

UNILEÃO
CENTRO UNIVERSITÁRIO DR. LEÃO SAMPAIO
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

LETÍCIA LAIANA BEZERRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS COALHO
ARTESANAIS PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE JAGUARIBE-CE**

Juazeiro do Norte - Ceará

2019

LETÍCIA LAIANA BEZERRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS COALHO
ARTESANAIS PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE JAGUARIBE-CE**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof^a. Ma. Tassia Thais Al Yafawi

Juazeiro do Norte - Ceará

2019

LETÍCIA LAIANA BEZERRA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS COALHO
ARTESANAIS PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE JAGUARIBE-CE**

Artigo Científico apresentado à Coordenação do Curso de Graduação em Biomedicina do Centro Universitário Dr. Leão Sampaio, como requisito parcial para a obtenção do grau de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof^a. Ma. Tassia Thais Al Yafawi

DATA DA APROVAÇÃO: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof(a)Ma. Tassia Thais Al Yafawi

ORIENTADOR

Prof(a) Esp. Lívia Maria Garcia Leandro

EXAMINADOR 1

Prof(a) Esp. Maria Dayane Alves de Aquino

EXAMINADOR 2

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS COALHO ARTESANAIS PRODUZIDOS NO MUNICÍPIO DE JAGUARIBE-CE

Letícia Laiana Bezerra da Silva¹, Tássia Thais Al Yafawi²

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de queijos coalho artesanais produzidos na cidade de Jaguaribe-CE. Foram analisadas 30 amostras coletadas de estabelecimentos que produzem o queijo, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelox e levadas para o laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO) para a pesquisa de *Staphylococcus aureus* e Enterobactérias. As amostras foram diluídas em solução salina, semeadas nos meios de cultura Ágar Manitol Salgado, Ágar SS (*Salmonella-Shighella*) e Ágar EMB (Eosina Azul de Metileno), onde permaneceram durante 24 horas na estufa, em seguida foram feitas as identificações bacterianas. Quanto à presença de *Staphylococcus aureus*, foram positivas em 100% das amostras, enquanto 69,2% das amostras apresentaram crescimento bacteriano para *Escherichia coli*. Na pesquisa de *Salmonella spp* foi observado ausência da bactéria nas amostras, o que está de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA, segundo a Resolução n° 12 de 02 de janeiro de 2001. Os resultados obtidos por meio dessa pesquisa podem estar relacionados com o armazenamento e contaminação provavelmente por meio da manipulação dos alimentos.

Palavras-chave: Queijo coalho. Infecção alimentar. Qualidade microbiológica. *Staphylococcus aureus*.

EVALUATION OF THE BACTERIOLOGICAL QUALITY OF COALHO CHEESE PRODUCED IN THE MUNICIPALITY OF JAGUARIBE-CE

ABSTRACT

The present study had as objective to evaluate the microbiological quality of artisanal coalho cheese produced in the city of Jaguaribe-CE. We analyzed 30 samples collected from establishments producing cheese conditioned in isothermal boxes containing gelox and taken to the Laboratory of Microbiology of the University Center LeãoSampaio (UNILEÃO) for the research of *Staphylococcus aureus* and Enterobacterias. Samples were diluted in saline solution, seeded in the culture medium Saline Mannitol Agar, Salmonella-Shighella Agar and EMB Agar (Methylene Blue Eosin), where they remained for 24 hours in the greenhouse, then the bacterial identifications were made. As to the presence of *Staphylococcus aureus*, were positive in 100% of the samples, while 69.2% of the samples showed bacterial growth for *Escherichia coli*. In the *Salmonella spp* study, the bacteria were absent in the samples, which is in accordance with the standards established by ANVISA, according to Resolution n° 12 of January 2, 2001. The results obtained through this research may be related to storage and contamination probably through the manipulation of food.

Keywords: Coalho cheese. Food poisoning. Microbiological quality. *Staphylococcus aureus*.

¹Discente do curso de Biomedicina, leticia_laiana10@hotmail.com, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

²Docente do curso de Biomedicina, tassiathaisalencar@gmail.com, Centro Universitário Doutor Leão Sampaio.

1 INTRODUÇÃO

O queijo coalho é um alimento típico da região Nordeste do Brasil, sendo popularmente conhecido pelas suas técnicas simples de fabricação, contribuindo diretamente no aumento da renda dos produtores, elevando os índices socioeconômicos da região (SILVA, 2010).

Sua definição baseia-se na obtenção do queijo a partir da coagulação do leite por meio de enzimas apropriadas para a coagulação, como o coalho. Podendo ser complementada pela ação de bactérias lácteas e comercializado em até 10 dias após sua fabricação (NASSU et al., 2003).

São intitulados de artesanais os queijos com as características de produção que mantêm técnicas ou processos tradicionais de forma rudimentar. Na maioria das vezes sem controle de qualidade apropriado, os queijos artesanais representam 40% do volume total de queijos comercializados no Brasil (SEBRAE, 2008).

Para obtenção de um produto com alto valor nutricional, devem-se implantar programas que assegurem a qualidade do alimento. As Boas Práticas de Fabricação (BPF) tem suma importância no que diz respeito à segurança alimentar e a comercialização de um alimento saudável. Devido ao processo de fermentação, a microbiota do queijo é composta por microrganismos desejáveis, que auxiliam na conservação do produto, mas há presença de microrganismos indesejáveis, que podem ser resultado de uma higiene inadequada (FILHO et al., 2009).

Estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo coalho relataram a presença de microrganismos patogênicos e contagem de microrganismos deteriorados, podendo ultrapassar os limites impostos pela legislação, que estabelece os seguintes valores de tolerância em uma amostra indicativa: Coliformes a 45°C/g: 5×10^3 , Estafilococos coagulase positiva/g: 10^3 , *Salmonella* sp/25g: Ausente. Dentre as bactérias patogênicas mais observadas destacam-se os Coliformes termotolerantes, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras, sendo *Salmonella* spp. e *Staphylococcus aureus* comumente encontradas em derivados lácteos (ALMEIDA; FRANCO, 2003; BRASIL, 2001; CAVALCANTE et al., 2007).

Pode-se relacionar a presença de Coliformes nos queijos, com a qualidade do leite. Os microrganismos provocam alterações no leite, podendo torná-lo impróprio para o consumo,

além de interferir diretamente no processo de fabricação do queijo artesanal (OLIVER et al., 2008).

O preparo rudimentar de queijos, aliado à manipulação inadequada dos comerciantes e o acondicionamento inadequado, pode levar a uma contaminação dos alimentos. Dessa forma, o presente estudo obteve como finalidade avaliar a qualidade microbiológica de queijos coalho artesanais produzidos na cidade de Jaguaribe-CE.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AMOSTRA E LOCAL DE ANÁLISE

Foram analisadas um total de 30 amostras de queijos coalho, coletadas aleatoriamente de estabelecimentos que comercializam o queijo na cidade de Jaguaribe, Ceará, no período de Fevereiro a Março de 2019. Foram observados os seguintes critérios: condições de higiene do estabelecimento, armazenamento e temperatura adequada das amostras, uso de EPI's adequados à manipulação do produto (touca, luva, avental), presença de insetos ou outros vetores. As amostras foram fracionadas, identificadas, pesadas na embalagem comercial originária do próprio local de venda, acondicionadas em caixas isotérmicas, contendo gelox e transportadas até o laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Leão Sampaio (UNILEÃO) para análise imediata.

2.2 PROCESSAMENTO

Uma faca de aço inoxidável esterilizada foi utilizada para abrir uma fenda na amostra do queijo, de onde foram retiradas, com auxílio de um estilete, previamente flambado, as alíquotas de queijo-coalho para análise microbiológica (SILVA et al., 1997).

2.3 IDENTIFICAÇÃO DE *ESCHERICHIA COLI*

Para a identificação de enterobactérias, foram utilizadas alíquotas de $25 \pm 0,2$ g diluídas em água salina peptonada 0,1% até a obtenção de soluções de diluição 10^1 a 10^3 . As diluições foram transferidas para placas contendo EMB a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24h. Os microrganismos isolados foram submetidos à identificação bioquímica nos seguintes meios: fenilalanina, TSI, citrato, uréia e indol.

2.4 IDENTIFICAÇÃO DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Para a quantificação de *Staphylococcus aureus*, foram utilizadas alíquotas de $25 \pm 0,2$ g diluídas em água salina peptonada 0,1% até a obtenção de soluções de diluição 10^1 a 10^3 . De cada uma das diluições foi transferido 0,1ml para placa contendo ágar manitol salgado, as quais foram incubadas a 35°C por 48h. Em seguida, foi realizada avaliação das colônias que apresentarem características típicas: colônias circulares, pequenas (máximo 1,5mm em diâmetro), lisas, convexas, com bordas perfeitas e massa de células esbranquiçada. A verificação microscópica da morfologia das células isoladas foi realizada pelo método de Gram. As células que se apresentaram como cocos Gram-positivos, agrupados em forma de cacho, foram submetidas à prova de catalase para contagem confirmativa de *Staphylococcus aureus*. As células que se apresentaram como cocos Gram-positivos, agrupados em forma de cacho, foram submetidas à prova de catalase e coagulase para contagem confirmativa de *Staphylococcus aureus* (KONEMAN et al., 1999).

2.5 IDENTIFICAÇÃO DE *SALMONELLA SPP.*

Para a pesquisa de *Salmonella spp.*, uma alíquota de $25 \pm 0,2$ g foi diluída em solução salina e incubada a 35°C por 18-20h (pré-enriquecimento). Posteriormente, volumes de 1ml foram transferidos para tubos contendo caldo BHI e incubados a 35°C (enriquecimento seletivo). Após 24h, foram realizados repiques em placas de ágar Salmonella-Shigella (SS) e incubados a 35°C por 18-24 h. Os microrganismos isolados foram submetidos à identificação bioquímica: testes de urease, indol, TSI, citrato e fenilalanina.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tabela 1: Porcentagem da utilização de equipamentos de proteção individual pelos manipuladores do queijo comercializado na cidade de Jaguaribe-CE

EPI'S	SIM (100%)	NÃO (100%)
Touca	-	100
Luva	-	100
Avental	-	100

Conforme mostra a tabela 1, foi observado que 100% dos manipuladores dos estabelecimentos que comercializam queijo coalho não faziam uso de equipamentos de proteção individual como toucas, luvas e avental, por exemplo.

Com base no *check list* aplicado com o intuito de avaliar as condições higiênicas dos estabelecimentos que produzem queijo coalho, 75% apresentaram condições adequadas de higiene, enquanto 25% apresentaram irregularidade na higienização.

Silva et al.,(2013) constataram condições normais em 71,4% das amostras, e condições irregulares de higiene em 28,6% dos estabelecimentos, o que condiz com os valores encontrados no presente estudo.

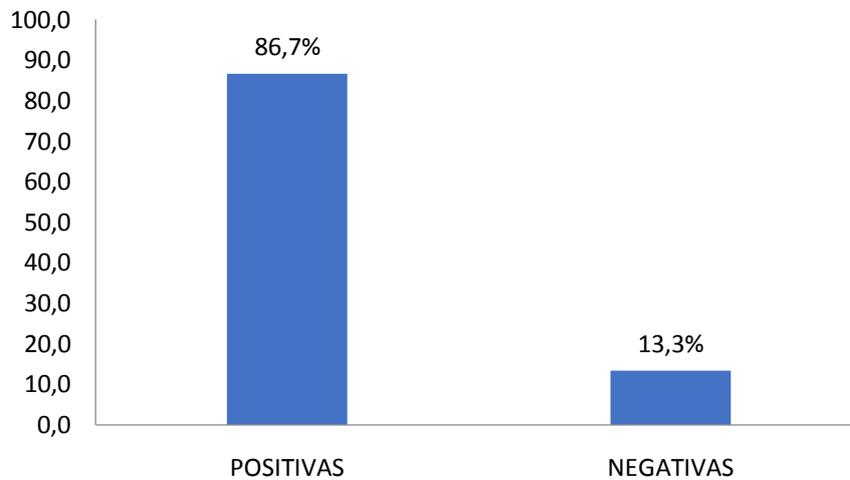
Nascimento e Barbosa (2007) destacam que uma das medidas que os estabelecimentos que comercializam alimentos devem aderir é a implementação das BPF (Boas Práticas de Fabricação) que são um conjunto de princípios e regras para o manuseio adequado dos alimentos, garantindo a qualidade sanitária e higiênica dos produtos alimentícios.

De acordo com a Norma Regulamentadora, NR – 6 (Brasil, 2013), define-se Equipamento de Proteção Individual como todo dispositivo ou produto, de uso individual utilizado pelo trabalhador, designado à proteção aos possíveis riscos de ameaçar a segurança e saúde no trabalho.

Segundo Machado et al., em 2004, ao analisarem uma Indústria mineira de produção de pão de queijo, constataram que os manipuladores não faziam a higienização adequada das mãos e não utilizavam luvas e máscaras; observaram também que os manipuladores utilizavam o uniforme fora da área destinada à produção.

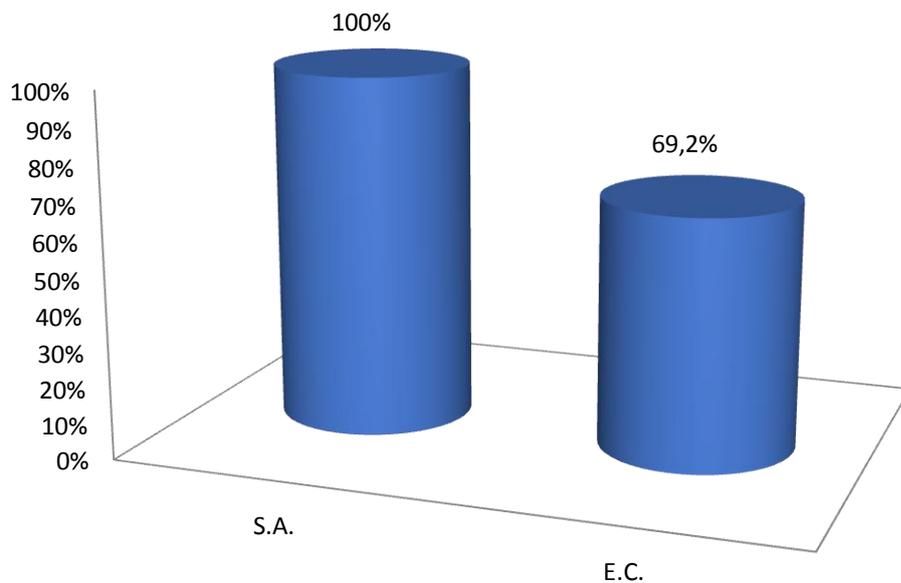
Os resultados observados divergem do que é preconizado pela legislação brasileira em vigor relata que o manipulador deve trajar roupas, botas e luvas (BRASIL, 2003).

Gráfico 1: Percentual de amostras positivas para o crescimento bacteriano oriundos do queijo coalho



O gráfico 1 ilustra os resultados obtidos, onde constatou-se que das 30 amostras analisadas, 86,7% apresentaram crescimento bacteriano, enquanto 13,3% obtiveram resultado negativo.

Gráfico 2: Avaliação Microbiológica de Queijos Artesanais produzidos na cidade de Jaguaribe-CE



SA: *Staphylococcus aureus*; EC: *Escherichia coli*

Do total de amostras, 100% apresentaram crescimento positivo para *Staphylococcus aureus*, ao passo que 69,2% positivaram para *Escherichia coli*. A legislação preconiza

tolerância de microrganismos em alimentos nos seguintes valores: Coliformes a 45°C/g: 5×10^3 , Estafilococos coagulase positiva/g: 10^3 , porém para que fosse possível saber se a presença desses microrganismos está de acordo com a legislação, o ideal é que seja realizada uma análise quantitativa para presença destes.

Lubeck et al. (2001) verificaram resultados semelhantes ao presente estudo, onde ao analisar amostras de queijos da região do Paraná, 100% encontravam-se contaminadas com *Staphylococcus aureus*. Bezerra et al. (2017) observaram que em 93,1% das amostras de queijo coalho comercializados no estado do Ceará havia presença do mesmo tipo bacteriano. Diante do exposto, é provável que o alto índice de contaminação visto neste trabalho seja justificado pela contaminação advinda por meio do manipulador do alimento, uma vez que *Staphylococcus aureus* é considerada uma bactéria componente da microbiota humana.

O microrganismo *Staphylococcus aureus* está presente nas mãos e nas vias aéreas principalmente. Os manipuladores, ao entrarem em contato direto com o alimento, podem contaminar o mesmo, gerando perpetuação da bactéria e riscos de intoxicação alimentar (GERMANO; GERMANO 2001). Dessa forma, o isolamento de *Staphylococcus aureus* nas amostras pode estar associado ao fato de que, em 100% dos estabelecimentos, como avaliado no *check list*, os manipuladores não faziam uso de luvas.

Por ser feito de maneira manual, o queijo produzido artesanalmente tem maior probabilidade de contaminação, além de ser um dos principais veículos de intoxicação alimentar causada por *Staphylococcus aureus*. A bactéria citada pode causar vômitos e diarreias, podendo desencadear um quadro de endocardite (FILHO et al., 2007; KOMATSU et al., 2010).

Estudos feitos por Borges et al (2003) no Ceará, apresentaram em suas amostras a presença de Coliformes totais e Coliformes fecais, sendo que em 74% das amostras apresentaram níveis superiores aos estabelecidos pela legislação, em 95% das amostras foi confirmado presença de *Escherichia coli*.

No presente trabalho, ao analisar as condições de higiene dos estabelecimentos que comercializam o queijo, a partir do *check list* realizado, foi visto que em 25% deles não apresentavam um quadro de higienização adequada, essa situação pode ter propiciado o aparecimento das bactérias isoladas nos resultados obtidos.

A *Escherichia coli* habita a 1% da microbiota intestinal e por isso é um importante indicador para constatar se há contaminação fecal em um alimento. Os alimentos frequentemente associados a infecção por contaminação e vias de transmissão dessa bactéria são os produtos lácteos, tais como o leite cru e o queijo. A *Escherichia coli* patogênica tem

capacidade de produzir toxinas, aderir e invadir as células do hospedeiro e destruir tecidos (RIEDEL, 2005).

Após pesquisa de *Salmonella spp*, constatou-se que não houve crescimento para este microrganismo nas amostras analisadas, o que está de acordo com a Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 que preconiza ausência de *Samonella spp* para a venda e consumo do alimento (ANVISA, 2001).

O estudo feito por Apolinário, Santos, Lavorato (2014) apresentou resultado semelhante ao presente estudo, onde após analisar 31 amostras de queijo Minas Frescal comprovou-se a ausência de *Salmonella spp*. Por outro lado, Feitosa et al., (2003) verificaram que nas amostras produzidas no Rio Grandes do Norte, 9,1% positivaram para *Salmonella spp*.

4 CONCLUSÃO

A partir os resultados obtidos pode-se concluir que é importante a avaliação da qualidade microbiológica do queijo, pois, a partir desses resultados, é possível detectar possíveis patógenos capazes de causar algum tipo de infecção ou intoxicação alimentar. A partir das análises foi evidenciado o crescimento bacteriano de relevância clínica, tais como: *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, as quais de acordo com a legislação devem apresentar tolerância de 10^3 e 5×10^3 , respectivamente.

A contaminação de queijos coalhos pode estar diretamente ligada à manipulação deste alimento além das condições que envolvem, por exemplo, o armazenamento das amostras. Conclui-se também que testes quantitativos da análise microbiológica de queijos devem ser realizados a fim de se determinar a quantidade de bactérias presentes nesses alimentos e avaliar se a mesma está de acordo com as normas limites pela legislação.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, PMP de; FRANCO, R. M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo Minas Frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* e coliformes fecais. *HigAliment*, v. 17, n. 111, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, v. 139, n. 7-E, 2001

APOLINÁRIO, T. C. C.; DOS SANTOS, G. S.; LAVORATO, J. A. A. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal produzido por laticínios do Estado de Minas Gerais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 69, n. 6, 2014

BEZERRA, D. E. L. et al. Avaliação microbiológica de queijo de coalho comercializado na feira livre de Sousa – Paraíba. **Revista Principia**. n. 37, 2017.

BRASIL. **Ministério do Trabalho e Emprego. NR- 6 – SESMT**. Manuais de Legislação Atlas. 71ª. Edição. São Paulo: Atlas, 2013d.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e abastecimento. Instrução Normativa n° 83, de 21 de novembro de 2003. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carnes Bovinas em Conserva (CornedBeef) e Carne Moída. Brasília, DF. 2003.

BORGES, M. F. et al. Microrganismos patogênicos e indicadores em queijo de coalho produzido no Estado do Ceará, Brasil. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 21, n. 1, 2003.

CAVALCANTE, J. F. M.; ANDRADE, N.J.; FURTADO, M. M. et al. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v. 27, n. 1, 2007.

FEITOSA, T.; BORGES, M.F.; NASSU, R.T. et al. Pesquisa de Salmonella sp., Listeria sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Cienc. Tecnol. Aliment.**, v.23, 2003.

FILHO, A. N. et al. Produção de enterotoxinas e da toxina da síndrome do choque tóxico por cepas de Staphylococcus aureus isoladas na mastite bovina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v. 59, n.5, 2007.

FREITAS FILHO, J. R. et al. Avaliação da qualidade do queijo “coalho” artesanal fabricado em Jucati-PE. **Extensio: Revista Eletrônica de Extensão**. V. 6, n. 8, 2009.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001.

KONEMAN, E.W.; ALLEN, S.D.; JANDA, W.M. et al. **Diagnóstico Microbiológico – Texto y Atlas Color**.5.ed. Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana, 1999.

KOMATSU, RS; RODRIGUES, MAM; LORENO, WBN; SANTOS, KA. Queijo artesanal comercializado em Uberlândia – MG. **Biosciência**, v.26, n.2, 2010.

LUBECK, G.M.; LARA, J.A. F.; BAGATINI, L. et al. Avaliação de algumas características físico-químicas e microbiológicas de algumas marcas de queijo tipo colonial produzido no sudoeste do estado do Paraná. **Rev. Inst. Lat. Cândido Tostes**. v.56, 2001.

MACHADO, E. C; PEREIRA, M. L.; AMÂNCIO, G. C; **Identificação de Perigos e Pontos Críticos de Controle e Avaliação das Práticas de Fabricação de Uma Indústria Mineira de Pão de Queijo**. Revista Higiene Alimentar, v. 18, n. 121, Junho 2004.

NASCIMENTO, G. A.; BARBOSA, J. S. BPF - Boas Práticas de Fabricação: Uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 21, n. 148, 2007.

NASSU, R. T. et al. **Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química e queijos regionais e manteiga no Rio Grande do Norte**. Embrapa Agroindústria Tropical, 2003.

RIEDEL G. **Controle sanitário dos alimentos**. São Paulo: Atheneu; 2005.

SEBRAE. Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Queijos Nacionais: estudos de mercado**. SEBRAE/ESPM. SEBRAE, 2008.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela. 1997

SILVA, M. C. D. et al. Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo coalho. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 69, n. 2, 2010.

SILVA, G. R.; BARROS, M.L.G; BARBOSA, M.V.F; SIQUEIRA, M.G.F; OLIVEIRA, A.E; LINS, L.L; MOURA, A.P.B.L. Percepção do conceito de higiene e segurança alimentar dos manipuladores de produtos cárneos de mercado público, Recife-PE, **Acta veterinária Brasília**, v.7, 2013.

OLIVER, C. A. F. et al. Características físico-químicas e microbiológicas de queijos minas frescal e mussarela. Pirassununga. 2008. Disponível em: www.bichoonline.com.br/artigossha0002.htm. Acesso em: 18 mai. 2018.

VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium for the microbiological examination of foods**. 3.ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1992.