

FACULDADE PERNAMBUCANA DE SAÚDE
Departamento de Farmácia



MARIA GORETY PUENTE DE ANDRADE
MELÂNIA CAVALCANTI DA PAZ
SULAMITA GABRIEL DA PAZ

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS QUEIJOS TIPO COALHO ASSADOS
COMERCIALIZADOS EM DUAS FEIRAS TÍPICAS DA REGIÃO
METROPOLITANA DO RECIFE – PE

Recife-PE

2011

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DOS QUEIJOS TIPO COALHO ASSADOS
COMERCIALIZADOS EM DUAS FEIRAS TÍPICAS DA REGIÃO
METROPOLITANA DO RECIFE – PE**

Artigo apresentada ao curso de Farmácia da
Faculdade Pernambucana de Saúde como
parte dos requisitos necessários para
obtenção do grau de Farmacêutica.

Orientadora: Profa. MSc. Lúcia Roberta Filizola

Co-Orientadora: MSc. Ivana Gláucia Barbosa Cunha

Recife-PE

2011

Avaliação microbiológica dos queijos tipo coalho assados comercializados

Em duas feiras típicas da Região Metropolitana do Recife – PE

Microbiological assessment of curdled cheese grilled marketed in two public fairs standard of the Metropolitan Region of Recife - PE

Maria Gorety Puente de Andrade¹, Melânia Cavalcanti da Paz², Sulamita Gabriel da Paz³; Lúcia Roberta de Souza Filizola⁴; Ivana Glaucia Barbosa Cunha⁵

^{1,2,3} Faculdade Pernambucana e Saúde – FPS – Recife, PE.

⁴ Departamento de Microbiologia. Faculdade Pernambucana de Saúde-FPS. – Recife, PE.

⁵ Departamento de Coordenação da Faculdade Pernambucana de Saúde – FPS – Recife, PE.

Resumo

Objetivo: Avaliar a qualidade microbiológica dos queijos tipo coalho assados e comercializados em duas feiras típicas da Região Metropolitana do Recife - PE.

Métodos: O estudo foi realizado a partir da coleta de 12 amostras dos queijos, em diversos estabelecimentos do comércio informal e submetidas a análises microbiológicas para pesquisa de indicadores de contaminação fecal e de agentes patogênicos no Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Pernambuco/LACEN PE. A metodologia analítica utilizada se encontra descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.¹ As análises incluem os testes para Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes, Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp.

Resultados: Das 12 amostras analisadas, foi verificada a ocorrência de 42% de coliformes termotolerantes a uma temperatura de 45,5°C, acima do limite permitido pela legislação vigente, sendo 25% *Escherichia coli*. As *Staphylococcus* coagulase positiva foram constatadas em 25% das amostras. A presença desses micro-organismos indica condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Em nenhuma das amostras processadas foi detectada a presença de *Salmonella* sp.

Conclusões: Os valores obtidos não atendem aos parâmetros da Resolução RDC 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária². Assim, 05 (cinco) das amostras analisadas foram classificadas como impróprias para o consumo humano, fazendo-se necessário constante monitoramento das Boas Práticas de Manipulação Fabricação deste produto.

Palavras-Chave: Queijo, *Salmonella* sp, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*,.

Abstract

Objectives: To evaluate the microbiological quality of the curdled grilled cheese commercialized in two typical public fairs of the Metropolitan Region of Recife, PE.

Methods: The study was carried out by collecting 12 samples of that cheese from several establishments in the informal trading. They were packed in sterile plastic bags, and transported under refrigeration in isothermal boxes, and submitted to microbiological analyzes for testing of indicators of fecal contamination and pathogens at the Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Pernambuco/LACEN PE. The analytical methodology used is described in Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods.¹ The analyzes include tests for Most Probable Number (MPN) of coliform bacteria count of coagulase-positive *Staphylococcus* and *Salmonella* sp.

Results: The majority of grilled cheese come from unpasteurized milk and it is produced in a homely and handmaid way, and it could be set up as a vehicle of contamination of many microorganisms. Of the 12 samples analyzed, the occurrence of thermotolerant coliforms bacteria was found in 42% at the temperature of 45.5 °C, which is over the limit allowed by the legislation in force; we added that 25% of those samples were *Escherichia coli*. Coagulase-positive *Staphylococcus* was found in 25% of the samples. The presence of these microorganisms indicates unsatisfactory hygienic and sanitary conditions. In all the samples processed it was not detected the presence of *Salmonella sp.*

Conclusions: Based on these findings, the values encountered did not meet the parameters of the RDC 12/2001 Resolution of National Health Surveillance Agency.² So 05 (five) analyzed samples were classified as unfit for human consumption, and also that they require constant monitoring of Good Practices of Handling of this product.

Key Words: Cheese, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*.

Introdução

O queijo obtido por coagulação do leite, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, classificada como queijo de média a alta umidade, é denominado de queijo-coalho.³

É um produto produzido há mais de 150 anos, em vários Estados da Região Nordeste do Brasil a partir de leite de vaca cru e/ou leite pasteurizado. Antigamente utilizava-se para coagulação do leite o coalho do estômago seco e salgado de animais silvestres ou bezerros. Atualmente esta prática foi substituída pelo uso de coalho industrializado.⁴

Em algumas localidades, o leite ainda é obtido sob condições higiênico-sanitárias

deficientes e, em consequência, apresenta elevado número de micro-organismos, o que constitui um risco à saúde da população. Dessa forma, para o leite e seus derivados, cuidados higiênicos desde a ordenha até a obtenção do produto final devem ser empregados.³

É interessante ressaltar que, segundo GUEDES,⁵ no queijo tipo coalho podem estar presentes também micro-organismos desejáveis como as bactérias ácido-lácticas (BAL), que desempenham importantes funções neste alimento como a produção de ácidos orgânicos e de outros compostos químicos responsáveis pelo “*flavour*”.⁵

Já os micro-organismos indesejáveis podem ser deteriorantes ou patógenos, estando presentes nos queijos em função de contaminações, resultantes de higiene deficitária, relacionada a todo o processo de produção, desde a obtenção de matéria-prima até o consumo.⁵

Diante do exposto, em função de ser um alimento perecível e frequentemente consumido nos ambientes públicos, este estudo tem a finalidade de avaliar a qualidade microbiológica dos queijos tipo coalho assados e comercializados em duas feiras típicas na Região Metropolitana do Recife – PE.

Material e Métodos

Foram coletadas 12 amostras de queijo tipo coalho assados de modo asséptico e acondicionadas em sacos plásticos estéreis sendo transportadas sob refrigeração em caixas isotérmicas . A coleta dos queijos foi realizada no período de Abril a Maio de 2011 Todas as amostras foram conduzidas ao Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Pernambuco/LACEN-PE, para serem processadas no laboratório de Microbiologia de Água e Alimentos, pertencente à Coordenação de Bromatologia. A

metodologia analítica se encontra descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods¹, e os micro-organismos pesquisados são de interesse sanitário, recomendados na Resolução RDC 12/2001 – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA.²

Número Mais Provável (NMP) de Coliformes Termotolerantes

Na quantificação de coliformes termotolerantes utilizaram-se alíquotas de 25g dos produtos diluídas em 225ml de água peptonada tamponada (ADPT) a 0,1%. A partir do homogenato, obteve-se a diluição inicial 1:10.

Para o enriquecimento presuntivo, a partir da diluição 10^{-1} , foram inoculados em três séries de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose, em dupla concentração na 1ª série e, nas 2ª e 3ª séries caldo em concentração simples, contendo tubos de Durham para verificar a produção de gás.

Os tubos foram incubados a $35^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 h. Para o teste confirmativo, os tubos com presença de gás foram semeados em Caldo *Escherichia coli* (EC), incubados em banho-maria a $45,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, para confirmação de coliformes termotolerantes. Os resultados positivos foram comparados com a tabela de referência Número Mais Prováveis e registrados como NMP/g⁻¹, conforme descrito no Manual IBAM.⁶ Para a realização deste ensaio utilizou-se a cepa controle de *E. coli* - ATCC (*American Type Collection Center*) nº 25.922. As colônias típicas foram submetidas a provas bioquímicas.

Contagem de *Staphylococcus coagulase positiva*

Para a detecção de *Staphylococcus coagulase positiva*, a partir da diluição inicial 10^{-1} , foram realizadas diluições decimais seriadas até 10^{-3} e inoculadas pela técnica

“*Spread plate*” com alça de drigasliki em ágar Baird Parker, sendo utilizada a cepa controle de *Staphylococcus aureus* ATCC nº 12.600. As placas foram incubadas em posição invertida a 35°C durante 24-48 horas.

Em seguida, colônias características foram selecionadas e repicadas para tubos contendo Caldo BHI, incubadas a 35°C/18-24 horas e submetidas a provas bioquímicas de catalase, coagulase e coloração de Gram.

***Salmonella* sp**

Para a detecção de *Salmonella* sp foi utilizada a cepa controle positiva *Salmonella typhimurium* (Biomanguinhos – BM/2000). A partir da diluição inicial (10^{-1}), alíquotas foram transferidas para Caldos de Enriquecimento Seletivo, Selenito e Tetracionato, incubados a 35°C/24-48 horas e 42°C/24-48 horas, respectivamente. Após incubações, 24-48h, foram semeados em placas de Ágar Entérico de Hektoen (HE) e Ágar Salmonella/Shigella (SS), incubados a 35°C/24-48 horas. Os micro-organismos típicos isolados foram submetidos a testes bioquímicos de identificação (IAL) - Meio Modificado Instituto Adolfo Lutz.

Resultados

Das 12 amostras de queijos analisadas, em 42% foi detectada a presença de coliformes termotolerantes acima do limite permitido pela legislação vigente; em 25%, confirmou-se a presença de *E. coli* com NMP/g > 1100.

No que se refere ao *Staphylococcus* coagulase positiva, 3 (três) amostras apresentaram contagem superior a 5×10^2 UFC/g, estando fora do limite permitido pela RDC 12/2001 – ANVISA² (ver gráfico 1).

Quanto à *Salmonella* sp, houve ausência desse micro-organismo em todas as

amostras analisadas.

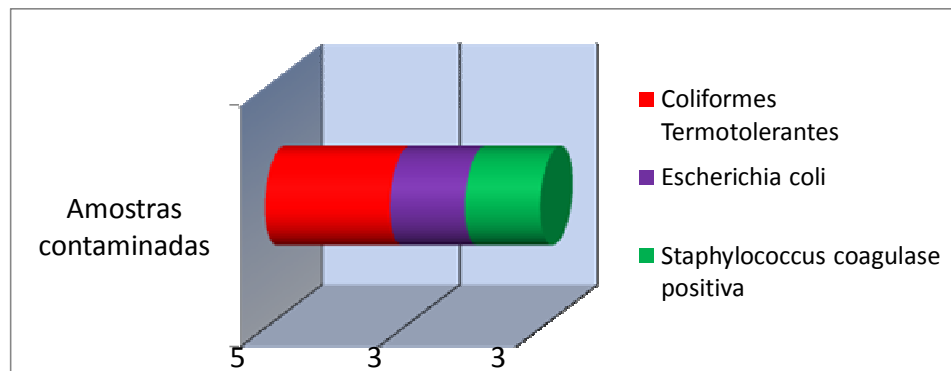


Gráfico 1. Parâmetros Microbiológicos Insatisfatórios nas amostras analisadas

As amostras de número 1, 2, 3, 7, 8, 10 e 12 estavam dentro dos limites aceitáveis (até 1.100 NMP/g) para Coliformes termotolerantes em alimentos, mais mesmo assim apresentaram uma pequena contaminação. Para NMP/g de *E. coli* as amostras 4, 6 e 9 estavam acima do tolerável (> 1.100 NMP/g), sendo que o restante das amostras também apresentou uma pequena contaminação. Já para *Salmonella sp* constatou-se ausência. (Ver tabela 1)

AMOSTRA	NMP/g COLIFORMES TERMOTOLERANTES LIMITE 5×10^2	NMP/g E.COLI	STAP. COAG. POSITIVA LIMITE 5×10^2	SALMONELLA SP
1	75	20	< 10 UFC/g	Ausência em 25g
2	36	36	< 10 UFC/g	Ausência em 25g
3	16	6,2	< 10 UFC/g	Ausência em 25g
4	>1.100 Insatisfatório	>1.100 Insatisfatório	$3,2 \times 10^4$ Insatisfatório	Ausência em 25g
5	>1.100 Insatisfatório	210	$2,0 \times 10^5$ Insatisfatório	Ausência em 25g
6	>1.100 Insatisfatório	>1.100 Insatisfatório	< 10 ufc/g	Ausência em 25g
7	240	93	< 10 UFC/g	Ausência em 25g
8	460	460	< 10 UFC/g	Ausência em 25g
9	>1.100 Insatisfatório	>1.100 Insatisfatório	< 10 ufc/g	Ausência em 25g
10	75	75	$4,0 \times 10^4$ Insatisfatório	Ausência em 25g
11	>1.100 Insatisfatório	210	< 10 ufc/g	Ausência em 25g
12	460	150	< 10 UFC/g	Ausência em 25g

TABELA 1 - Caracterização microbiológica do queijo tipo coalho assados comercializados em duas feiras típicas da região metropolitana do Recife – PE

Discussão

A maioria dos queijos coalho é proveniente de leites não pasteurizados e produzidos de forma caseira e artesanal, podendo se constituir em um veículo de contaminação por vários micro-organismos. Os queijos tipo coalho assados e comercializados em duas feiras típicas da Região Metropolitana do Recife evidenciaram condições higiênico-sanitárias insatisfatórias, decorrente da elevada carga microbiana identificada, principalmente das bactérias do grupo coliforme termotolerante e *E. coli*.

A contaminação das amostras pode ser considerada como fator de risco para os consumidores, podendo causar intoxicação alimentar ao ser ingerido. Este tipo de ocorrência já foi relatada por ALVES.⁷

A legislação brasileira, Resolução RDC 12/2001 – ANVISA, apresenta o limite de tolerância para coliformes termotolerantes de 5×10^2 NMP/g². Com base nos resultados

obtidos, 42% das amostras analisadas apresentam riscos ao consumidor por apresentar bactérias do grupo coliforme termotolerante e *E.coli*, acima do limite acima mencionado.

A *E. coli* faz parte da microbiota entérica de mamíferos e aves e a sua presença em alimentos indica condições higiênicas insatisfatórias⁸ por contaminação de origem fecal, que dependendo do subgrupo a que pertença, provoca síndromes diarréicas com altas taxas de mortalidade.⁸

Quanto ao micro-organismo *Staphylococcus* coagulase positiva, em 25% das amostras foi evidenciada contagem superior a 5×10^2 UFC/g, podendo ser um dos principais patógenos responsáveis por intoxicações alimentares, resultado de ingestão de alimentos contaminados por enterotoxinas pré-formadas.⁹

Quanto à *Salmonella* sp., houve ausência desse micro-organismo em todas amostras analisadas, estando de acordo com a legislação brasileira.²

Diante dos resultados obtidos, faz-se necessário o constante monitoramento da qualidade microbiológica dos queijos tipo coalho assados e comercializados em espaços públicos, através de projetos educativos sistemáticos e eficazes, cada vez mais seguros, do ponto de vista de saúde pública, que envolvam produtores, fornecedores e comerciantes nas diversas áreas de consumo, a fim de assegurar uma melhor qualidade do produto ofertado à população.

Agradecimentos

Nossos agradecimentos ao Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN/PE e a todo seu apoio técnico.

Referências

1. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4.ed. Washington: APHA, 2001. 676p
2. Ministério da Saúde (Brasil). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, 02/01/2001.
3. Santana RF, Santos DM, Lima AS. Qualidade Microbiológica de Queijo tipo coalho Comercializado em Aracaju – SE. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.60, n.6: 1517-1522, 2008.
4. Cavalcante JF, Andrade NJ, Furtado M.M, Ferreira CLLF, Pinto CLO, Elald E. Processamento do Queijo tipo coalho Regional Empregando Leite Pausterizado e Cultura Lática Endógena. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 27(1):205-214, jan.-mar. 2007.
5. Guedes Neto LG. Isolamento, Identificação e Avaliação de Características Probióticas de Bactérias Ácido-Láticas isoladas de amostras de Queijo de Coalho Produzidas em Pernambuco-Brasil. Belo Horizonte. Tese [Doutorado em Ciências Animal] UFMG. 2008.
6. Feng P, Weagant SD, Grant M.A. Enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria. *Bacteriological analytical manual online*, v. 4:1-14, 2002. Disponível em: <<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm109656.htm>> Acesso em: 14 de jul 2011.
7. Alves CML., Amaral LA, Corrêa M R, Sales SS. Qualidade Microbiológica do Leite Cru e de Queijo de Coalho Comercializado Informalmente na Cidade de São Luis – MA. *Pesq. em Foco* 2009 Out; 17 (2): 01-13.

8. Zegarra JJQ, Botteon RCCM, Oliveira BCRS., Botteon PTL, Souza MM; Pesquisa de micro-organismos em Utensílios, Leite e Queijos de Produção Artesanal em Unidades de Produção Familiar no Município de Seropédica, Rio de Janeiro. Ciênc. Anim. Bras. 2009 mar; 10 (1): 312-321.
9. Oliveira Neto KA, Evêncio J, De Paiva JE, De Melo LEH. Qualidade Microbiológica do Queijo de Coalho Comercializado no Município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil. Arq. Inst. Biológico, 2010 Set 77 (3):435-440.