

Dilermando Simões Dantas^{1*}

*Albimah Medeiros de Araújo*²

*José Ozildo dos Santos*³

*Rosélia Maria de Sousa Santos*⁴

*Onaldo Guedes Rodrigues*⁵

*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 15/12/2012. Aprovado em 10/02/2013.

¹ Médico veterinário, mestre em Zootecnia (UFCG), inspetor da Vigilância Sanitária do Município de Patos-PB. E-mail: dilermandosdantas@ig.com.br

² Agrônomo, mestre em Zootecnia (UFCG), extensionista da EMATER-PB, E-mail: albimahmedeiros@ig.com.br

³ Mestrando em Sistemas Agroindustriais - PPGSA/UFCG, Email: ozildoroseliasolucoes@hotmail.com

⁴ Mestranda em Sistemas Agroindustriais - PPGSA/UFCG. Email: roseliasousasantos@hotmail.com

⁵ Prof. D. Sc. da UFCG - UACB - Patos - PB

ACSA



AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO – ISSN
1808-6845

Artigo Científico

Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, Estado da Paraíba

RESUMO

O queijo de coalho é um produto amplamente comercializado na região Nordeste, produzido na maioria das vezes, com leite cru, normalmente obtidos sem atender as normas higiênicas sanitárias, chegando a mesa do consumidor sem a devida qualidade. É necessária a avaliação microbiológica do produto, na qual são pesquisados microrganismos indicadores de higiene como coliformes fecais, termotolerantes e *Echerichia coli*. Por meio da análise microbiológica (normativa nº 62/2003) foram investigadas 12 amostras de queijo de coalho provenientes do comércio do município de Patos-PB. Os resultados apontaram 100% de contaminação das amostras analisadas, com registro dos NMP/g de coliformes acima de 1100, demonstrando condições impróprias para o consumo humano (Agência Nacional de Vigilância Sanitária - RDC 12/2001). Destaca-se a presença de *E. coli* em todas as amostras e de *Salmonella sp.* em uma única amostra (8,33%), este último dado não é indicador da ausência de contaminação, mas pode implicar em competição biológica. A forma de exposição do produto para comercialização mostrou-se inadequada. Esta condição é resultante da carência das boas práticas de manipulação ao longo da cadeia produtiva, e para minimizar este problema se faz necessário a capacitação contínua dos produtores por meio da parceria intersetorial, e a implantação de protocolo para obtenção de queijo com qualidade microbiológica, que possa oferecer segurança alimentar aos consumidores.

Palavras-chave: Queijo de coalho. Contaminação. *Salmonella sp.* *Echerichia coli*.

Microbiological quality of curd cheese sold in the city of Patos, Paraíba State

ABSTRACT

The curdled cheese is a widely commercialized product in the Northeast. It is produced mostly with raw milk, is usually obtained without meeting the hygienic sanitary standards, reaching the consumer's table without proper quality. Is necessary the microbiological evaluation of the product, in which hygiene indicators such as fecal

coliform, coliform and the *Echerichia coli* are tested. By means of microbiological analysis (normative No. 62/2003), 12 samples of curdled cheese commercialized in the municipality of Patos - PB. The results showed 100% contamination of the samples, which registered the MPN/g of coliforms above 1100, showing inappropriate conditions for human consumption (National Agency of Sanitary Surveillance - RDC 12/2001). Confirmation of the presence of *E. coli* in all samples and *Salmonella* sp. in a single sample (8.33%), since the latter does not indicate the absence of contamination, but it can be a result of biological competition. The product is displayed for commercializing showed that it is inadequate. This condition is the result of a lack of adequate handling practices along the productive chain, and in order to minimize this problem it is necessary the continuous training of farmers through intersectoral partnerships, and implementation of protocol to obtain microbiological quality of cheese, which can provide food security to consumers.

Keywords: Curdled cheese. Contamination. *Salmonella* sp. *Echerichia coli*.

INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um dos mais tradicionais queijos produzidos e consumidos no Nordeste brasileiro, principalmente nos Estados do Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba, e devido à simplicidade de sua tecnologia, é amplamente fabricado nesta região, e por suas características organolepticas peculiares, tem se expandido comercialmente sendo encontrado praticamente em todos os Estados da Federação.

É bastante consumido na região e faz parte das refeições diárias, seja como complemento alimentar ou como iguaria, apresentando um relevante valor socioeconômico e cultural, cujas bases encontram-se enraizadas na história do pecuarista do semiárido transmitida de pais para filhos, e este último mantendo a tradição, faz sua produção de forma artesanal, tendo como base os conhecimentos práticos construídos através de gerações.

A arte de transformar o leite em queijo é uma prática muito antiga e se constitui basicamente em um processo de concentração do leite no qual parte dos componentes sólidos, principalmente proteína e gordura, são agregados na forma de coalhada, enquanto outros constituintes são removidos no soro.

Por se tratar de um produto artesanal, o queijo de coalho possui certo padrão de fabricação, entretanto cada produtor, de acordo com suas habilidades, estrutura física e econômica, faz uma adaptação do processo, adotando pequenas alterações na forma de elaboração do seu produto, resultando em um queijo com características organolépticas peculiares.

As características da matéria prima utilizada para a produção do queijo de coalho, associadas ao método de

produção, na maioria das vezes sem levar em conta as boas práticas de fabricação (BPF), o tornam um alimento favorável ao crescimento de microorganismos patogênicos, e por isso quando consumidos expõe o indivíduo às doenças transmitidas por alimentos (DTAs), constituídas como sério problema de saúde pública, cuja realidade pode ser transformada se o conhecimento tecnológico for disseminado entre os produtores.

A exemplo deste risco, dos 42 casos de surtos alimentares registrados pela Vigilância Epidemiológica da Paraíba entre o ano de 2004 e o primeiro semestre de 2008, 23,8% estavam relacionados a queijos, envolvendo 59 pessoas, onde 10% ocorreram na Capital João Pessoa e 90% no interior do Estado, onde o consumo deste queijo é maior (OPAS, 2009).

Sua comercialização é efetuada em Supermercados e feiras livres, normalmente chegando aos pontos de vendas por produtores ou atravessadores sem uma inspeção e controle de qualidade prévia, decorrente da ausência das ações dos órgãos regulamentadores, Secretarias de Agricultura e Ministério da Agricultura, fazendo com que os consumidores acabem acessando um alimento de baixa qualidade higiênico-sanitária. Daí a necessidade da atuação da Vigilância Sanitária (VISA).

A magnitude dessa situação requer a intervenção direta de profissionais, tanto do setor produtivo como da saúde, que através das suas intervenções podem minimizar o impacto negativo deste agravo nas áreas da saúde pública e econômica, e como na região do semiárido Nordestino ainda não estão definidas as características microbiológicas e os principais pontos de contaminação na cadeia produtiva do queijo, se faz necessário um estudo que propicie este conhecimento, por isso o interesse em conhecer o aspecto microbiológico dos produtos desta região, de forma a documentá-lo e divulgá-lo no meio profissional, acadêmico e científico, e assim subsidiar a tomada de medidas corretivas por parte das autoridades sanitárias e dos produtores.

Decorrente deste interesse surgiu a necessidade da investigação do perfil microbiológico do queijo de coalho comercializado no Brasil, através de uma revisão de literatura, que aborde a pesquisa de coliformes totais, termotolerantes, *Echerichia coli* e *Salmonella* sp., como microrganismos indicadores higiênico-sanitários, o que propicia a identificação das condições de produção e comercialização do queijo de coalho no Estado da Paraíba e no sertão Paraibano.

A base deste estudo foram as hipóteses de que a qualidade do queijo de coalho, nos aspectos higiênico-sanitários, não atende aos requisitos das BPF e que a prática inadequada na fabricação do queijo de coalho coloca em risco a saúde pública.

MATERIAL E MÉTODOS

Em se tratando de queijo de coalho, a Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 (RDC 12/ANVISA), considera como produto próprio para consumo aquele que

apresenta Coliformes 45°C e Estafilococos coagulase positiva com número mais provável por grama (NMP/g) até o valor de 5×10^2 , e ausência de *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes*.

Neste trabalho, foi adotada como microrganismos indicadores das condições higiênicas sanitárias do queijo de coalho a pesquisa de coliforme total, coliforme termotolerante e *E. coli*, bem como a salmonela, que foi pesquisada devido a sua importância como patógeno responsável pela maioria dos casos das gastroenterites.

A Pesquisa foi realizada no município de Patos - PB, situado no sertão paraibano, a uma distância de 301 Km, da Capital do Estado, com uma área de 473,504 Km², sendo 45Km² de área urbana, encontrando-se a uma altitude de 242 m acima do nível do mar. Com uma posição geográfica privilegiada, próximo a divisa dos Estados do Pernambuco e do Rio Grande do Norte, torna-se o principal centro comercial da região do sertão paraibano. O município possui uma população estimada em 2011 de 101.359 habitantes com uma densidade demográfica de 212,82 hab./km². Somando-se a esse número, conta com uma população flutuante fazendo com que este valor oscile em torno de 130 mil pessoas (IBGE - 2011).

Na área de produção de leite apresenta um quantitativo de 2.091 mil litros de leite bovino por ano (IBGE, 2011), e mesmo não existindo dados oficiais que comprovem a produção de queijo de coalho no município e o volume comercializado, um levantamento feito em cinco dos oito comerciantes de queijos e outros produtos lácteos artesanais como o queijo de manteiga, a manteiga de garrafa, o doce de leite e a nata nas instalações do Mercado Público, chegamos a um volume aproximado de 830 Kg semanais. Entretanto sabemos que este quantitativo é superior a este volume, uma vez que não foi levado em conta o que é comercializado nos supermercados, mercearias e similares cadastrados junto a VISA.

Para a realização desse estudo, as amostras de queijo foram coletadas no Mercado Público e em 03 Supermercados da cidade de Patos - PB, caracterizados como os principais pontos comerciais e distribuidores de queijo, em virtude do porte dos estabelecimentos e do volume comercializado. Estes pontos de venda recebem produtos de diversas procedências, inclusive de localidades fora do Estado, fato justificado e comprovado mediante aplicação de questionário junto aos comerciantes, que subsidiou informações referente a identificação da origem do produto, bem como do volume comercializado.

A população do estudo foi composta de 08 tarimbas (boxes de comercialização), do Mercado Público e 176 supermercados que comercializam queijo de coalho na cidade de Patos, conforme dados da VISA, caracterizados como os principais pontos comerciais. A amostra foi constituída por 04 tarimbas, 03 supermercados e 01 queijeira. Para seleção das tarimbas foi utilizado como critério de exclusão encontrar-se fechada e para a

determinação dos supermercados aqueles que vendiam queijos industrializados e recebiam produtos coincidentes com os das tarimbas. Destes pontos comerciais foram coletadas 12 amostras de queijo, que mesmo sendo superior ao número de estabelecimentos, tem como justificativa o fato de que um mesmo estabelecimento comercializar queijo de mais de um produtor, e assim fornecer mais de uma amostra.

Os dados foram coletados no ano de 2010, no comércio varejista do município de Patos - PB, tendo como apoio a VISA Municipal, através dos seus inspetores sanitários, quando estes realizavam o trabalho de inspeção determinado como tarefa diária, não os desviando de suas obrigações cotidianas. Entretanto, para que não ocorresse desperdício de tempo, foi elaborado um cronograma previamente planejado, seguindo o roteiro estabelecido pelo órgão aproveitando o momento de inspeção nos estabelecimentos selecionados para o estudo para realizar a coleta das amostras do queijo de coalho, adotando as recomendações na Instrução Normativa Nº 62 (BRASIL, 2003).

As amostras foram adquiridas em duplicata para uma eventual necessidade de uma análise de contra prova, a partir da retirada de frações da peça inteira, utilizando a faca do próprio comerciante, e depois acondicionadas em sacos estéril com arame de fechamento, desenvolvido para coleta de amostras sólidas ou líquidas. Transportada em caixa isotérmica, com a identificação de cada amostra e informações prestadas pelo comerciante, através do preenchimento de uma ficha de cadastro previamente elaborada. As amostras foram mantidas sob refrigeração até o momento da análise, realizadas no Laboratório de Bromatologia da VISA Municipal.

Para a realização da análise microbiológica adotou-se a técnica preconizada por Brasil (2003), onde a mesma deu-se em quatro etapas: determinação do NMP/g de Coliformes Totais; pesquisa de Coliformes termotolerantes; *E. coli* e pesquisa de *Salmonella sp.*

Para a determinação do NMP/g de Coliformes Totais utilizou-se a técnica de tubos múltiplos, na qual foram utilizados nove tubos, agrupados de três em três conforme a diluição, e posteriormente agrupados para fazer a contagem utilizando a Tabela do Número Mais Provável por 100ml, para séries de 3 tubos com inóculos de 10 ml, 1,0 ml e 0,1 ml, e respectivos intervalos de confiança 95%.

Para dar continuidade a análise microbiológica foram preparadas placas de Petri para serem semeadas e a partir da formação de colônias típicas, identificar e confirmar a presença de *E. coli* e de *Salmonella sp.*

Para a análise dos dados, utilizou-se a tabela do NMP/g, pela técnica de tubos múltiplos com diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em CL, para pesquisa presuntiva de coliformes totais e caldo verde brilhante como método confirmativo. Para confirmação contaminação por bactérias termotolerantes usou-se como meio de cultura o CEC, com todos os tubos em triplicata, sendo considerado positivo os que apresentaram formação de gás no interior

dos tubos de Durhan. Os resultados obtidos foram comparados com o Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos (RDC 12/ANVISA).

Para diferenciação de *E. coli* e *Salmonella sp.*, adotou-se a identificação de colônias típicas após plaqueamento e crescimento em meios seletivos usando à habilidade de produção de gás sulfídico, habilidade de fermentar carboidratos e descarboxilar a lisina presente no meio de cultura e confrontando a luz da literatura.

O tratamento estatístico adotado foi descritivo simples, com a frequência estabelecida em termos percentuais, quantificados como sendo dentro e fora dos

padrões e posteriormente confrontados à luz da literatura pertinente e com a legislação vigente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados foram agrupados em quadros a fim de facilitar a interpretação dos resultados, sendo dispostos em dois momentos, um que descreve a caracterização da amostra construído a partir das informações coletadas junto aos comerciantes, através da ficha de cadastro (Quadro 1) e outro que apresenta a contagem de coliformes fecais e totais.

Quadro 1 Caracterização das amostras de queijo coletadas com informações colhidas no local de comercialização

Nº da Amostra	Procedência da amostra	Condição de exposição para venda	Pré-aquecido	Embalagem	Nº Dias de fabricação
1	Intermunicipal	Não refrigerado	Sim	Inadequada	3
2	Intermunicipal	Não refrigerado	Sim	Inadequada	5
3	Intermunicipal	Não refrigerado	Sim	Inadequada	3
4	Intermunicipal	Não refrigerado	Sim	Inadequada	1
5	Município do estudo	Não refrigerado	Sim	Inadequada	1
6	Intermunicipal	Não refrigerado	Sim	Inadequada	2
7	Interestadual	Não refrigerado	Não	Inadequada	3
8	Intermunicipal	Refrigerado	Não	Inadequada	NI ^(*)
9	Intermunicipal	Refrigerado	Sim	Inadequada	NI
10	Interestadual	Refrigerado	Não	Inadequada	NI
11	Intermunicipal	Refrigerado	Não	Inadequada	NI
12	Intermunicipal	Refrigerado	Não	Inadequada	1

(*) Não informado

A partir dos dados apresentados percebeu-se que no tocante a procedência da amostra, apenas 1(8,33%) foi fabricado no município do estudo, 9 (75%) eram fabricados em municípios do próprio estado e 2 (16,67%) provenientes de Estados vizinhos. A média de venda de queijo mensal nestes estabelecimentos gira em torno de 81,6 kg semanal, o que fornece um bom suporte financeiro aos produtores, porém os dados sugerem que, para o município em estudo a venda do leite in natura, bem como a fabricação de queijo manteiga são mais representativas para os produtores deste município do que o queijo de coalho.

A comercialização dos mesmos ocorre na maioria das vezes sem refrigeração, com 7 (58,33%) representando esta condição, onde os queijos para comercialização são expostos em balcão, fato comum nas tarimbas. Já os que são comercializados sob refrigeração, representados por 5 amostras (41,67%), são expostos em balcões refrigerados que foram encontrados nos supermercados e queijeira.

No estudo 100% das amostras estavam embaladas de forma inadequada, pois não obedeciam às recomendações exigidas pela legislação. A forma de exposição do queijo durante a comercialização, por si só, não é suficiente para garantir índices microbiológicos dentro dos limites aceitáveis como preconiza a Resolução

de Diretoria Colegiada (RDC) nº12 (5x10²), visto que a contaminação pode ocorrer diretamente no processo de fabricação pela ausência de BPF e pela qualidade da matéria prima utilizada, entretanto Brasil (2001) recomenda através do Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos de alimentos que o acondicionamento do queijo deve ser em temperatura não superior a 12°C e embalados bromatologicamente apta com ou sem vácuo.

Outro ponto que merece destaque é a falta do atendimento às exigências de embalagem preconizadas pela legislação, que decorrente da pouca exigência por parte do mercado consumidor, deixa os produtores livres para utilizar o invólucro que mais lhes convier, e desta forma os queijos são embalados, na sua grande maioria, salvo alguns poucos provenientes de outro Estado, em sacos plásticos normais, que, não sendo fechados a vácuo, podem facilmente ser manipulados tanto pelo próprio comerciante como pelo consumidor, e com isso favorecer a contaminação, quando esta já não ocorreu com a matéria prima, que na maioria das vezes é obtida sem uma ordenha adequada, ou mesmo proveniente de um rebanho que não teve acompanhamento médico veterinário que garanta a sua sanidade.

Com relação à forma de fabricação do queijo, 100% da amostra foi produzida com leite cru, sem passar

por um processo de maturação, uma vez que a média do nº de dias de fabricação foi de 2,4, e a portaria ministerial 146 (BRASIL, 1996) determina que o processo de maturação a uma temperatura superior aos 5° C, seja aplicado nos queijos fabricados com leite sem pasteurização, durante um tempo não inferior a 60 dias.

Ainda referente ao processo de fabricação 7 elementos (58,33 %) da amostra tiveram o soro ou massa aquecida, constituindo o “queijo pré-cozido”, e 5 (41,67%) não passaram por este processo. No entanto, esse procedimento aparentemente não foi utilizado para

melhoria na qualidade microbiológica, haja vista não caracterizar a pasteurização, que não foi adotada para nenhuma das amostras, mas sim como um aquecimento para realização de uma segunda dessoragem criando um queijo com uma massa de consistência mais firme que atende as exigências do mercado consumidor. Esta técnica vai ao encontro do que referencia Beux (2011), quando a mesma afirma que o cozimento é utilizado para melhorar a dessora influenciando na expulsão do soro pela formação de ligações intermicelares com a consequência retração do coágulo.

Quadro 2: Contagens de coliformes totais e fecais (termotolerantes) pelo método do Numero Mais Provável por grama (NMP/g) e plaqueamento diferencial para *E. coli* e *Salmonella sp.*

Nºda Amostra	Coliformes totais	Coliformes a 45°C	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>
1	>1100	>1100	Presente	Ausente
2	>1100	>1100	Presente	Ausente
3	>1100	>1100	Presente	Ausente
4	>1100	>1100	Presente	Ausente
5	>1100	>1100	Presente	Ausente
6	>1100	>1100	Presente	Ausente
7	>1100	>1100	Presente	Ausente
8	>1100	>1100	Presente	Ausente
9	>1100	>1100	Presente	Ausente
10	>1100	>1100	Presente	Ausente
11	>1100	>1100	Presente	Presente
12	>1100	>1100	Presente	Ausente

A partir dos resultados da análise microbiológica detectou-se que a presença de coliformes totais e termotolerantes em 100% da amostra ficou acima de 10×10^2 NMP/g, o que de acordo com as normas regulamentares, define o produto como impróprio para a comercialização e conseqüentemente para o consumo humano, já que a legislação brasileira vigente apresenta como limite máximo de tolerância para os referidos 5×10^2 NMP/g. A contagem de coliformes totais é utilizada como indicador higiênico, e a presença de coliformes 45° C e *E. coli* nas amostras indica que material fecal entrou em contato com o alimento, de forma direta ou indireta, o que implica dizer que outros patógenos entéricos podem estar presentes no queijo.

Com valores tão acima do estabelecido pela legislação, pode-se questionar a qualidade da matéria prima, e reafirmar a ausência das BPF, o que leva ainda a uma condição crítica, onde os produtos chegaram a mesa do consumidor sem o devido controle de qualidade, e como estes muitas das vezes o consome cru, levam os patógenos diretamente ao trato intestinal, favorecendo assim a instalação de DTA.

Estudos realizados por Santana et al. (2008) em Aracaju – SE e por Alves et al. (2009) em São Luiz - MA reafirmam este achado, onde os resultados dos seus trabalhos apontam contaminação do queijo de coalho por coliformes totais e termotolerantes superiores ao definido

pela legislação nacional, e os autores atribuem este fato as más condições de higiene no processo de produção.

Vários estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo-coalho relataram ocorrência de microrganismos patogênicos e contagem de microrganismos deterioradores em números que excedem, às vezes, os limites estabelecidos pela legislação. Dentre as bactérias patogênicas observadas destacam-se *Salmonella sp.*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (CAVALCANTE et al., 2007).

Com exceção da amostra 11 (8,33 %), todas as outras amostras apresentaram ausência de *Salmonella sp.* em 25g de queijo, o que significa que 91,66 % das amostras se encontravam em conformidade com a legislação vigente em relação a esse patógeno. Porém este dado, analisado isoladamente, não significa propriamente que os resultados sejam negativos para *Salmonella sp.*, uma vez que, na cadeia biológica, uma espécie de determinado microrganismo pode destruir outra, e para se ter uma resposta efetiva sobre este dado, seria necessária uma pesquisa sobre toda a cadeia produtiva.

Para embasar este fato Balduino; Oliveira; Haully (1999) afirmam que quando são adicionadas a alimentos bactérias iniciadoras, como a bactéria láctica, com a finalidade de melhorar a conservação, a segurança e as características sensoriais, elas podem acelerar o processo de maturação, e através da produção de ácido láctico no início da fermentação, diminuir o pH e inibir

microrganismos indesejáveis como *Salmonella sp.*, *Yersinia enterocolitica* e *Escherichia coli*.

Para minimizar este problema, é recomendado que o queijo de coalho seja produzido com leite pasteurizado, fato regulamentado pela IN nº 30 e Portaria 146, que exclui da obrigatoriedade de tratamento térmico, os produtos submetidos a processo de maturação durante um tempo superior a 60 dias.

A ANVISA em 2004 aprovou o Regulamento Técnico das Boas Práticas para Serviços de Alimentação por meio da RDC Nº 216. A desobediência à essa Resolução configura infração de natureza sanitária, conforme rege a Lei Federal de nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, dispositivos também adotados entre Estados e Municípios, porém o que se vê na prática dos órgãos de fiscalização é que a aplicabilidade das BPF se restringe as unidades produtivas reguladas por esses órgãos, representando uma pequena parcela de produtores deste tipo de queijo.

Com os resultados encontrados neste estudo e levado a luz das literaturas existentes, não só em relação ao queijo de coalho, mas em diversos outros produtos de origem animal e vegetal fabricados de forma artesanal, pode-se concluir que as normas sanitárias vigentes no país desde a década de 50, como o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RISPOA), BPM também previstas RDC 216 da ANVISA (BRASIL, 2004), não são atendidas ao longo da cadeia produtiva.

Mediante estes problemas, pode-se afirmar que isso decorre da ausência de fiscalização, das BPF e regras de higiene, bem como da liberdade de ação dos produtores, porém é sabido que se bem aplicadas, controlam, amenizam ou ainda, eliminam a contaminação dos alimentos por agentes patogênicos (biológicos, físicos e/ou químicos). Para a segurança alimentar as mesmas ser obedecidas pelos manipuladores desde a escolha e compra da matéria prima para o preparo do alimento, até a venda para o consumidor final, compreendendo assim toda a cadeia produtiva.

Para resolver este problema se faz necessário o aumento do contingente de técnicos nas entidades competentes, para que possa haver uma fiscalização mais efetiva e eficiente, além da capacitação dos pequenos produtores em BPF, uma recomendação que tem sido feita em todos os trabalhos realizados em que se identifica contaminação em alimentos. Esta capacitação deve ser realizada mediante oficinas, cursos, palestras, dia de campo e divulgação em meios de comunicação, com a participação dos diversos setores: Universidades, Secretária de Agricultura, EMATER, Vigilância Sanitária, através de um trabalho intersetorial e multidisciplinar, de forma que sejam estabelecidas medidas, traçadas com e para os produtores, afim de que os mesmos possam ofertar um produto com qualidade microbiológica, e assim agregar valor ao produto, visto que o mesmo não irá oferecer risco à população consumidora.

Na avaliação dos resultados das análises microbiológicas das amostras do estudo, foram seguidas as técnicas recomendadas por Brasil (2003), conforme disposição e descrição das figuras que se seguem:

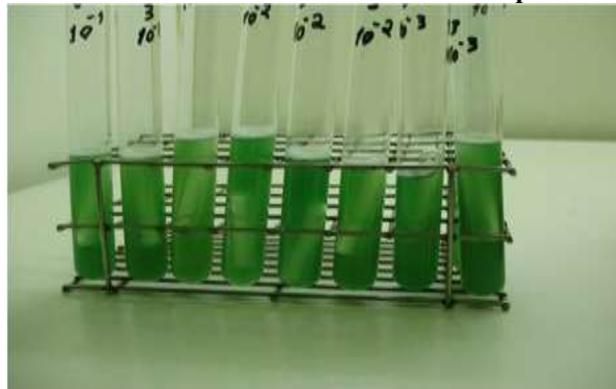
Figura 1: Fermentação do meio com produção de gás em CL evidenciado pela formação de bolha no interior do tubo Durhan



Fonte: Os autores

A Figura 1 retrata a utilização do CL para inoculação da fração retirada da amostra homogeneizada. Esta técnica é aplicada para que, na existência de bactérias anaeróbicas, as mesmas possam ter seu crescimento favorecido, e através da fermentação da lactose presente no meio de cultura causar a produção de gás. Neste caso, este processo pode ser observado a partir da formação de gás no interior de todos os tubos Durhan, que preenche mais de 1/10 da capacidade do tubo, sendo por isso, conforme a legislação nacional adotada, considerado como positivo servindo como meio presuntivo para presença de bactérias do grupo coliformes.

Figura 2: Produção de gás em CVB confirmando a ação de bactéria Gram negativa, uma vez que os sais biliares inibem o crescimento de bactéria G. positiva



Fonte: Os autores

O Caldo VB é o meio utilizado para a confirmação do teste presuntivo para coliformes uma vez que entre os seus constituintes encontram-se os sais

biliares, que inibem o desenvolvimento de organismos não coliformes.

A formação de bolha no interior do tubo Durhan, evidenciado na Figura 2, é um indicativo da produção de gás pela ação fermentativa da lactose por bactérias anaeróbicas que inclui os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. O fato de todos os tubos apresentarem o gás, é que permite estabelecer o NMP/g, como um valor maior que 1100.

Figura 3: Produção de gás em CEC quando incubado a 44°C significando a presença de bactéria termotolerantes, compatível com coliformes fecais



Fonte: Os autores

A Figura 3 mostra a utilização de CEC para diferenciação de coliformes termotolerantes, nas quais estão incluídas a *E. coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Para tanto as amostras positivas no teste presuntivo (CL) foram incubadas neste meio por 24h à 44°C, e possibilitando a leitura da presença de bactérias termotolerantes através da produção de gás no tubo Durhan, como evidenciado na Figura.

Porém, como este método não é específico apenas para *E. coli*, mas sim para microrganismos termotolerantes, e sendo interesse de investigação neste estudo a presença de *E. coli* meio, visto que ela é estritamente fecal, faz-se necessário a identificação da mesma, por meio de plaqueamento em meio seletivo o qual se fez com a utilização de Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), meio seletivo onde *E. coli* cresce abundantemente, apresentando uma característica típica que é cor verde metálico brilhante, diferente de outros microrganismo que também poder desenvolver-se neste meio sendo necessária a realização de outros testes como o bioquímicos quando se pretende uma completa identificação de outros agentes o que não foi objeto desse estudo.

Figura 4 Colônias típicas de *E. coli*, apresentando coloração verde metálico em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)



Fonte: Os autores

Nesta placa (Figura 4) e em todas as outras, foi utilizado o meio EMB, onde, dentre seus diversos componentes, a eosina e o azul de metileno permitem a inibição do crescimento de bactérias Gram positivo, conduzindo a diferenciação entre os microrganismos fermentadores e não fermentadores de lactose (HAJDENWURCEL, 1998).

A partir deste princípio, é possível a identificação de *E. coli* pela visualização de colônias na cor verde com brilho metálico, como resultado da reação da eosina em meio com pH baixo devido a produção de ácido consequente da fermentação da lactose.

A *Salmonella sp.* quando inoculada no meio Ágar Hectoen apresentam um crescimento bom a excelente caracterizada por uma morfologia de colônias na cor verdes a verdes-azuladas podendo apresentar centro preto, e por serem microrganismos que não consomem compostos carbono (carboidratos), fazem com que o meio mantenha sua cor original. Por outro lado, a *E. coli*, sofrem uma inibição parcial sendo que pela sua capacidade de fermentação da lactose faz com que a cor do meio mude, passando de verde para uma coloração amarelo alaranjado, isso quando a *E. coli* não é inibida completamente (BD, 2009).

Figura 5: Colônias de *Salmonella sp.* em meio HE - enriquecido em CTT, apresentando pontos amarelados sugestivo de contaminação por *Proteus* ou *Klebsiella*



Fonte: Os autores

Na Figura 5 é possível visualizar a formação de colônias em tonalidades de verdes azulado mais escuras que o meio, e com isso confirmamos nesta placa o crescimento de *Salmonella sp.* Além disso, evidencia-se a formação de pontos negros devido a produção de H₂S (ácido sulfúrico) pelas bactérias, que reagiu com o Tiosulfato de sódio e o citrato de ferro amoniacal, uma condição que compartilhada com Hajdenwurcel (1998).

O crescimento de colônias na coloração amarelo alaranjado é sugestivo do crescimento *Proteus*, *Klebsiella* ou ainda indicar *E.coli*, sendo, portanto, fundamental para identificação da colônia acompanhante a realização de testes bioquímicos apesar deste meio ser padrão para o isolamento de *Salmonella sp.* e *Shigella sp.*

São raros os casos em que um único meio de cultura seja suficiente para recuperação e identificação todos os agentes patogênicos existentes numa amostra. Por essa razão, devem ser inoculados em conjunto com a amostra meios adicionais para o isolamento microbiano e evitar erros na interpretação dos resultados por conta da possibilidade da presença de outros microrganismos.

Figura 6: Colônias de *E. coli* em meio HE - enriquecido em CTT, com destaque para mudança da cor do meio de verde para vermelho



Fonte: Os autores

Na Figura 6, percebe-se o crescimento de *E. coli*, através da formação de colônias no meio HE, como resultado da fermentação de lactose, sacarose e salicina que fazem parte da formulação deste meio. Este indicativo é evidenciado pela mudança na coloração do meio, que passou de verde para vermelho e as colônias com tom amarelado.

Para maior segurança na confirmação das análises das amostras no tocante a identificação de *Salmonella sp.*, foi utilizado antes do plaqueamento, enriquecimento seletivo em meios de cultura diferentes, o que apresentou ao final da incubação das placas resultados semelhantes e confirmatórios da presença de *Salmonella sp.* em uma das amostras, evidenciadas morfológicamente, conforme demonstrado nas figuras do Apêndice E.

CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos, podemos inferir as seguintes conclusões:

Em relação a caracterização do produto comercializado no município em questão, um fato é elucidador, a grande maioria é oriundo de outros municípios, que chega até o ponto de venda sem a adoção de boas condições no transporte, na embalagem, na refrigeração e no armazenamento, sem obedecer às recomendações e exigências da legislação no Brasil, o que propicia condições que favorece a contaminação do produto tornando-o impróprio para consumo humano.

O leite, utilizado como matéria prima para a produção dos queijos analisados, não passou pelo processo de pasteurização, e alguns produtores fizeram uso do pré-cozimento, procedimento insuficiente para eliminar as bactérias presentes no leite cru, uma vez que seu grande objetivo não é minimizar a contaminação e sim dar mais consistência ao queijo, por facilitar o processo de dessoragem;

A maturação, recomendação da legislação nacional quando se usa leite cru na fabricação de queijo, não foi adotada por nenhum produtor, fato relegado, uma vez que o interesse do mesmo é fazer o escoamento rápido da sua produção, para garantir o retorno financeiro do seu investimento em curto espaço de tempo;

A análise microbiológica mostra que a presença de coliformes totais e termotolerantes ficaram acima de 10×10^2 NMP/g, um valor muito superior ao preconizado pela legislação brasileira vigente, levando-nos a concluir que estes produtos estão sendo fabricados sem a adoção das BPF, uma condição que compromete a qualidade do produto e que põe em risco a saúde do consumidor;

A existência de *E. coli* em todas as amostras reafirma uma situação que se repete em todos os estudos realizados que tratam da avaliação microbiológica do queijo de coalho, porém a presença da *Salmonella sp.* em apenas uma amostra pode ser um indicativo da competição microbiológica no meio;

A maioria dos produtores desconhecem as normas regulamentadoras que existem para fornecer parâmetros técnicos para implantação e instalação das queijeiras e, há insuficiência de profissionais técnicos e estruturas das entidades regulamentadoras como as VISAs e Secretarias de Agricultura para fiscalizar todas as propriedades produtoras e fornecer orientação técnica para os mesmos;

A parceria entre órgãos técnicos e de ensino deve ser adotada para a capacitação de produtores de queijo, tendo como base a implantação do protocolo para obtenção de alimentos com qualidade microbiológica, a fim de garantir aos mesmos um produto que lhe garanta uma boa renda e não coloque em risco a saúde do consumidor;

É necessária a realização de novas pesquisas que busquem identificar os pontos de contaminação na cadeia produtiva, a fim de fornecer subsídios aos órgãos

fiscalizadores para que os mesmos possam atuar com mais pontualidade.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. M. C. et al. **Qualidade microbiológica do leite cru e de queijo de coalho comercializados informalmente na cidade de São Luís - MA.** Pesquisa em Foco, v. 17, n.2, p. 01-13, 2009. Disponível em: http://ppg.revistas.uema.br/index.php/pesquisa_em_foco/article/viewFile/248/251 Acessado em: 1 de agosto de 2011.

BALDUINO, R., OLIVEIRA, A. S. de, HAULY, M. C. de O. **Cultura láctica mista com potencial de aplicação como cultura iniciadora em produtos cárneos.** Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.19 n.3. Campinas, Sept. / Dec. 1999, Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-0611999000300011. Acessado em 15 de Setembro de 2011.

BEUX, S. **Apostila de Tecnologia de Leite e Derivados.** Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAAA7PYAF/apostila-tecnologia-leite-derivados>. Acessado em: 23 de Outubro de 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004.** Regulamentos Técnicos sobre de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: http://bvms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html. Acessado em: 15 setembro de 2011.

_____. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003.** Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União de 18/09/2003, Seção 1, Página 14, Anexos V e IX.

_____. Ministério da Agricultura. **Instrução Normativa Nº 30, de 26 de junho de 2001.** Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga. Diário Oficial da União de 16/07/2001, Seção 1, Página 1. Brasília: 2001a.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. p.1-54. Brasília: 2001b.

_____. Ministério da Agricultura. **Portaria nº 146, de 7 de março de 1996.** Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 11 mar. 1996, Seção 1, p. 3977-3978.

_____. Ministério da Agricultura. **Regulamento da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal** (Aprovado pelo decreto nº 30690, de 20.03.52, alterado pelo decreto nº 1255, de 25.06.52). Brasília. 66p.

CAVALCANTE, J.F.M. et al. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 27(1): 205-214, jan.-mar. 2007.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades.** Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>. Acesso em: 03 Abril de 2011.

OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde. **Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos.** Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças - OPAS/OMS, 2009.

SANTANA, R. F. et al. **Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE.** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec., Minas Gerais, v.60, n.6, p.1517-1522, 2008.