3,0 NMP/mL a $7,5 \times 10^3$ NMP/mL para o leite obtido por ordenha não mecanizada enquanto $1,5 \times 10^4$ NMP/mL a $1,1 \times 10^7$ NMP/mL para o leite obtido por ordenha mecanizada.

Devido às características patogênicas da *E. coli* O:157 H:7, é importante que sua prevalência

em produtos alimentícios seja a mais baixa possível (TUTENEL *et al.*, 2002).

Em quatro regiões da península da Malásia, Sul (Johor / Melaka), Central (Selangor / Negeri Sembilan), Norte (Perak / Kedah) e Leste (Kelantan / Terengganu), cerca de aproximadamente 90% das amostras estavam contaminadas por bactérias coliformes e 65% foram positiva para *E. coli*, com contagens média que variaram de 10^3 - 10^4 UFC mL⁻¹. Enquanto isso, *E. coli* O:157 H:7 foi também detectada em 312 (33,5%) amostras (CHYE *et al.*, 2004).

ARAÚJO *et al.* (2009) em Minas Gerais realizaram uma pesquisa em 32 propriedades na bacia leiteira do município de Luz, durante o período de 2005 a janeiro de 2006, para avaliar a qualidade do leite produzido nessa região e os dados demonstraram que 87,5% das propriedades estavam fora dos padrões estabelecidos pela legislação RDC 12, principalmente no que se refere à pesquisa de coliformes totais, termotolerantes e *Escherichia coli*.

Um dos maiores surtos de *Escherichia coli* O:157 H:7 associado ao consumo de leite foi relatado por UPTON; COIA (1994). Foram afetadas mais que 100 pessoas, um terço das quais foram hospitalizadas, nove crianças desenvolveram síndrome urêmica hemorrágica, seis precisaram de diálise, uma mulher idosa desenvolveu púrpura trombocitopênica trombótica. Investigações epidemiológicas revelaram que mais que 90% dos infectados haviam consumido leite pasteurizado envasado em caixa de papelão ou garrafas, procedente de um laticínio local. Acredita-se que sete casos resultaram do contágio secundário, pessoa-a-pessoa, nas próprias casas. Várias amostras foram colhidas e *E. coli* O:157 H:7 foi encontrada na tubulação que conduzia o leite do pasteurizador à máquina de engarrafamento e numa borracha da máquina de engarrafamento.

ADESIYUM *et al.* (1997) isolaram 18,5% de *E. coli* O157 H:7 do leite do tanque de resfriamento. Adicionalmente, HUSSEIN; SAKUMA (2005) isolaram em 3,8% e relataram incidência de *E. coli* O157 H:7 em 3,9% do leite cru e 2,1% no leite certificado na Alemanha.

A marca da patogenicidade do sorotipo O157:H7 é uma evidência epidemiológica de que apenas algumas células são necessárias para causar a doença em humanos (GRIFFIN; TAUXE, 1991). A dose infectante pode ser de apenas 10 bactérias, que não precisam multiplicar-se no alimento, sendo a contaminação original já suficiente para causar doença (WAHLSTRÖM,

Tabela 1. Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *E. Coli* em leite cru obtidos em propriedades com sistema de ordenhas não mecanizadas na região do Recôncavo Baiano, durante o período de novembro de 2012 a abril de 2013.

Fazendas	Coliformes totais (NMP/mL)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)
01	3,6 x 10 ⁹ Aa	<3,0 Ba
02	1,9x 10 ⁸ Aa	<3,0 Ba
03	3,6x10 ⁸ Aa	<3,0 Ba
04	2,3x10 ⁸ Aa	<3,0 Ba
05	1,1 X10 ³ Aa	<3,0 Ba
06	4,3X10 ⁴ Aa	3,0x10 ³ Bb
07	2,4X10 ³ Aa	<3,0 Ba
08	1,1 X10 ³ Aa	<3,0 Ba
09	2,4x10 ³ Aa	<3,0 Ba
10	2,4x10 ³ Aa	<3,0 Ba
11	2,4x10 ³ Aa	<3,0 Ba
12	1,1X10 ⁴ Aa	<3,0 Ba
13	2,4X10 ⁶ Aa	2,3x10 ² Ab
14	1,5X10 ⁴ Aa	0,36X10 ³ Ab
15	9.3X10 ³ Aa	0,7 x10 ² Ab
16	1,5X10 ³ Aa	1,1x10 ³ AA
17	1,1X10 ³ Aa	1,5 x 10 ³ AA
18	1,1 X10 ³ Aa	7,5x10 ³ Aa

Em cada linha valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Em cada coluna valores seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Tabela 2. Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e *E. Coli* em leite cru obtidos em propriedades com sistema de ordenha mecanizada na região do Recôncavo Baiano, durante o período de novembro de 2012 a abril de 2013.

Fazendas	Coliformes totais (NMP/mL)	<i>Escherichia coli</i> (NMP/mL)
19	4,6x10 ⁶ Aa	2,3x10 ⁵ Aa
20	7,5x10 ⁵ Aa	9,3x10 ⁴ Aa
21	1,1 X10 ³ Aa	1,1x10 ⁷ Aa
22	1,1 X10 ³ Aa	2,1x10 ⁶ Aa
23	9,3x10 ⁵ Aa	1,5x10 ⁴ Aa
24	2,0 x10 ³ Aa	4,6x10 ⁶ Aa
25	2,1x10 ⁶ Aa	4,6x10 ⁶ Aa
26	1,1 X10 ³ Aa	1,1x10 ⁷ Aa

Em cada linha valores seguidos de letras maiúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

Em cada coluna valores seguidos de letras minúsculas diferentes diferem entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

2001). O regulamento do Serviço de Inspeção de Segurança Alimentar dos EUA declara que a presença de uma unidade formadora de colônia de *E. coli* O157 H:7 em 25g constitui uma carne bovina com risco à saúde pública (JOHNSON *et al.*, 1998). Este fato é vital para nossa pesquisa, haja vista que foi detectada apenas uma cepa de *E. coli* O157 H:7.

O gado leiteiro, fonte tanto de produtos cárneos quanto de leite cru, é considerado como um hospedeiro natural de cepas *E. coli* O157 H:7 patogênicas ao ser humano (HEUVELINK *et al.*, 1998). O leite e produtos cárneos são os responsáveis pela maioria dos surtos de origem alimentar causados por esse micro-organismo.

É uma preocupação da indústria leiteira o fato de bactérias patogênicas serem transmitidas

aos seres humanos por meio do leite e seus subprodutos (VASAVADA, 1988). A *E. coli* O:157H:7 é um destes patógenos humanos. Práticas de higiene durante o processo de ordenha podem diminuir a contaminação fecal do leite cru, mas a pasteurização adequada e a prevenção da contaminação pós-pasteurização são medidas necessárias para garantir a segurança deste alimento (HEUVELINK *et al.*, 1998). Ademais um modo efetivo na prevenção de surtos associados ao leite é evitar sua ingestão na forma crua (BLEEM, 1994).

Diversos trabalhos demonstraram a possibilidade de contaminação do leite cru com *E. coli* patogênicas está potencialmente presente durante o processo de ordenha em propriedades leiteiras. Uma vez que as fontes são as fezes, o conteúdo ruminal e o ambiente da propriedade, os micro-organismos podem contaminar o couro, úbere e superfície do teto das vacas

A transmissão direta de *E. coli* O157 H:7 de animais para humanos já foi várias vezes relatada. RENWICK *et al.* (1993) descreveram a transmissão da *Escherichia coli* O157: H7 a uma criança exposta a bezerros infectados. Rebanhos que pastejam em piquetes tratados com esterco podem apresentar uma prevalência de *E. coli* O157 H:7 maior (HANCOCK *et al.*, 1994).

Segundo KUDVA *et al.* (1995) a *Escherichia coli* O157:H7 pode sobreviver por pelo menos seis semanas nas fezes e possivelmente se multiplicar neste material.

RICE *et al.* (1996) constataram a bactéria nas fezes de um garoto que apresentava severa diarreia sanguinolenta e estava diretamente ligado a criação do rebanho. Além desses casos em que a transmissão ocorreu diretamente dos animais aos moradores das propriedades, foram constatados na literatura quatro surtos, com 729 pessoas afetadas, a maioria crianças, e 30 casos de SHU, nos EUA, em que a transmissão de animais a humanos ocorreu após visitas a fazendas ou mini-zoológicos de animais domésticos. PORTER *et al.* (1997) relataram que o sorotipo O157: H7 foi isolado com maior frequência de amostras ambientais colhidas próximas ao depósito de esterco dos animais.

A contaminação superficial do teto pode conduzir a uma futura contaminação do leite cru (MATTHEWS *et al.*, 1997). A mais, a contaminação do teto, conforme foi relatado previamente, conduz a infecção intramamária com *E. coli* (BRAMLEY *et al.*, 1981).

Durante as visitas era permitido às pessoas tocar e alimentar os animais, assim como comer e beber enquanto interagem com eles. Em um estudo realizado por BELONGIA *et al.* (2003)

chegou-se a conclusão de que crianças que moram em fazendas são comumente expostas à *E. coli* O157: H7, mas não há um correspondente aumento na incidência de diarreia clinicamente aparente. Acredita-se que o estímulo antigênico repetido nessas crianças poderia prevenir a doença. Ainda segundo os autores, esforços preventivos deveriam enfatizar a educação e a intervenção para evitar a transmissão a populações mais sensíveis, particularmente crianças na pré-escola e aquelas que têm contato com animais de fazenda mas sem exposições repetidas.

De acordo com HUSSEIN; SAKUMA (2005), considerando a ampla distribuição de *E. coli* O157 H:7 em propriedades leiteiras, as altas taxas de prevalência já relatadas e o isolamento de vários sorotipos de alta virulência de rebanhos leiteiros e seus produtos, deveriam ser desenvolvidas estratégias em longo prazo para garantir a segurança de alimentos provenientes desses rebanhos. Estas estratégias poderiam incluir o estabelecimento de programas para conscientizar fazendeiros, trabalhadores e consumidores do risco das STEC. É essencial desenvolver e implementar métodos de controle pré e pós abate para reduzir efetivamente o número de bovinos portadores de STEC e eliminar a contaminação dos seus produtos durante o processamento.

VICENTE *et al.* (2005), em 10 propriedades leiteiras em Jaboticabal, SP, Brasil, pesquisaram a prevalência de *Escherichia coli* STEC e TEC O157 sorogrupos, O111 e O113 em respectivamente 454, 54 e 30 amostras de fezes, água e leite. Os dados afirmam que nenhum dos sorogrupos foram identificados em amostras de leite.

Além do manejo adequado de dejetos, existem outras medidas a serem tomadas a fim de reduzir a disseminação das *E. coli* O157 H:7, tais como, evitar a introdução de animais infectados no rebanho, principalmente bezerros e novilhas, fazer a desinfecção adequada das baias antes de introduzir novos animais, controlar o contato entre bezerros e vacas, oferecer água potável, manter bebedouros e comedouros limpos, prover cama adequada e acomodações limpas (RAHN *et al.*, 1997, STEVENS *et al.*, 2002, LAHTI *et al.*, 2003).

Em 04 amostras de leite de carneiro foi identificado *S. aureus* em 3 amostras e nenhuma de *E.coli* em 36 amostras de leite de ovelha, 6 foram positivas pra *S. aureus* e uma para *E. coli*; em 25 amostras de leite de cabra 3 foram positivo para *S. aureus*, e 5 positivos para *E.coli*. Não foi detectada em todas as amostras analisadas *Salmonella* spp (EKICI *et al.*, 2004).

Embora a incidência de infecção em humanos por *E. coli* O157 H:7 seja, relativamente, baixa, a gravidade dos sintomas e a frequência de sequelas renais e neurológicas são motivos de preocupação. A doença é de relevância em saúde pública e existe a necessidade de desenvolver tratamento ou medidas de prevenção. Já houve um considerável progresso em compreender a ecologia das *E. coli* O157 H:7 em hospedeiros animais e os modos de transmissão aos seres humanos. Estratégias para reduzir a prevalência em bovinos são cruciais para a diminuição da incidência de infecção em humanos (STEVENS *et al.*, 2002).

O uso de probióticos, bacteriófagos e regimes de alimentação que criam um ambiente intestinal hostil para as *E. coli* O157 H:7, podem ser úteis antes do abate para reduzir a entrada de EHEC na cadeia alimentar e pesquisas a esse respeito têm sido desenvolvidas nos últimos anos (STEVENS *et al.*, 2002). Vacinas para evitar a infecção em animais (DEAN-NYSTROM, 2002) e em crianças (AHMED *et al.*, 2006) também estão sendo desenvolvidas e podem ajudar a diminuir a incidência em seres humanos.

CLOUGH *et al.* (2009) realizaram uma avaliação quantitativa da provável exposição a *E. coli* O157 H:7 através do leite vendido como pasteurizado no Reino Unido, com o objetivo de saber se existe qualquer risco diferencial entre o leite que é processado em on- e off- fazenda laticínios. O estudo foi realizado da cadeia de produção de leite da fazenda até o ponto de varejo, onde em comparação entre estes dois ambientes, detectou-se que o leite processado na fazenda apresenta comparativamente maior risco, embora esse risco ainda seja pequeno.

Na Itália entre os anos 2009 a 2011, foi realizada uma pesquisa de monitoramento do leite cru num total de 618 amostras de leite cru foram coletadas a partir de 112 rebanhos leiteiros. Das amostras coletadas, 0,3 % tinham *Salmonella* spp positiva, 0,2 % *E. coli* O: 157, 1,5 % de *Campylobacter* spp, e 1,6% para *Listeria monocytogens* (BIANCHI *et al.*, 2013).

Foram coletadas 297 Amostras de leite cru na Nova Zelândia a *E. coli* estava presente a <100 UFC / mL em 99% das amostras e excedeu 10³ UFC / mL em 0,7% de amostras. *E. coli* O157: H7 não foi detectada enquanto que as estirpes não patogênicas *E. coli* O157 foram detectadas em 1% das amostras. Os resultados demonstram que leite cru coletados na Nova Zelândia, assim como em outros países, inevitavelmente contém patógeno, portanto o controle por pasteurização continua a ser fundamental (HILL *et al.*, 2012).

Em uma pesquisa realizada em leite bovino proveniente de tanques da região de Marche (Itália central) por PETRUZZELLI *et al.* (2013) avaliou-se a presença de da *Escherichia coli* (VTEC). A prevalência de sorogrupo VTEC foi encontrada através de PCR 3,5% O157 e O145, 2,3% para O26 e 4,7% para O103. Quanto ao protocolo à base de separação imunomagnética identificou uma amostra (1,2 %) contaminada pelos resultados VTEC O157.

CONCLUSÕES

Diante dos dados encontrados nas propriedades leiteiras analisadas pertencentes a região do Recôncavo Baiano e analisando-se a importância da qualidade do leite para a manutenção e ampliação dos mercados conquistados e a geração de renda para os produtores, torna-se necessário a realização de educação permanente direcionados aos manipuladores responsáveis pela ordenha com ênfase em higiene pessoal, PPHO e manejo adequado dos animais. Além da realização de palestras com os produtores rurais, com vistas a prestar esclarecimentos sobre a necessidade e a importância da: adequação às exigências da legislação para a melhoria da qualidade do leite produzido e do investimento financeiro com relação a aquisição de ordenhadeiras mecânicas, resfriadores e a realização de algumas modificações em instalações quando necessário.

Novos estudos podem ser realizados com a finalidade de esclarecer o porquê de haver tão poucas infecções por *E. coli* O157 H:7 relatadas no Brasil, uma vez que este e outros trabalhos já mostraram que a prevalência desses patógenos, não só no rebanho, mas também em produtos alimentícios, é elevada. É possível que sem que seja constatado, crianças e adultos estejam apresentando, de forma endêmica, infecções por *E. coli* O157 H:7, tendo assim, sua qualidade de vida prejudicada.

REFERÊNCIAS

- ADESIYUM, A.A. et al. Prevalence and characteristics of strains of *Escherichia coli* isolated from milk and feces of cows on dairy farms in Trinidad. *Journal of Food Protection*, v. 60, p. 1174-1181, 1997.
- AHMED, A. et al. Safety and Immunogenicity of *Escherichia coli* O157O-Specific Polysaccharide Conjugate Vaccine in 2-5-Year-Old Children. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 193, p. 515-21, 2006.

- ALVES, C. *Efeito de variações sazonais na qualidade do leite cru refrigerado de duas propriedades em Minas Gerais*. 2006. 65f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.
- ARAÚJO M.M.P.; ALVES P.D.D.; BARBOSA F.H.F.; ROSA, C.A. Qualidade higiênico-sanitária do leite e da água de algumas propriedades da bacia leiteira do município de Luz – MG. *Revista de Biologia e Ciências da Terra*, v.9, n.2, p.154-171, 2009.
- BANZATTO, D.V.; KRONKA, S. do N. *Experimentação agrícola*. Jaboticabal: FCAV/UNESP, 1992. 247 p.
- BARROS, L. S. S.; DE SOUZA, F.C.; SOGLIA, S.L.O.; FERREIRA, M.J.; RODRIGUES, M.J.; MONTEIRO DE CARVALHO, C.F.M. Qualidade do leite informal comercializado no Recôncavo da Bahia. *Higiene Alimentar*, v.24, p.110-115, 2010.
- BARROS, L.S.S.; SOGLIA, S.L.O.; FERREIRA, M.J.; RODRIGUES, M.J.; BRANCO, M.P.C. Aerobic and anaerobic bacteria and *Candida* species in crude milk. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, v.3, p.206-212, 2011.
- BARROS, L.S.S.; SILVA, R.M.; SILVA, I.M.; BALIZA, M.D.; VIRGÍLIO, F.F. *Escherichia coli* from cellulitis lesions in broilers. *Journal of Food Measurement and Characterization*, v. 7, p. 40-45, 2013.
- BELONGIA, E.A. et al. Diarrhea incidence and faro-related risk factors for *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter jejuni* antibodies among rural children. *Journal of Infectious Diseases*, v.187, p.1460-1468, 2003.
- BIANCHI, D.M.; BARBARO A.; GALLINA S.; VITALE N.; CHIAVACCI L.; CARAMELLI, M.; DECASTELLI, L. Monitoring of foodborne pathogenic bacteria in vending machine raw milk in Piedmont, Italy. *Food Control*, v.32, n.435 - 439, 2013.
- BLEEM, A. *Escherichia coli* O157: H7 in raw milk: A review. *Annual Health Insight*, v.1, p. 1-9, 1994.
- BRAMLEY, A.J.; GODINHO, K.S.; GRINDAL, R.J. Evidence of penetration of the bovine teat duct by *Escherichia coli* in the interval between milkings. *Journal of Dairy Research*, v.48, p.379-386, 1981.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa 51*, de 18 de setembro de 2002. Brasília. 95p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Instrução Normativa 62*, de 29 de dezembro de 2011. Brasília. 24p.
- BRENER, D.J. Facultatively anaerobic Gram-negative rods. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Baltimore: Willians & Wilkins, 1984. 763p.
- CAPRIOLI A.; MORABITO S.; BRUGÈRE H.; OSWALD E. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli*: emerging issues on virulence and modes of transmission. *Veterinary Research*, v.36, p.289-311, 2005.
- CERQUEIRA, A.M.F.; TIBANA, A.; GUTH, B.E.C. High occurrence of Shiga-like toxin-producing *Escherichia coli* isolated from raw beef products in Rio de Janeiro City, Brazil. *Journal of Food Protection*, v. 60, n. 2, p. 177-180, 1997.
- CERQUEIRA, A.M.F. et al. High occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle in Rio de Janeiro State, Brazil. *Veterinary Microbiology*, v.70, p.111-121, 1999.
- CHAPMAN, P.A. et al. A one year study of *Escherichia coli* O157 in cattle, sheep, pigs and poultry. *Epidemiology and Infection*, v.119, p.245-250, 1993.
- CHYE, F.Y.; ABDULLAH A.; AYOB M.K. Bacteriological quality and safety of raw milk in Malaysia. *Food Microbiology*, v.1, p.535-541, 2004.
- CLOUGH H.E.; CLANCY D.; FRENCH N.P.; Quantifying exposure to Vero-cytotoxigenic *Escherichia coli* O157 in milk sold as pasteurized: A model-based approach. *International Journal of Food Microbiology*, v.131, p95-105, 2009.
- DEAN-NYSTROM, E.A. et al. Vaccination of pregnant dams within timin (O157) protects suckling piglets from *Escherichia coli* O157: H7 infection. *Infection and Immunity*, v.70, p.2414-2418, 2002.
- EKICI K.; BOZKURT H.; ISLEYICI O. Isolation of Some Pathogens from Raw Milk of Different Milch Animals. *Pakistan Journal of Nutrition*, v.3, n.3, p.161-162, 2004.
- FAGUNDES, C.M.; FISCHER, V.; SILVA, W.P.; CARBONERA, N.; ARAÚJO, M.R. Presença de *Pseudomonas* spp. em função de diferentes etapas da ordenha com distintos manejos higiênicos e no leite refrigerado. *Ciência Rural*, v.36, n.2, p.568-572, 2006.
- FAGUNDES, H.; OLIVEIRA, C. A. F. Infecções intramamárias causadas por *S. aureus* e suas implicações em Saúde Pública. *Ciência Rural*, v.34, n.4, p.1315-1320, 2004.
- FONSECA, L.F.L. DE SANTOS, M.V.dos. Resíduos de antibióticos e qualidade do leite. In _____. *Qualidade do leite e controle da mastite*. Lemos editorial. Cap.16 p.169-175. 2000.
- FORSYTHE, S.J. *Microbiologia da Segurança Alimentar*. Porto Alegre: Ed.Artmed, 2002.
- FRAZIER, W. C. *Microbiologia de los alimentos*. Acricbia, 4ªed. Zaragoza, España, 681p. 1993.

- GONÇALVES, E.S; MARQUES, M.H. M; LUCCA, PSR. A segurança alimentar e os consumidores: um breve histórico sobre a *Escherichia coli*. *Revista CESUMAR-Ciências Humanas e Sociais Aplicadas*, v.7, n.1, 2002.
- GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiological Review*, v.13, p. 60-98, 1991.
- HANCOCK, D.D. et al. Multiple sources of *Escherichia coli* O157 in feed lot sand dairy 70 farms in the Northwestern USA. *Preventive Veterinary Medicine*, v.35, p.11-19, 1994.
- HEUVELINK, A.E. et al. Occurrence and Survival of Verocytotoxin-Producing *Escherichia coli* O157 in Raw Cow's Milk in the Netherlands. *Journal of Food Protection*, v. 61, n. 12, p. 1597-1601, 1998.
- HILL, B.; SMYTHE, B.; LINDSAY, D.; SHEPHER, J. Microbiology of raw milk in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*, v. 157, n.2, p.305-8, 2012.
- HUSSEIN, H.S.; SAKUMA, T. Invited Review: Prevalence of ShigaToxin Producing *Escherichia coli* in Dairy Cattle and Their Products. *Journal of Dairy Science*, v. 88, p. 450-465, 2005.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Produção Agropecuária*. 2010.
- IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Censo Agropecuário*. 2011.
- IFT - *Institute of Food Science and Technology*. 2004.
- JAY, J.M. *Microbiologia de Alimentos*. 6.ed. Porto Alegre: ARMED. 711p. 2005.
- JOHNSON, J. L.; BROOKE, C.L.; FRITSCHER, S.J. Comparison of the BAX for screening *E. coli* O157:H7 method with conventional methods for detection of extremely low levels of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. *Applied and Environmental Microbiology*, v.64, n.11, p. 4390-4395, 1998.
- KATIC, V.; RADENKROV, S. The fate of *Escherichia coli* O157:H7 in pasteurized milk. *Acta Veterinaria*, v.48, n.5-6, p. 345-350, 1998.
- KIRK, J. H.; PRICE,S.; WRIGHT, J. C. *Escherichia coli* O157:H7 in milk. *Large Animal Practice*, v. 18, n.2, p. 16-19, 1997.
- KUDVA, I.T.; HATFIELD, P.G.; HOVDE, C.J. Effect of diet on the shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in a sheep model. *Applied and Environmental Microbiology*, v.61, n.4, p. 1363-1370, 1995.
- LAHTI, E. et al. Longitudinal Study of *Escherichia coli* O157 in a Cattle Finishing Unit. *Applied and Environmental Microbiology*, v.69, n.1, p. 554-561, 2003.
- LORENZETTI, D.K. *Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismo psicotrópicos no leite cru de dois estados da região sul*. 2006. 71f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.
- MATTHEWS, K. R.; MURDOUGH, P.A.; BRAMLEY, A.J. Invasion of bovine epithelial cells by verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Applied Microbiology*, v.82, p. 197-203, 1997.
- MOLINERI, A.I.; SIGNORINI, M.L.; CUATRÍN, A.L.; CANAVESIO, V.R.; NEDER, V.E.; RUSSI, N.B.; BONAZZA, J.C.; CALVINHO, L.F. Association between milking practices and psychrotrophic bacterial counts in bulk tank milk. *Revista Argentina de Microbiologia*, v. 44, p. 187-194, 2012.
- MORAES, C. da R.; FUENTEFRIA, A.M; ZAFFARI, C.B.; CONTE, M.; ROCHA, J.P.A.V.; SPANAMBERG, A.; VALENTE, P.; CORÇÃO, G.; COSTA, M. Qualidade microbiológica de leite cru produzido em cinco municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Scientiae Veterinariae*, v.33, n.3, p.259-264, 2005.
- OLIVEIRA, L.P.; BARROS, L.S.S.; SILVA, V.C; CIRQUEIRA, M.G. Study of *Staphylococcus aureus* in raw and pasteurized milk consumed in the Reconcavo area of the State of Bahia, Brazil. *Journal of Food Process and Technology*, v. 2, p. 1000-128, 2011a.
- OLIVEIRA, L.P.; BARROS, L.S.S.; SILVA, V.C; CIRQUEIRA, M.G. Microbiological Quality and Detection of Antibiotic Residue in Raw and Pasteurized Milk Consumed in the Reconcavo Area of the State of Bahia, Brazil. *Journal of Food Process and Technology*, v.3, p. 10.4172/2157-71, 2011b.
- OLIVEIRA, L.P.; BARROS, L.S.S.; SILVA, V.C. Avaliação físico-química de leite cru e pasteurizado consumido no Recôncavo da Bahia. *Enciclopédia Biosfera*, v.8, p.335-343, 2012.
- PADINHA, M.R.F. et al. Pesquisa de bactérias patogênicas em leite pasteurizado tipo C comercializado na cidade do Recife, Pernambuco, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, n.2, p.167-171, 2001.
- PETRUZZELLI, A.; AMAGLIANI, G.; FOGLINI, M.; RENZO, E.; BRANDI, G.; TONUCCI, F. Prevalence assessment of *Coxiella burnetii* and verocytotoxin-producing *Escherichia coli* in bovine raw milk through molecular identification. *Food Control*, v.32, p.532-536, 2013.

- PINTO, C.L.O.; MARTINS, M.L.; VANETT, M.C.D. Qualidade microbiológica de leite cru refrigerado e isolamento de bactérias psicrófilas proteolíticas. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, v.26, n.3, p.645-651, 2006.
- PORTER, J. et al. Detection, distribution and probable fate of *Escherichia coli* O157 from asymptomatic cattle on a dairy farm. *Journal of Applied Microbiology*, v.83, p.297-306, 1997.
- PRATA, L.F. *Fundamentos de ciência do leite*. São Paulo: Unesp, 289p. 2001.
- RAHN, K. et al. Persistence of *Escherichia coli* O157: H7 in dairy cattle and the dairy farm environment. *Epidemiology and Infection*, v. 119, p. 251-259, 1997.
- RANDALL, L. P.; WRAY, C.; DAVIES, R.H. Survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 under simulated farm conditions. *Veterinary Record*, v.145, p.500-501, 1999.
- RENWICK, S.A.; WILSON, J.B.; CLARKE, R.C. Evidence of direct transmission of *Escherichia coli* O157: H7 infection between calves and a human. *Journal of Infectious Diseases*, v. 168, p. 792-793, 1993.
- RICE, D. H. et al. *Escherichia coli* O157 infection in a human linked to exposure to infected livestock. *Veterinary Record*, v.138, p.311-21, 1996.
- STEVENS, M.P. et al. Options for the control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in ruminants. *Microbiology*, v.148, p.3767-3778, 2002.
- SWERDLOW, D.L. et al. A waterborne outbreak in Missouri of *Escherichia coli* O157:H7 associated with bloody diarrhea and death. *Annals of Internal Medicine*, v.117, n.10, p. 812-819, 1992.
- TEBALDI, V.M.R.; OLIVEIRA, T.L.C. BOARI, C.A. PICCOLI, R.H. Isolamento de coliformes, estafilococos e enterococos de leite cru proveniente de tanques de refrigeração por expansão comunitários: identificação, ação lipolítica e proteolítica. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.28, n3, p753-760, 2008.
- TUTENEL, A.V. et al. Isolation and molecular characterization of *Escherichia coli* O157 isolated from cattle, pigs and chickens at slaughter. *International Journal of Food Microbiology*, v. 2614, p. 1-7, 2002.
- UPTON, P.; COIA, J.E. Outbreak of *Escherichia coli* O157 infection associated with pasteurized milk supply. *The Lancet*, v. 344, p. 1015, 1994.
- VASAVADA, P.C. Pathogenic bacteria in milk – A review. *Journal of Dairy Science*, v.71, p.2809-2816, 1988.
- VICENTE, H.I.G.; AMARAL, L.A.; FIGUEIREDO A.M. Shigatoxigenic *Escherichia Coli* serogroups O157, O111 and O113 in feces, water and milk samples from dairy farms. *Brazilian Journal of Microbiology*, v.36, p.217-222, 2005.
- WAHLSTRÖM, H. Verotoxigenic *Escherichia coli* O157. In: *Zoonoses in Sweden up to and including 1999*. Uppsala: Reklam & Katalogtryck, p. 19-22, 2001.
- ZOCAL R. *Quantos são os produtores de leite no Brasil? Panorama do leite On line*. EMBRAPA. Centro de Inteligência do leite. Ano 6 no 64 - Março 2012. Disponível: http://www.cileite.com.br/sites/default/files/Conjuntura_2012_03.pdf.