

ANA VIRGÍNIA MARINHO SILVEIRA

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO DE MANTEIGA
PRODUZIDO E COMERCIALIZADO NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

RECIFE

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

ANA VIRGÍNIA MARINHO SILVEIRA

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO DE MANTEIGA
PRODUZIDO E COMERCIALIZADO NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

Orientador:

Prof. Rinaldo Aparecido Mota

Co-orientador:

Prof^ª. Maria José de Sena

RECIFE

2008

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO DE MANTEIGA
PRODUZIDO E COMERCIALIZADO NO ESTADO DE PERNAMBUCO**

ANA VIRGÍNIA MARINHO SILVEIRA

Aprovada em / 2008

**Prof. Dr. RINALDO APARECIDO MOTA
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE
(Orientador)**

BANCA EXAMINADORA

**Profa. Dra. MARIA JOSÉ DE SENA
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE**

**Profa. Dra. IRINEIDE TEXEIRA DE CARVALHO
Departamento de Tecnologia Rural da UFRPE**

**Prof. Dr. LEONILDO BENTO GALIZA DA SILVA
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE**

**RECIFE – PE
2008**

Dedico esta dissertação a DEUS e a Santa
Rita de Cássia.

AGRADECIMENTOS

A minha mãe Maria Aldenôra Marinho e meu pai Adolfo Cesário Marinho pela minha formação humana e pelos ensinamentos de valores eternos, onde somos todos diferentes, porém todos iguais.

Aos meus filhos Pedro Paulo Miranda e Rita de Cássia Marinho, pela compreensão da minha ausência e pelo carinho restaurador.

Em especial ao meu esposo Pedro Paulo Miranda Silveira, pelo companheirismo e dedicação constantes. Amo-te.

Aos orientadores Dr^a Maria José de Sena e Dr. Rinaldo Aparecido Mota pelos ensinamentos grandiosos e confiança depositada para realização deste trabalho.

Aos queridos Mestres Dr. Leonildo Bento Galiza da Silva, Dr^a Vera Ramalho, Dr. Paulo Fernandes de Lima e Dr^a Andrea Paiva Botelho Lapenda pelo apoio e colaboração.

Em especial à Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, Dr^a. Áurea Wischral pela atenção e incentivo.

Às queridas amigas Dr^a Irineide Teixeira Carvalho e Elizabeth Sampaio de Medeiros pela grande e importante participação na realização deste sonho.

Aos amigos Jerônimo Melo, Solange Muniz, Erika Muniz, Rejane Fragoso e Ednéia Goedert pelo apoio incondicional.

Ao novo amigo Laércio Bernardino Borges, Técnico em Microbiologia da Universidade Federal de Pernambuco pela dedicação e ensinamentos.

A todos muito obrigado.

SUMÁRIO

	página
RESUMO	
1. INTRODUÇÃO	06
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	08
2.1. Queijo.....	08
2.2. Queijo de Manteiga.....	08
2.3. <i>Staphylococcus</i> spp	09
2.4. <i>Echerichia coli</i> e Microrganismos Indicadores.....	11
2.5. Fungos.....	14
3. REFERÊNCIAS.....	16
4. ARTIGO.....	22
4.1. Qualidade Microbiológica do Queijo de Manteiga produzido e comercializado no estado de Pernambuco.....	22
5. CONCLUSÃO.....	31

RESUMO

Os produtos derivados do leite têm sido implicados como veículo de bactérias patogênicas. Desta maneira, a qualidade microbiológica desses produtos deve apresentar condições apropriadas para o consumo. Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do Queijo de Manteiga produzido e comercializado no estado de Pernambuco, foram analisadas 21 amostras, sendo uma fiscalizada pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), dez fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Estadual (SIE) e dez produzidas sem Fiscalização, de forma artesanal. As amostras foram submetidas à pesquisa e contagem de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Coliformes totais, bolores e leveduras pelo método de detecção Petrifilm 3M. Os resultados foram apresentados por meio dos valores mínimos e máximos, frequências relativas e absolutas observados para cada grupo de microrganismos. Para interpretação dos resultados obtidos neste estudo, baseou-se nos padrões microbiológicos estabelecidos no Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijo (Portaria nº146/96 - MAPA) para queijos de alta umidade e de muito alta umidade. Observou-se que 100% (1/1) da amostra sob Fiscalização Federal encontrava-se dentro dos padrões estabelecidos pela portaria, portanto considerada própria para o consumo. Das amostras sob Fiscalização Estadual e sem Fiscalização, 40% (4/10) e 80% (8/10) respectivamente estavam fora dos padrões estabelecidos, sendo consideradas impróprias para o consumo. Conclui-se a necessidade de uma maior intervenção do Serviço Oficial de Inspeção Agropecuária e Vigilância Sanitária, junto aos produtores e comerciantes de Queijo de Manteiga no Estado de Pernambuco, propondo medidas sanitárias para uma melhoria da qualidade deste produto, tendo como foco a saúde do consumidor.

Palavras-chave: Queijo de manteiga, leveduras, estafilococos, coliformes totais.

ABSTRACT

Dairy products have been known to provide a vehicle for pathogenic bacteria. Thus, the microbiological quality of these products should be such as to allow for appropriate conditions for consumption. With an aim to evaluate the microbiological quality of the Butter Cheese produced and marketed in the State of Pernambuco, 21 samples have been analyzed. One of these samples has been examined by SIF (Serviço de Inspeção Federal, the Brazilian federal inspection agency), ten have been examined by SIE (Serviço de Inspeção Estadual, the inspection agency from the State of Pernambuco), and ten have been produced in an artisanal way, under no governmental control. The samples have been subject to investigation and counting of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, total coliforms, moulds and yeasts using the 3M Petrifilm detection method. The results have been presented by means of minimum and maximum values, and relative and absolute frequencies observed in each group of microorganisms. The interpretation of the results from this study has been based on microbiological standards established in the Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijo – the general technical regulation for the determination of cheese microbiological requirements for high-moisture and extremely high-moisture cheese varieties. It has been observed that 100% (1/1) of the samples under federal inspection complied with the standards demanded by the Ordinance, thus being considered suitable for consumption. Among the samples under state inspection and without any governmental inspection, 40% (4/10) and 80% (8/10), respectively, were not compliant with the established standards, thus being considered unsuitable for consumption. The conclusion is that there is a need for a stronger intervention on the part of the Serviço Oficial de Inspeção Agropecuária e Vigilância Sanitária (the official inspection agency for agricultural and cattle raising activities and public health surveillance) with producers and wholesalers of cheese butter in the State of Pernambuco, urging sanitary actions to improve the quality of this product with focus on the consumer's health.

Keywords: Butter-Cheese; Yeasts; Staphylococcus; Total Coliforms.

1. INTRODUÇÃO

Não existe uma data precisa do surgimento do queijo. Supõe-se que o seu aparecimento tenha ocorrido quando o homem deixou de ser nômade e passou a cultivar plantas e a criar animais com a finalidade de obter alimentos, desta forma surgindo a obtenção do leite e conseqüentemente a produção do queijo. Na época utilizavam estômagos de ruminantes para guardar o leite e relata-se que o leite coalhava ou curtia e que ao separar o soro obtinha-se um leite ácido e de melhor sabor (VICENTE et al., 1996).

A fabricação de queijos no Brasil firmou-se no início do século XX, particularmente a partir da década de 20 com a vinda de imigrantes dinamarqueses e holandeses que se fixaram em determinadas regiões do estado de Minas Gerais (FURTADO, 1991).

Aproximadamente 25% do leite produzido no Brasil são destinados à produção de queijos, os quais constituem alimentos de elevado valor nutricional e de grande aceitação por parte da população. Entretanto, estudos microbiológicos realizados nas últimas décadas têm demonstrado a presença de diversos tipos de bactérias patogênicas nos queijos produzidos no Brasil (MARQUES, 2006).

Segundo Salvador (2001), o queijo apresenta características nutritivas que o tornam um alimento muito importante para os seres humanos, sendo também, um substrato para o crescimento de microrganismos, destacando-se os coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, bactérias mesófilas aeróbicas, bolores e leveduras que quando presentes nos alimentos, além de reduzirem a qualidade do produto, podem causar danos à saúde do consumidor.

A flora microbiana presente nos diversos tipos de queijo é variável de acordo com uma série de fatores, sobretudo a qualidade microbiológica do leite utilizado como matéria prima, a intensidade do tratamento térmico do leite, o tipo de cultivo lácteo empregado e as condições de higiene durante o processamento (JAY, 2000).

Segundo Pinto et al. (2001), as condições que favorecem a contaminação dos queijos estão relacionadas com a prevalência da mastite no rebanho, processos de fabricação improvisados, armazenamento inadequado e higiene deficiente durante a manipulação do produto.

Do ponto de vista da saúde, os conceitos de qualidade e sanidade, não podem ser considerados isoladamente. Um produto pode atender aos padrões de qualidade usualmente aceitos e estar sanitariamente inadequado, porque contém agentes ou substâncias prejudiciais à saúde não detectáveis pelos órgãos dos sentidos. Então é fundamental que antes de

considerar a qualidade propriamente dita, que exista uma avaliação detalhada da infraestrutura, da fabricação até a exposição do produto à venda (RIEDEL, 1992).

Dentre os produtos de laticínios fabricados no Nordeste, o Queijo de Manteiga é um dos mais difundidos, produzido principalmente, nos estados de Ceará, Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco. A fabricação e comercialização desse produto é uma atividade muito importante para economia regional, contudo a qualidade dos laticínios produzidos configura-se como um dos principais entraves a sua comercialização, pois mesmo sendo submetido a tratamento térmico durante a elaboração, também apresenta problemas de contaminação, devido à manipulação inadequada (AQUINO, 1983). Segundo informações obtidas do Serviço Oficial de Inspeção Agropecuária do estado de Pernambuco, existem aproximadamente 450 produtores de queijo de manteiga neste estado e apenas 4,5% é Fiscalizado pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), 10% pelo Serviço de Fiscalização Estadual (SIE) os demais sem fiscalização e produzidos de forma artesanal.

Entende-se por Queijo de Manteiga o produto obtido mediante coagulação do leite com emprego de ácidos orgânicos de grau alimentício, cuja massa é submetida à dessoragem, lavagem e fusão com acréscimo exclusivamente de manteiga de garrafa, manteiga da terra ou manteiga do sertão (BRASIL, 2001).

Objetivou-se com este estudo, avaliar a qualidade microbiológica do Queijo de Manteiga produzido e comercializado no estado de Pernambuco quanto à presença de coliformes totais, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, bolores e leveduras.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Queijo

Entende-se por queijo o produto obtido do leite integral padronizado, magro ou desnatado, coagulado natural ou artificialmente, adicionado ou não de substâncias permitidas pelo regulamento e submetido às manipulações necessárias para a formação dos caracteres próprios (BRASIL, 1976).

Historicamente, com o advento da pasteurização, diminuíram os relatos de várias doenças transmitidas pelo leite e seus derivados, como a brucelose, tuberculose, difteria, febre Q e uma série de gastroenterites. Por outro lado, deve ser ressaltado que embora altamente efetivo no controle de doenças de origem alimentar, o tratamento térmico é insuficiente se não for complementado com padrões elevados de higiene, desde a produção até o processamento (SILVA, 2007).

Do ponto de vista nutricional, os queijos em geral constituem uma excelente fonte de proteínas e minerais, como cálcio, fósforo, zinco, além de um elevado valor calórico (AQUINO, 1983). Há milhares de anos, antes mesmo do nascimento de Cristo, já se conhecia a arte de sua fabricação, cabendo aos egípcios a primazia da utilização do leite e do queijo, como fonte importante de nutrientes (LAVAL, 1974; EPAMIG, 2002; LAICINI e PARMEZZANI, 1994; ALBUQUERQUE et al., 1994).

O queijo como alimento ocupa incontestavelmente um lugar de grande destaque entre os alimentos chamados completos, pelo seu alto valor nutritivo. Apresenta alta concentração de proteínas, gorduras, sais minerais e vitaminas (MUNCK e DUTRA, 2000).

2.2 Queijo de Manteiga

Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), entende-se por Queijo de Manteiga, o produto obtido mediante coagulação do leite com emprego de ácidos orgânicos de grau alimentício, cuja massa é submetida à dessoragem, lavagem e fusão, com acréscimo exclusivamente de manteiga de garrafa ou manteiga do sertão. A denominação Queijo de Manteiga ou queijo do sertão está reservada ao produto cuja base láctea não contenha gordura

e/ou proteína e/ou outros produtos de origem não láctea. Quanto a sua classificação, é um queijo com teor de gordura variando entre 25% e 55%, devendo apresentar um teor máximo de umidade de 54,9% m/m (Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001).

Ainda segundo a normativa, alguns requisitos devem ser seguidos a fim de padronizar a fabricação desse tipo de queijo tais como: características sensoriais, consistência macia, textura fechada, semi-friável com pequenos orifícios mecânicos, contendo gordura líquida no seu interior; a cor deve ser amarelo palha, sabor pouco acentuado, lembrando manteiga, levemente ácido e podendo ser salgado; odor pouco pronunciado, lembrando manteiga, crosta fina, sem trinca com formato e peso variáveis (Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001).

As práticas de higiene para elaboração do produto devem estar de acordo com o regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimento Elaboradores/Industrializadores de Alimentos (Portaria nº 368/97 – MAPA). O leite utilizado deverá ser higienizado por meios mecânicos adequados. Durante o processo de fusão, o produto deverá ser submetido à cocção em temperatura mínima de 85°C, por pelo menos 15 minutos. Quanto aos critérios macroscópicos, o produto não deverá conter impurezas ou substâncias estranhas de qualquer natureza. Quanto aos critérios microbiológicos, o queijo deverá obedecer aos critérios estabelecidos para queijo de médio ou alto teor de umidade de acordo com o Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijos (Portaria nº 146/96 - MAPA). Na rotulagem deverá ser designado como Queijo de Manteiga ou Queijo do Sertão.

No que se refere a este tipo de queijo, a bibliografia é escassa se limitando a descrição de sua composição (ESCUDERO e AMAYA, 1981) e possíveis alterações da composição e qualidade durante a estocagem (ESCUDERO et al., 1981; MUNCK e CAMPOS, 1994).

2.3 Staphylococcus aureus

Segundo Baird Parker (1990), em 1880, Ogston, um pesquisador norte-americano, descreveu uma bactéria que ao microscópio apresentava-se em forma de cocos agrupados em cacho, relacionando-a a várias patologias humanas. Em 1882, essa bactéria foi denominada *Staphylococcus*, do grego *Staphyle* (cachos de uva) e *coccus* (grãos).

Morfologicamente, caracterizam-se como cocos Gram positivos, imóveis, apresentam metabolismo respiratório e fermentativo, atuam sobre carboidratos com produção de ácidos,

são aeróbias e anaeróbias facultativas. Podem crescer em temperatura de 7 a 48°C com um crescimento ótimo de 35 a 40°C (KLOOS e LAMBLE JR., 1991).

As toxinas são produzidas entre 10 e 46°C, com temperatura ótima de 40 a 45°C sendo capaz de crescer em valores de pH de 4,0 a 9,8 com valor ótimo na faixa de 6,0 a 7,0, e atividade de água (Aw) mínima de 0,86 (JAY, 2005).

Alimentos contaminados com contagens variando de 10^4 a 10^8 UFC/g podem apresentar enterotoxinas estafilocócicas (CARMO e BERGDOLL, 1990). Entretanto, Nervino et al. (1997) detectaram enterotoxinas em alimentos com níveis de contaminação variando de 10^3 a 10^7 UFC/g.

Cerca de 60% da população humana pode ser portadora desta bactéria sem apresentar sintomas. O período de incubação médio da intoxicação estafilocócica é de 2 a 4 horas. Os sintomas são geralmente agudos e se caracterizam por náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia. A recuperação se dá, em geral, em 24 a 48 horas (GERMANO e GERMANO, 2001).

Os *Staphylococcus* são freqüentemente pesquisados em alimentos, sendo o queijo, um dos principais veículos causadores de toxinfecção alimentar, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas (LOGUERCIO e ALEIXO, 2001).

Também são encontrados no ambiente, em leite proveniente de vacas portadoras de mastite estafilocócica e colonizam a pele, o períneo, axilas, vagina e outros sítios do corpo de humanos e animais estimando-se que esteja presente nas fossas nasais de 20% a 40% de humanos adultos saudáveis. Por esta razão, os manipuladores de alimentos podem se tornar portadores assintomáticos (BARROS et al., 2004).

Segundo Lancette e Tatini (1992) e Pereira et al. (2001), vários alimentos já foram incriminados e são freqüentemente relatados como capazes de tolerar o desenvolvimento natural e artificial de *Staphylococcus aureus*, bem como a produção de suas enterotoxinas. Dentre os substratos alimentícios destacam-se os produtos lácteos e de confeitaria, carnes frescas e curadas, ovos e massas alimentícias.

A contaminação de queijos também já causou vários surtos tanto antes como depois do advento do emprego do leite pasteurizado na sua fabricação. Neste último caso, pode ocorrer contaminação pós-processamento ou utilização de fermentos (starters) contaminados por *S. aureus* (FRANCO, 2005).

A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das doenças de origem alimentar mais comuns nos Estados Unidos. No Brasil, não existe um serviço de notificação obrigatória, impossibilitando o conhecimento exato da incidência da doença (NEWSOME, 1998).

Fernandez et al. (2002) descreveram a ocorrência de 53 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) que acometeram 461 pessoas na cidade do Rio de Janeiro no ano de 2000. Enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* foi a responsável pelo maior número de surtos (13%), abrangendo 8,5% do total de indivíduos acometidos.

Em Minas Gerais, de novembro de 1991 a outubro de 1992, ocorreram oito surtos de intoxicação estafilocócica em humanos, sendo cinco associados ao consumo de queijo frescal (CÂMARA, 2002). Outros autores verificaram que de 1991 até 1995 houve predomínio, nos surtos de DTA, das intoxicações estafilocócicas (65%), com acentuado envolvimento de queijos como alimentos implicados (MARQUES, 2006).

Outro estudo, realizado entre 1995 a 2001, em Minas Gerais reforça a importância da intoxicação estafilocócica nos surtos de origem alimentar, atingindo 12.820 pessoas, incluindo 17 óbitos. O queijo (diversos tipos) foi o quarto alimento mais implicado, produzindo neste período 23 surtos, atingindo 660 pessoas, sendo registrado um óbito (EPAMIG, 2002).

Um estudo realizado em 1997 pelo Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO), no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), analisou treze marcas de queijo tipo Minas Frescal de cinco estados do País (MG, PA, RS, RJ e SP), quanto à presença de *Salmonella* spp, *S. aureus* e coliformes totais. Nove marcas foram consideradas “produto potencialmente capaz de causar toxinfecção alimentar” e dez delas apresentaram *S. aureus* em pelo menos uma das três amostras analisadas, apesar de a presença de enterotoxinas não ter sido avaliada.

A contaminação do queijo coalho, produzido em vários estados do Nordeste (CE, PB, RN e PE), por *Staphylococcus aureus* variou entre 10^3 e 10^6 UFC/g. Esses valores são preocupantes, pois situam-se acima dos limites estabelecidos pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA), cujo máximo permitido é 10^3 UFC/g (FEITOSA et al., 2003).

2.4 *Escherichia coli* e Microrganismos Indicadores

Segundo Jay (2005), a *Escherichia coli* foi reconhecida como um patógeno de origem alimentar em 1971, quando queijos importados foram comercializados em 14 estados americanos, provocando aproximadamente 400 casos de gastroenterite devido à infecção por uma linhagem enteroinvasiva. Antes de 1971, foram relatados pelo menos cinco surtos de origem alimentar em outros países, sendo o primeiro na Inglaterra em 1947. Como patógeno

humano, evidências sugerem que a *E.coli* foi reconhecida como causa de diarreia infantil já nos anos 1700.

A *E. coli* é uma enterobactéria Gram-negativa, catalase-positiva, oxidase negativa, não esporogênica. Pode se desenvolver em temperaturas de 7,0 a 46°C, observando-se um crescimento ótimo a 37°C. Não é termorresistente, podendo ser destruída a 60°C, mas pode sobreviver em temperaturas de refrigeração. A Aw mínima para crescimento é de 0,95°C e o pH ideal próximo a neutralidade (PINTO, 2001).

Com base nos fatores de virulência, manifestações clínicas e epidemiologia, as linhagens de *E.coli* consideradas patogênicas são, atualmente, agrupadas em cinco classes: *E.coli* enteropatogênica clássica (EPCE), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* entero-hemorrágica (EHEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC). Alguns tratados de Microbiologia de Alimentos mencionam também uma outra linhagem denominada *E. coli* facultativamente patogênica (FEEC), aparentemente associada a surtos esporádicos de diarreia. A existência desses patógenos, no entanto, não foi ainda comprovada (FRANCO, 2005).

Os sintomas das infecções por *E. coli* dependem da patogenicidade e virulência da cepa, da idade e estado imune do hospedeiro. A infecção por cepas enteropatogênicas tem período de incubação médio de 36 horas (17 a 72 horas) e duração de seis horas a três dias, sendo caracterizadas por diarreia aquosa com muco, náuseas, vômitos, dores abdominais, cefaléia e febre. Nas infecções enterohemorrágicas, os sintomas são manifestados de três a nove dias após a ingestão do alimento contaminado. Pode haver um quadro de colite hemorrágica ou síndrome urêmica hemolítica. A duração dos sintomas é de dois a nove dias, porém podem evoluir para o óbito (JAY, 2005).

O significado da presença de *E. coli* em um alimento deve ser avaliado sob dois aspectos. Inicialmente, *E. coli*, por ser uma enterobactéria, uma vez detectada no alimento, indica que esse alimento tem uma contaminação microbiana de origem fecal e, portanto está em condições higiênicas insatisfatórias (FRANCO, 2005).

O gado bovino parece ser o principal reservatório de *E. coli* O157: H7. A transmissão para humanos ocorre principalmente por meio do consumo de alimentos contaminados, assim como carnes cruas ou pouco cozidas além do leite cru. A contaminação fecal da água e outros alimentos, bem como a contaminação cruzada, durante a preparação de alimentos, também pode ser responsável. *E. coli* O157: H7 pode se abrigar nas fezes durante um período médio de 21 dias, podendo variar de 5 a 21 dias (FORSYTHE, 2002).

O papel dos animais na epidemiologia das colibaciloses humanas ainda não está completamente claro, embora sorotipos de *E. coli* enteropatogênica similares as que infectam humanos tenham sido encontradas em animais, produtos lácteos e cárneos (ACHA e SZYFRES, 1986).

Alimentos contaminados com fezes, principalmente leite cru e derivados lácteos não processados termicamente, constituem-se em fontes potenciais de *E. coli* causadoras de DTA (BRYAN, 1982). Estudos relataram a ocorrência de ETEC em dezesseis amostras de queijo colonial consumido em Pelotas – RS (CAMARGO, 1998).

Segundo Forsythe (2002), o termo microrganismo indicador foi sugerido por Ingram, em 1997, para um organismo marcador cuja presença indicasse a possível presença de um patógeno ecologicamente similar. Esse termo microrganismo indicador pode ser aplicado a qualquer grupo taxonômico, fisiológico ou ecológico de microrganismo, cuja presença ou ausência proporciona uma evidência indireta referente a uma característica particular do histórico da amostra. Normalmente é associado a microrganismo de origem intestinal, porém outros grupos podem ser usados como indicadores em determinadas situações. Os microrganismos indicadores são mais comumente utilizados para avaliar a segurança e higiene alimentar do que a qualidade.

Microrganismos indicadores vêm sendo utilizados na avaliação da qualidade da água há longo tempo, e mais recentemente na de alimentos, devido as dificuldades encontradas na detecção de microrganismos patogênicos, como *Salmonella typhi*. Atualmente, ao invés de enumerar os coliformes fecais e *E.coli*, alguns laboratórios estão preferindo enumerar as bactérias pertencentes a família *Enterobacteriaceae* como um todo, isto é, as fermentadoras e não fermentadoras da lactose (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

As contagens de coliformes são muito utilizadas nas análises de alimentos tratados termicamente, ainda que esse grupo apresente uma pequena porção das bactérias Gram-negativas (FORSYTHE, 2002).

Os indicadores de qualidade microbiológica são microrganismos degradadores e os aumentos de suas contagens resultam em perda da qualidade do produto. Quando a qualidade de um produto é significativamente afetada pela presença de certos metabólitos, podem-se utilizar esses metabólitos como indicadores de qualidade (JAY, 2005).

2.5 Fungos

Os fungos são divididos em bolores e leveduras. Podem se multiplicar em alimentos mais secos, frescos e que tenham quantidades maiores de açúcar. Também podem ser encontradas no intestino, na boca, mãos dos homens e no ambiente. Alguns fungos também são produtores de toxinas alergênicas ou cancerígenas (SILVA JR, 2007).

A estrutura básica dos bolores é formada por filamentos denominados hifas, que em conjunto, formam o micélio, sendo o responsável pelo aspecto característico das colônias. Estas colônias podem ter aspecto cotonoso, secas, úmidas, compactadas, aveludadas, gelatinosas e com variadas colorações. Normalmente, uma análise macroscópica da colônia formada é suficiente para a identificação de pelo menos o gênero ao qual o bolor pertence. Os bolores são, em sua maioria absoluta aeróbios, razão pela qual seu crescimento nos alimentos limita-se à superfície em contato com o ar (FRANCO e LANDGRAF, 2007).

Os bolores, ou mofos, são fungos filamentosos que crescem na forma de uma massa disforme que se espalha rapidamente, podendo cobrir muitos centímetros quadrados em dois a três dias (JAY, 2005).

Das alterações microbiológicas, o “mofo” é referido como o principal gerador de problemas na indústria queijeira. Entre os danos causados, destacam-se a rejeição de queijos, alteração da aparência, perdas por raspagem ou retirada total da casca, diminuição na credibilidade do produto frente ao mercado consumidor, descoloração e perda ou modificação do sabor (KORBER, 1971; MEDINA et al., 1984; TANIWAKI e VAN DENDER, 1991; RIEDEL, 1992) além da redução do tempo de vida útil do produto (FRANCO e ALMEIDA, 1992).

O maior problema reside, entretanto, na capacidade apresentada por alguns tipos de bolores em produzirem metabólitos tóxicos conhecidos como micotoxinas (MEDINA et al., 1984; TANIWAKI e VAN DENDER, 1991), cujo controle torna-se difícil devido a grande variedade de métodos de elaboração e os diferentes tipos de queijos resultantes (KORBER, 1971; FRANCO e ALMEIDA, 1992).

As leveduras são organismos eucarióticos e unicelulares com célula podendo possuir forma oval, esférica ou cilíndrica, apresentando colônias pastosas ou cremosas. São de natureza ubíqua, podendo ser encontradas em folhas, flores, frutos frescos, grãos, exsudatos das árvores e nas camadas superiores do solo de pomares e vinha (MADRUGA et al., 2002).

De um modo geral, as leveduras em alimentos têm sua importância voltada para sua habilidade de causar deterioração, podendo conduzir muitas vezes às perdas de quantidades

significativas de alimentos, como consequência principalmente de seu vasto arsenal de enzimas hidrolíticas. É interessante como as leveduras variam seu comportamento, dependendo do alimento que utilizam como substrato, ou seja, uma mesma espécie de levedura pode ser considerada benéfica para elaboração de um alimento, porém, essa mesma espécie quando presente em outro alimento poderá agir como agente deteriorante (FRAZIER e WESTHOFF, 1993).

As leveduras crescem satisfatoriamente em alimentos com pH ácido, sendo sua faixa ótima de pH entre 4,0 e 4,5. Em meios básicos estes microrganismos só se desenvolvem se ocorrer processos fisiológicos adaptativos na célula leveduriforme para tais condições. A maioria das leveduras necessita de mais umidade que os fungos filamentosos, sendo a faixa de A_w mínima necessária para o seu crescimento oscilante entre 0,88 a 0,94. A temperatura ótima de crescimento das leveduras fica em torno de 25 a 30⁰C, com temperatura máxima entre 35 e 47⁰C, porém algumas espécies apresentam capacidade de crescimento sob temperatura de refrigeração ou em temperaturas abaixo de 0⁰C. As leveduras crescem melhor em aerobiose, embora leveduras fermentativas possam crescer lentamente em anaerobiose. Algumas espécies são capazes de crescer em salmouras, exibindo um comportamento halofílico (FRANCO e LANDGRAF, 2005).

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2. ed. Washington: Organización Panamericana de La Salud, 1986.

ALBUQUERQUE, L.C. et al . Queijo no Brasil: origem e descrição. **Revista Leite e Derivados**, São Paulo, n. 15, p. 34 -41 mar/abr. 1994.

AQUINO, F. T. M. **Produção de queijo de coalho no Estado da Paraíba**: acompanhamento das características físico-químicas do processamento. 1983. 74f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade federal da Paraíba, João Pessoa.

BARROS, A.M. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n 122, p.32-37, Julho, 2004.

BAIRD-PARKER, A.C. The Staphylococci an introduction. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, Symposium Supplement, v. 19, p. 1S-8S, 1990.

BRASIL, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Regulamento de Inspeção Industrial Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA)**, Brasília, DF 1976.174p.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30 de 26 de junho de 2001. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Manteiga**.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 368/97 de 04 de setembro de 1997. **Regulamento Técnico sobre as condições Higiénico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos elaboradores/industrializadores de alimentos.**

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 146 de 07 de março de 1996. **Regulamento Técnico de identidade e qualidade de queijos.**

BRYAN, F.L. **Diseases transmitted by foods: a Classification and Summary.** 2. ed. Atlanta: Centros para el Control de Enfermedades de EUA-HHS Publ. (CDC), 1982.

CÂMARA, S.A.V. **Surtos de toxinfecções alimentares no Estado de Mato Grosso do Sul, no período de 1998-2001.** (Trabalho de conclusão de curso – Especialização em Gestão de Saúde) - 2002. Escola de Saúde, 2002.

CAMARGO, N.J. et al. Avaliação epidemiológica de surtos de doenças transmitidas por alimentos no Estado do Paraná entre 1978 e 1997. In: CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 5., 1998, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Associação de Classes, 1998.

CARMO, L.S.; BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning in Belo Horizonte (Brasil). **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v.21, n.4, p.320-323, 1990.

EPAMIG. **Os queijos da fazenda.** 3. ed. São Paulo: Globo, 1989.

ESCUADERO, C.J.; AMAYA, D.B.; MORAES, M. A. Changes in composition and quality of Requeijão do Norte on storage. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 33, n 8, p. 1091 – 1095, ago. 1981.

FEITOSA, T. Estudos Tecnológicos, físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do queijo de coalho do estado do Ceará, Fortaleza. 2003. 96 p. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará (UFCE).

FERNADEZ. S. et al. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Estado do Rio de Janeiro. **Revista Ciência do Leite**, 2002.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B. D.G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRANCO, R.M.; ALMEIDA, L.E.F. Avaliação microbiológica de queijo ralado tipo Parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 6, n. 21, p. 33, mar. 1992.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4.ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 681p.

FURTADO, M.M. **A arte e a ciência do queijo**. São Paulo: Globo, 1991. 297p.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 629p.

JAY, J.M. **Microbiologia dos alimentos**. 4. ed, Porto Alegre: Artmed, 2000.

JAY, J.M. **Microbiologia dos Alimentos**. 6. ed, Porto Alegre: Artmed, 2005.

KLOSS, W.E.; LAMBLE JR. D.W. Staphylococcus. In: BALOWS, A. **Manual of clinical microbiology**. 5.ed. Washington, 1991.

KORBER, Rolando. A conservação do queijo com ácido sórbico. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, p. 21-22, mai/ago. 1971.

LAICINI, Z.M. e PARMEZZANI, A.F. O perigo dos queijos “diretos da fazenda”. **Revista Leite e Derivados**, n. 15, mar/abr, 1994.

LANCETTE, G.A.; TATINI, S.R. *Staphylococcus aureus*. In: VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium of Methods of the Microbiological Examination of Foods**. 3.ed. Washington: APHA, 1992. p.533-550.

LAVAL, Produção de Queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, p. 26 – 43, mai/jun. 1974.

LOGUERCIO, AP.; ALEIXO, J.A.G. Microbiologia do queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 31, n. 6. 2001.

MADRUGA, M.S.; **Aspectos da ciência e tecnologia de alimentos**. Joao Pessoa: EDUFPB, 2002. 198p.

MARQUES, M.R.H.; MARTINS, R.P.; NETO, A.C. Ocorrência de Staphilococcus coagulase positiva em leite e queijo: Identificação, perfil enzimático e biotipagem. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v . 21, n. 140, p. 86-92, abr. 2006.

MEDINA, M.; GAYA, P.; NUNÊS, M. Micotoxinas en queso. I. Aflatoxina M₁ y metabolitos producidos por mohos contaminantes durante La maduración. **Revista Española de Lechera**, n. 132, p. 123-131, 1981.

MUNCK, A.V. DUTRA, E.R.P. **Fabricação de queijos I**. Juiz de Fora: EPAMIG, 2000. Apostila.

MUNCK, A.V.; CAMPOS, W.A. Requeijão: um brasileiro. **Revista Leite e Derivados**. São Paulo, n. 15, p. 67 – 71, mar/abr. 1994.

NERVINO, C.V. et al. Perfil atual da intoxicação estafilocócica no estado de Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. **Anais...**Rio de Janeiro, 1997. p.284.

NEWSOME, R.L. *Staphylococcus aureus*. **Food Technology**.Chicago. v.42,n.4, p.194-195, 1998.

PEREIRA, M.L.; CARMO, L.S.; PEREIRA, J.L. Comportamento de Estafilococos coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas, em alimentos experimentalmente inoculados. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.12, n.21, p. 171-175, 2001.

PINTO, P. S. A.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Queijo Minas: problema emergente de Saúde Pública. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 22-27, 2001.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1992.

SALVADOR, M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo de prato e parmesão ralado. **Boletim do centro de pesquisa e processamento de alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 65 – 74, jan/jun. 2001.

SILVA JUNIOR, E. A. Manual de Controle Higiênico-Sanitário em Alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 2007.

SILVA, M. R.; PORTES, V. M.; MENIM, A.; ALVES, F. S. F. Doenças transmitidas pelo leite e sua importância em saúde pública. **Revista Ciência do Leite**. 2007.

TANIWAKI, M. H., VAN DENDER, A. G. F. Bolores produtores de toxinas em queijos: ocorrência e significado. **Revista Coletânea ITAL**, Campinas, v.22, n. 1, p. 73-82, jan/jun. 1991.

VICENTE, M. A., CENZANO, I.; VICENTE, J. M. **Manual de indústrias dos alimentos**. São Paulo: Varela, 1996. 599p.

QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO DE MANTEIGA PRODUZIDO E COMERCIALIZADO NO ESTADO DE PERNAMBUCO

A.V. S. Marinho¹, R. A. Mota², M. J. Sena³, E. S. Medeiros⁴, L. B. G. Silva⁵, I. T. Carvalho⁶, P. P. M. Silveira⁷
Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900
Recife-PE

RESUMO: Os produtos derivados do leite têm sido implicados como veículo de bactérias patogênicas. Desta maneira, a qualidade microbiológica desses produtos deve apresentar condições apropriadas para o consumo. Com o objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do Queijo de Manteiga produzido e comercializado no estado de Pernambuco, foram analisadas 21 amostras, sendo uma fiscalizada pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), dez fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Estadual (SIE) e dez produzidas sem Fiscalização, de forma artesanal. As amostras foram submetidas à pesquisa e contagem de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Coliformes totais, bolores e leveduras pelo método de detecção Petrifilm 3M. Os resultados foram apresentados por meio dos valores mínimos e máximos, freqüências relativas e absolutas observados para cada grupo de microrganismos. Para interpretação dos resultados obtidos neste estudo, baseou-se nos padrões microbiológicos estabelecidos no Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijo de alta umidade e de muito alta umidade. Observou-se que 100% (1/1) da amostra sob Fiscalização Federal encontravam-se dentro dos padrões estabelecidos pela portaria, portanto considerada própria para o consumo. Das amostras sob Fiscalização Estadual e sem Fiscalização, 40% (4/10) e 80% (8/10) respectivamente estavam fora dos padrões

1 Mestre em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife-PE CEP 51171-900. Trabalho extraído da dissertação de mestrado em Ciência Veterinária marinho_av@hotmail.com

2 Professor Associado (orientador), Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife-PE CEP 51171-900. E-mail para correspondência: rinaldo.mota@hotmail.com

3 Professor Adjunto Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife-PE CEP 51171-900.

4 Doutoranda em Biociência Animal Universidade Federal Rural de Pernambuco Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife-PE CEP 51171-900.

5 Professor Adjunto Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife-PE CEP 51171-900.

6 Professor Adjunto Departamento de Tecnologia de Alimentos Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos Recife-PE CEP 51171-900.

7 Fiscal Federal Agropecuário do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

estabelecidos, sendo consideradas impróprias para o consumo. Conclui-se a necessidade de uma maior intervenção do Serviço Oficial de Inspeção Agropecuária e Vigilância Sanitária, junto aos produtores e comerciantes de Queijo de Manteiga no Estado de Pernambuco, propondo medidas sanitárias para uma melhoria da qualidade deste produto, tendo como foco a saúde do consumidor.

Palavras-chave: Queijo de manteiga, leveduras, estafilococos, coliformes totais.

ABSTRACT: Dairy products have been known to provide a vehicle for pathogenic bacteria. Thus, the microbiological quality of these products should be such as to allow for appropriate conditions for consumption. With an aim to evaluate the microbiological quality of the Butter Cheese produced and marketed in the State of Pernambuco, 21 samples have been analyzed. One of these samples has been examined by SIF (Serviço de Inspeção Federal, the Brazilian federal inspection agency), ten have been examined by SIE (Serviço de Inspeção Estadual, the inspection agency from the State of Pernambuco), and ten have been produced in an artisanal way, under no governmental control. The samples have been subject to investigation and counting of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, total coliforms, moulds and yeasts using the 3M Petrifilm detection method. The results have been presented by means of minimum and maximum values, and relative and absolute frequencies observed in each group of microorganisms. The interpretation of the results from this study has been based on microbiological standards established in the Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijo – the general technical regulation for the determination of cheese microbiological requirements for high-moisture and extremely high-moisture cheese varieties. It has been observed that 100% (1/1) of the samples under federal inspection complied with the standards demanded by the Ordinance, thus being considered suitable for consumption. Among the samples under state inspection and without any governmental inspection, 40% (4/10) and 80% (8/10), respectively, were not compliant with the established standards, thus being considered unsuitable for consumption. The conclusion is that there is a need for a stronger intervention on the part of the Serviço Oficial de Inspeção Agropecuária e Vigilância Sanitária (the official inspection agency for agricultural and cattle raising activities and public health surveillance) with producers and wholesalers of cheese butter in the State of Pernambuco, urging sanitary actions to improve the quality of this product with focus on the consumer's health.

Keywords: Butter-Cheese; Yeasts; Staphylococcus; Total Coliforms.

INTRODUÇÃO

Segundo Salvador (2001), o queijo apresenta características nutritivas que o tornam um alimento muito importante para os seres humanos, sendo também, uma ótima fonte de nutrientes para o crescimento de microrganismos, podendo destacar os coliformes totais, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, bactérias mesófilas aeróbicas, bolores e leveduras, que quando presentes podem reduzir a qualidade do produto.

O queijo ocupa um lugar de destaque entre os produtos lácteos envolvidos nos surtos, veiculando principalmente estafilococos. Isto pode ser explicado pelo fato desse alimento ser muito manipulado, além de agravantes como condições higiênico-sanitárias inadequadas, principalmente em queijos elaborados de forma artesanal e sem inspeção sanitária (VERAS et al., 2003). Dezoito surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) ocorridos em Minas Gerais de 1997 a 2002 tiveram como alimentos implicados o leite e produtos lácteos.

A presença de bactérias nos alimentos, além de favorecer a deterioração e/ou redução da vida útil desses produtos, possibilita a veiculação de patógenos, acarretando potenciais riscos à saúde do consumidor. Desta forma, a higiene correta dos alimentos é necessária para garantir a segurança e a sua salubridade em todos os estágios de sua elaboração até o produto final, minimizando os riscos à saúde do consumidor (CORTEZ, 2003; LOBO et al., 2001).

A enumeração de coliformes totais é utilizada para avaliar as condições higiênicas do produto, pois quando em alto número, indica contaminação decorrente de falha no processamento, limpeza inadequada ou tratamento térmico insuficiente. Já a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes fecais em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais, visto que a população deste grupo tem alta proporção de *Escherichia coli* (PARDI et al., 1993)

Das alterações microbiológicas, o “mofo” é referido como o principal gerador de problemas na indústria queijeira. Entre os danos causados, destacam-se a rejeição de queijos, alteração da aparência, perdas por raspagem ou retirada total da casca, diminuição na credibilidade do produto frente ao mercado consumidor, descoloração e perda ou modificação do sabor (KORBER, 1971; MEDINA et al., 1981; TANIWAKI e VAN DENDER, 1991; RIEDEL, 1992) além da redução do tempo de vida útil do produto (FRANCO e ALMEIDA, 1992).

Dentre os produtos de laticínios fabricados em Pernambuco, o Queijo de Manteiga é um dos mais difundidos. A fabricação e comercialização desse produto é uma atividade muito importante para economia regional, contudo a qualidade microbiológica deste produto configura-se como um dos principais entraves a sua comercialização, pois mesmo sendo submetido a tratamento térmico durante a elaboração, pode apresentar problemas de contaminação devido à manipulação inadequada.

Objetivou-se com este estudo avaliar as condições higiênico-sanitárias do Queijo de Manteiga produzido e comercializado no Estado de Pernambuco, por meio da ocorrência de *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, Coliformes totais, bolores e leveduras.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 21 amostras de Queijo de Manteiga comercializadas em diferentes pontos comerciais como feiras livres, supermercados e padarias em diversos municípios do estado de Pernambuco. Uma amostra era fiscalizada pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF), dez eram fiscalizadas pelo Serviço de Inspeção Estadual (SIE) e dez eram produzidas de forma artesanal e, portanto sem fiscalização.

As amostras foram transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo reciclável ao Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos (LEAL) do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, onde foram processadas para determinação de coliformes totais, *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras, utilizando-se placas de Petrifilm 3M, método reconhecido pela “Association of official Analytical Chemists” (AOAC, 2002).

De cada amostra foram retirados assepticamente 25g que foram transferidos para frascos contendo 225 mL de solução salina (0,85%). Após a homogeneização esta foi considerada como diluição inicial de 10^{-1} . A seguir um mL desta primeira diluição foi transferido para um tubo contendo 9 mL de solução salina (0,85%), obtendo-se assim a diluição de 10^{-2} . A seguir um mL de cada diluição foi transferido para cartela de inoculação, contendo meios de alta especificidade, incubando-as em estufa a 35⁰C por 24 horas (*E. coli*, Coliformes totais e Estafilococos) e a 25⁰C por 4 dias (bolores e leveduras), para posterior realização das leituras para a contagem das colônias típicas.

A análise estatística foi do tipo descritiva, calculando-se as frequências absoluta e relativa (SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O levantamento de informações relativas à produção de Queijos de Manteiga no estado de Pernambuco, demonstraram que não existe quantificação oficial da produção artesanal, não constando em estatísticas oficiais, no entanto, sabe-se da existência de numerosas unidades de produção caseiras e de fazendas produtoras, sendo possível afirmar que 80% dos queijos de manteiga elaborados no estado têm suas origens ligadas a fabricação artesanal, corroborando com a afirmação feita por Ventura (1987) que relatou que 80% da produção de Queijo de Manteiga fabricados no Nordeste são originadas de pequenas fábricas domésticas.

Os dados levantados nesta pesquisa ainda nos permitiram observar que a produção do Queijo de Manteiga se concentra na região Agreste e Sertão do estado de Pernambuco, destacando-se os municípios de São Bento do Una, Buíque, Itaíba, Venturosa, Capoeiras, Surubim, Cachoeirinha, Lagedo, Gravatá, Bom conselho, São José do Egito, Pedra. Estes municípios fornecem este tipo de queijo para as demais regiões do Estado. Trabalho similar foi realizado pela EMBRAPA do Estado do Ceará que também constatou que a produção se concentra em algumas regiões (Jaguaribe, Crateús e Quixabá).

Na tabela 1 observam-se os resultados obtidos nas análises microbiológicas no Queijo de Manteiga quanto a pesquisa de C. Totais, *E.coli*, *Staphylococcus aureus*, bolores e leveduras.

Tabela 1 – Frequência absoluta (FA) e relativa (FR) de C. Totais, *E. coli*, *Staphylococcus*

Microrganismos	F.F		F.E		S.F	
	FA	FR	FA	FR	FA	FR
Coliformes Totais	-	-	1	10%	2	20%
<i>E.coli</i>	-	-	-	-	-	-
Estafilococos	-	-	3	30%	4	40%
Bolores	-	-	-	-	2	20%
Leveduras	-	-	-	-	2	20%

F.F - Fiscalização Federal (n=1) F.E - Fiscalização Estadual (n=10) S.F - Sem Fiscalização (n=10)

aureus, bolores e leveduras em amostras de Queijo de Manteiga

Para interpretação dos resultados obtidos neste estudo, baseou-se nos padrões microbiológicos estabelecidos no Regulamento Técnico Geral para Fixação dos Requisitos Microbiológicos de Queijo de alta umidade (Portaria nº146/96 - MAPA) onde a tolerância máxima permitida para coliforme/grama (30⁰C) é de 1,0x10⁴ UFC/g; para estafilococos é de 1,0x10³ UFC/g e para coliformes termotolerantes (45⁰C) é de 5,0x10³ UFC/g. Em relação a fungos e leveduras/g baseou-se nos padrões de queijo de muito alta umidade, onde a tolerância máxima permitida é de 5,0x10³ UFC/g.

Com relação aos coliformes totais, uma amostra (10%) com fiscalização estadual e duas amostras (20%) sem fiscalização encontravam-se com contagens variando de 1,5x10⁴ a 1,9x10⁴, sendo interpretadas como insatisfatórias (tabela1). Os resultados obtidos neste estudo contrariam os dados encontrados no estado do Rio Grande do Norte onde foi observado que 84% das amostras apresentavam coliformes totais a 35⁰C (FEITOSA et al., 2002). Desta forma o Queijo de Manteiga comercializado no estado de Pernambuco, apresenta melhor qualidade microbiológica no que se refere a esse tipo de contaminação.

A maioria dos coliformes são encontrados no ambiente, essas bactérias possuem limitada relevância na análise da condição higiênica. Devido ao fato de os coliformes serem destruídos com certa facilidade pelo calor, sua contagem é útil em testes de contaminação pós-processamento (FORSYTHE, 2002). Os microrganismos indicadores são um grupo ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem favorecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas (FRANCO, 1992).

Observou-se neste estudo que todas as amostras estavam dentro dos padrões estabelecidos para *E. coli* apresentando resultados variando entre 3x10² e 7x10² UFC/g. A reduzida população desses microrganismo indica baixo nível de contaminação fecal por ser esta bactéria um indicador de contaminação fecal ou da qualidade higiênico-sanitária do alimento, uma vez que este microrganismo é encontrado no conteúdo intestinal do homem e animais de sangue quente, demonstrando condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento. Resultado obtido por Feitosa et al. (2002) que estudaram as condições higiênico-sanitárias de 13 amostras de Queijo de Manteiga produzidos no Estado do Rio Grande do Norte, observaram que 7,7% (1/13) apresentaram confirmação para *E. coli*.

Além da gravidade da constatação de que um alimento possa estar contaminado com microrganismo de origem fecal, a presença de *E. coli* tem um significado importante já que existem linhagens que são enteropatogênicas para o homem e animais (SILVA et al., 2001).

Por outro lado, tem sido relatada a ocorrência de altos níveis de coliformes fecais em queijos coalho. Paiva e Cardonha (1999) constataram que 60% das amostras de queijo coalho artesanal comercializado no estado do Rio Grande do Norte apresentavam coliformes fecais em níveis superiores aos permitidos pela legislação, enquanto que FEITOSA (2001) também constatou elevadas contagens de coliformes fecais em outros estados do Nordeste. Este resultado pode ser atribuído à qualidade da matéria prima e processamento, uma vez que o queijo coalho, na maioria das vezes, são elaborados a partir de leite cru. A contaminação microbiana destes produtos assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a Saúde Pública.

Em 30% (3/10) das amostras com Fiscalização Estadual e 40% (4/10) sem Fiscalização, ocorreram contaminações por *Staphylococcus spp* com resultados variando entre $1,5 \times 10^3$ e $1,9 \times 10^4$ UFC/g (Tabela 1). Trabalhos realizados por Euthier et al. (1998), Almeida Filho et al. (2000) e Salvador et al. (2001), avaliando as condições higiênico-sanitárias de queijos, demonstraram que a contagem de *Staphylococcus aureus* variou de $1,0 \times 10^2$ a $13,1 \times 10^5$. Trabalho realizado no estado do Rio Grande do Norte comprovou a presença de estafilococos em 84,7% (11/13) das amostras com contagens variando de $2,4 \times 10^2$ a $8,6 \times 10^6$ UFC/g (FEITOSA, 2001).

Um levantamento realizado por GELLI et al. (1999), sobre surtos de Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA) em São Paulo, demonstrou que das amostras analisadas em 776 surtos, o agente causal identificado em 400 deles foi *Staphylococcus aureus* (43%), demonstrando mais uma vez a importância deste agente para Saúde Pública. CARMO et al. (2001) também relataram que os produtos derivados do leite foram envolvidos em 14 surtos de toxinfecção alimentar, tendo como causa as enterotoxinas estafilocócicas.

Essa bactéria pode ser destruída pelo calor, a temperatura de 65°C por 30 minutos e desta forma estima-se que no processo de fabricação do Queijo de Manteiga, estas células sejam eliminadas. Este resultado sugere, portanto, que houve uma contaminação posterior a fabricação, possivelmente relacionada a contaminação pelos manipuladores e equipamentos contaminados, visto que o homem é um dos principais reservatórios desta bactéria. Este microrganismo está presente nas vias nasais e garganta, além do cabelo e pele de 50% ou mais

de indivíduos saudáveis (FORSYTHE, 2002). Ressalta-se que o microrganismo é termolábil, podendo ser destruído após o processo normal de cocção, contudo a enterotoxina produzida

previamente no alimento é resistente, podendo permanecer ativa por vários dias. A dose de enterotoxina poderá ser atingida quando este microrganismo alcançar quantidades superiores a 10^5 UFC por grama do alimento contaminado. Apesar de potente, a quantidade de enterotoxina de *S. aureus* necessária para induzir sintomas em humanos é relativamente grande, sendo estipulado pelo menos um mg de enterotoxina por grama do alimento contaminado (BRYAN, 1982). Entretanto Mossel e Garcia (1975) afirmaram que a produção mínima de enterotoxina estafilocócica em um alimento ocorre quando há condições favoráveis de temperatura e pH para multiplicação dos estafilococos até contagens de 10^5 UFC/g de alimento.

Carmo e Bergdoll (1990) observaram alimentos com contagens variando entre 10^4 a 10^8 UFC/g contaminados com enterotoxina estafilocócicas. NERVINO et al. (1997) e NETO (1999) encontraram alimentos contaminados com enterotoxina estafilocócica em contagens variando de 10^3 a 10^4 UFC/g e 10^2 a 10^4 UFC/g, respectivamente.

A ocorrência de leveduras neste estudo foi de 20% (2/10) nos estabelecimentos de produção artesanal, com contagens variando de $1,2 \times 10^4$ UFC/g a $1,4 \times 10^4$ UFC/g, sendo consideradas impróprias para o consumo de acordo a legislação vigente. Esse resultado sugere que os produtos foram processados sob condições higiênicas insatisfatórias, comprometendo a qualidade e a vida de prateleira, uma vez que bolores e leveduras são potenciais deterioradores de produtos lácteos. Alguns trabalhos demonstraram que contagens de leveduras realizadas em diferentes tipos de queijos deteriorados mostraram valores entre 10^5 a 10^6 UFC/g, sendo que em algumas variedades de queijos esses valores chegaram a atingir níveis em torno de 10^7 a 10^8 UFC/g (SCHLESSER et al., 1992; ROOSTITA e FLEET, 1996).

A contagem de bolores e leveduras variou de $1,5 \times 10^4$ a $2,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de Queijo de Manteiga realizados no estado do Rio Grande do Norte (FEITOSA, 2002). Florentino e Martins (1999) também constataram a presença desses microrganismos entre $2,0 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^3$ UFC/g em estudo realizado no estado da Paraíba. Lira et al. (1995), constataram que de um total de 70 amostras de Queijo de Manteiga, 70% estavam contaminados por bolores e leveduras.

De acordo com Franco (2005), as leveduras multiplicam-se melhor quando estão em aerobiose, mas os tipos fermentativos multiplicam-se lentamente também em anaerobiose. Os bolores são em sua maioria, aeróbios, razão pela qual seu crescimento nos alimentos limita-se à superfície em contato com o ar.

O crescimento de fungos nos queijos pode reduzir a quantidade de ácido láctico, favorecendo o desenvolvimento de outros microrganismos potencialmente patógenos.

Sob ponto de vista econômico a contaminação por bolores e leveduras é bastante prejudicial, uma vez que altera as características organolépticas dos queijos, inviabilizando sua comercialização (SALVADOR, 2001).

Embora Taniwaki e Van Dender (1991) descrevam o queijo como um excelente substrato para o desenvolvimento de fungos, dadas às condições adequadas de temperatura e umidade, esta constatação não implica, necessariamente, na produção de toxinas.

Laicini et al. (1994) relataram que a micro flora contaminante dos queijos em geral, origina-se da adição de fermentos lácticos, dessoragem e salga. Com relação ao sal, Lira et al. (1995), constataram que alguns queijarias do Rio Grande do Norte fazem uso de sal sem registro no Ministério da Saúde.

Na tabela 2 observam-se os resultados obtidos nas análises microbiológicas no Queijo de Manteiga quanto ao valor mínimo e máximo encontrados e total das amostras consideradas impróprias para o consumo.

Tabela 2 - Contagens de Coliformes Totais, *E.coli*, Estafilococos, Bolores e Leveduras em Queijo de Manteiga no estado de Pernambuco.

Fiscalização	C. Totais	<i>E.Coli</i>	Estafilococos	Bolores	Leveduras	T (+)
	Min -Max	Min - Max	Min - Max	Min - Max	Min - Max	
Federal	40	<10	<10	<10	2x10	0
Estadual	80 - 1,5x10 ²	<10	30 - 1,9x10 ⁴	<10	20 - 4x10 ²	4
Artesanal	80 - 1,9x10 ⁴	50 - 7x10 ²	40 - 3,9x10 ³	80 - 4,4x10	20 - 1,4x10 ⁴	8

T. (+) Total das amostras em desacordo com a legislação

Considerando a legislação utilizada para a interpretação dos resultados microbiológicos do Queijo de Manteiga, constatou-se neste estudo com uma análise global que 40% das amostras (SIE) e 80% (8/10) das amostras sem Fiscalização encontravam-se fora dos padrões de aceitabilidade para o consumo. Desta forma é importante a intervenção dos Órgãos de Fiscalização do estado para reduzir os riscos de contaminação destes tipos de queijo que participa de forma significativa na economia regional, gerando renda aos produtores na região estudada.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem concluir que existe a necessidade de uma intervenção mais criteriosa do Serviço Oficial de Inspeção Agropecuária e Vigilância Sanitária, junto aos produtores e comerciantes de Queijo de Manteiga no estado de Pernambuco, propondo medidas sanitárias para uma melhoria contínua da qualidade deste produto, tendo como foco a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

AOAC – ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. 17. Ed., Maryland: Association Official Analytical Chemists, 2002.

ALMEIDA F.E.S.; NADER F. A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 6, Dez. 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 146/96 de 07 de março de 1996. **Regulamento Técnico de identidade e qualidade de queijos**.

BRYAN, F.L. Diseases transmitted by foods: a Classification and Summary. 2. ed. Atlanta: **Centros para el Control de Enfermedades** de EUA-HHS Publ. (CDC), 1982.

CARMO, L.S.; BERGDOLL, M.S. Staphylococcal food poisoning in Belo Horizonte (Brasil). **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 320-323, 1990.

CORTEZ, A.L.L. Indicadores de qualidade higiênico-sanitária em lingüiça frescal comercializada no Município de Jaboticabal-SP. 2003. 42p. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2003.

EUTHIER, S.M.F.; TRIGUEIRO, I.N.S.; RIVERA, F. Condições higiênico-sanitárias do queijo de leite de cabra “tipo coalho”, artesanal elaborado no curimatau Paraibano. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, Maio/Jul. 1998.

FEITOSA, T. Estudos Tecnológicos, físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do queijo de coalho do estado do Ceará, Fortaleza. 2002. 96 p. **Dissertação** (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará (UFCE).

FLORENTINO, E.S.; MARTINS, R.S. Características microbiológicas do queijo coalho produzido no estado da Paraíba. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n.59, p. 43-48, 1999.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, R.M.; ALMEIDA, L.E.F. Avaliação microbiológica de queijo ralado tipo Parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 6, n. 21, p. 33, mar. 1992.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2007.

GELLI, D.S. et al. Surtos de Enfermidades Transmitidas por Alimentos (ETA) investigados pelos laboratórios de Saúde Pública do Estado de São Paulo, no período de 1994-1998. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 20.1999, Salvador. **Anais**. Salvador. 1999. p.126.

KORBER, Rolando. A conservação do queijo com Ácido Sórbico. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, p. 21-22, mai/ago. 1971.

LAICINI, Z.M. et al. Contribuição ao estudo dos queijos azuis. **Higiene Alimentar**, v. 8, n. 32,p. 21-24, jul. 1994.

LIRA, B. F. et al. Avaliação das condições higiênicas sanitárias e microbiológicas dos queijos artesanais produzidos na Região do Seridó / RN. In: CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS. 14, São Paulo, 1995. **Livro de Resumo**. São Paulo. SBCTA, 1995. P. 124.

LOBO, M.U. et al. Avaliação microbiológica de salames comercializados no Município de Santa Maria – RS. **Higiene Alimentar**, v.15, n.88, p. 57 - 61, 2001.

MEDINA, M.G, PILAR y NUNÊS, Manuel. Micotoxinas en queso. I. Aflatoxina M₁ y metabolitos producidos por mohos contaminantes durante la maduración. **Revista Española de Lechera**, n. 132, p. 123-131, 1981.

MOSSEL, D.A.A.; GARCIA, M.B. **Micrbiologia de los alimentos**. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y La calidad de los alimentos. Ed 1. Zaragoza: Acribia, 1975, 375p.

FEITOSA, T.; BORGES, M de F.; MACEDO, A.A.M. Diagnóstico das condições de processamento e qualidade microbiológica de produtos regionais derivados do leite produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Revista do Instituto de Laticínios Candido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, p. 121 – 126, 2002.

NERVINO, C.V. et al. Perfil atual da intoxicação estafilocócica no estado de Paraná. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA. 19.,1997, Rio de Janeiro. *Anais...*Rio de Janeiro, 1997. p.284.

NETO, A.C. Enterotoxigenicidade de *Staphylococcus* spp. Isolados de alimentos. 1999. 65p. **Dissertação** (Mestrado) Centro de Ciências da Saúde: Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1999.

PAIVA, M.S.D.; CARDONHA, A.M.S. Queijo coalho artesanal e industrializado produzidos no Rio Grande do Norte: estudo comparativo da qualidade microbiológica. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, 1999, p. 33.

PARDI, M.C.; SANTOS, I. .; SOUZA, E.R.; PARDI, H.S. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. Goiânia: EDUFF, 1993. 586 p.

RIEDEL, G. **Controle Sanitário dos Alimentos**. 2 ed. São Paulo: Livraria Atheneu, 1992.

ROOSTITA, R., FLEET, G.H. The occurrence and growth of yeasts in Camembert and blue-vinned cheeses. *Int. J. Food Microbiol.*, v. 28, p. 393 – 404, 1996.

SAMPAIO, I.B.M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: UFMG, 1998. 221p.

SALVADOR, M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo prato e parmesão ralado. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 1, p. 65-74, Jan./Jun. 2001.

SCHLESSER, J.E.; SCHMIDT, S.J.; SPECKMAN, R. **Characterization of chemical and physical changes in Camembert chesse during ripening**. J. Dairy Sci., v. 75, p. 1753 – 1760, 1992.

SILVA, Z.N. et al. Isolamento e identificação sorológica de Escherichia coli enteropatogenica em leite pasteurizado. São Paulo: **Revista Saúde Pública**, v.35, p.375-379, 2001.

TANIWAKI, M.H.; VAN DENDER, A.G.F. Bolores produtores de toxinas em queijos: ocorrência e significado. **Revista Coletânea ITAL**, Campinas, v.22, n. 1, p. 73 - 82, jan/jun. 1991.

VENTURA, R.F. Requeijões do Nordeste: tipos e fabricação. **Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 42, n. 254, p. 3-21, 1987.

VERAS, J.F.; SANTOS, D.A.; CARMO, L.S. et al. Levantamento de surtos de toxinfecção alimentar envolvendo leite e seus produtos derivados no estado de Minas Gerais, Brasil. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, p. 218, 2003.