



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
UNIDADE ACADÊMICA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CAMPUS DE PATOS-PB

**AVALIAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJO COALHO
COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE ITAPORANGA-PB**

JUSSARA FERREIRA DE SOUSA

Patos-PB
2011



Biblioteca Setorial do CDSA. Agosto de 2022.

Sumé - PB

S725a
2011

Sousa, Jussara Ferreira de

Avaliação higiênico-Sanitária de queijo de coalho comercializado no Município de Itaporanga-PB / Sousa, Jussara Ferreira de . - Patos-PB: UFCG, CSTR, UACB, 2011.

31p.: il.

Bibliografia

Orientadora: Rosália Severo de Medeiros

Monografia (Graduação em Ciências Biológicas)

1 - Higiene Sanitária dos Alimentos(Origem animal.) 2 - Queijo de coalho - Qualidade higiênico-sanitaria.. I Título.

CDU: 613.28

JUSSARA FERREIRA DE SOUSA

**AVALIAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJO COALHO
COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO
DE ITAPORANGA-PB**

Aprovado em: __/__/__

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. VICENTE QUEIROGA NETO (CSTR/UACB)
ORIENTADOR

Prof. Dr. FELÍCIO GARINO JÚNIOR (CSTR/UFCG)
1º EXAMINADOR

Profª. Mst. CYNTHIA HELENA P. DE CARVALHO (CSTR/UACB)
2ª EXAMINADORA

Aos meus pais

Luiz e Terezinha

DEDICO

Ao meu esposo

Jardeiton "minha vida"

A minha tia

Luzinete

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda a coragem e determinação que em mim ele plantou para concretização desse grande Sonho.

A Prof^a Rosália Severo de Medeiros pela orientação, não medindo esforços para que tudo fosse realizado.

Ao Prof^o. Vicente de Queiroga por ter me acolhido como orientanda depois de muitos percalços, mesmo não sendo a sua área.

Ao Prof. Felício pela co-orientação e atenção dada nesse momento tão difícil.

A Prof^a Dra M^a das Graças Xavier por ter nos cedido o Laboratório e a Dalana e Iara por toda a paciência dos ensinamentos.

A Prof^a Dra Maria das Graças Veloso Marinho pelos exemplos de humildade e perseverança, a Senhora, meu muito obrigado por sempre me entusiasmar diante das dificuldades.

A Prof^a Rosalva Dias pela incentivação durante os contratemplos da vida.

A Tia Luzinete, por acreditar em meu potencial e me encorajar sempre diante das dificuldades da vida.

A minha amiga Danny Benício pelas partilhas, fazendo com que as dificuldades se tornassem simples etapas a serem vencidas.

A minha amiga Mayara Campos, por toda força e incentivo para concretização de um sonho.

As minhas amigas de Curso, Danny, Érika Borges, Camila Nega e Jaiana por força e motivação durante esses cinco anos de jornada.

Aos meus colegas de Curso, Everton, Escarião, Dinarte, Elsson e Léo pelo apreço da amizade.

A minha família, por acreditarem no meu sonho e realização.

Ao meu esposo Jardeilton, por tantas partilhas juntos e por me apoiar em todos os momentos difíceis, com sua alegria e espontaneidade.

A toda a minha turma de Biologia 2006.2, levarei comigo sempre um pedacinho de cada um, agradecendo sempre a Deus pela oportunidade que me foi concedida.

A todos os Mestres do Curso de Ciências Biológicas, pelos ensinamentos proporcionados para minha formação acadêmica.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram com a realização deste trabalho.

“Educai as crianças e não será preciso castigar os homens”.

(Pitágoras)

**AVALIAÇÃO HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJO COALHO
COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE
ITAPORANGA-PB**

SOUSA, J.F; NETO, V.Q¹

¹Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Curso de Ciências Biológicas (Licenciatura).(jussara_ita@hotmail.com, vqneto@zipmail.com.br).

RESUMO:

O queijo é um produto rico em nutrientes, e quando elaborado com leite cru e sem os devidos cuidados de higiene, possibilita a rápida multiplicação de micro-organismos. Esta pesquisa teve objetivo de avaliar a qualidade microbiológica de amostras de queijo coalho comercializado em supermercados e em feiras livres de Itaporanga-PB. Foram analisadas 6 amostras denominadas por amostras A, B, C, D, E e F coletadas no período de junho a julho de 2011, submetidas à testes de Coliformes totais e termotolerantes, mesófilos, bolores e leveduras e pesquisa de *Staphylococcus aureus*. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de análise de leite e derivados da UFCG Campus Patos-PB, segundo metodologia descrita no APHA. Os resultados evidenciaram que todas as amostras apresentaram contaminação por coliformes totais, mesófilos e *Staphylococcus aureus* por apresentarem alta contagem de micro-organismos, estando em desacordo com as portarias N°146 de 07/03/1996 e RDC N° 12 de 02/01/2001 que estabelecem os limites de referência. Para coliformes termotolerantes 2 estavam fora dos padrões exigidos PE legislação. Quanto a bolores e leveduras houve ausência em 3 das amostras analisadas. Conforme os resultados apresentados a presença de coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureus* associada a grande prevalência de coliformes totais, mesófilos ,bolores e leveduras, são indicativos da baixa qualidade higiênica do queijo coalho podendo favorecer a presença de micro-organismos patogênicos no produto. Devido a esses fatores o controle de contaminação microbiana e as boas práticas de fabricação desse tipo de queijo são importantes para a qualidade do produto.

Palavras-Chave: queijo coalho, coliformes, mesófilos, bolores e leveduras, *Staphylococcus aureus*, qualidade higiênico-sanitária.

SANITARY INSPECTIONS OF THE CHEESE CURD MARKETER CITY OF ITAPORANGA-PB

SOUSA, J.F, NETO, V.Q¹

¹Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Curso de Ciências Biológicas (Licenciatura).(jussara_ita@hotmail.com, vqneto@zipmail.com.br).

ABSTRACT:

Cheese is a product rich in nutrients, and be prepared with raw milk without due care and hygiene, allows the rapid multiplication of micro-organism. This research was conducted to evaluate the microbiological quality of samples of curd cheese sold in supermarkets and street markets Itaporanga-PB. We analyzed six samples denoted by A, B, C, D, E and F collected in the period from June to July 2011, subject to the toelf of total coliforms and termotolerantes, mesophiles, molds, yeasts and *Staphylococcus aureus* research. Analyses were performed in the Microbiology Laboratory analysis of dairy products UFCG Campus of Patos-PB, using methods described in APHA. The results showed that all samples had total coliforms, mesophiles and *Staphylococcus aureus* due to high counts of micro-organism, being contrary to the decrees number 146 of 07.03.1996 and RDC number 12 of 02.01.2001 establishing the reference limits. For fecal coliform two were outside the required standards legislation. As for yeasts and molds was absent in three of the samples. As the results presented to the presence of fecal coliform and *Staphylococcus aureus* associated with high prevalence of total coliforms, mesophiles, yeasts and molds are indicative of poor hygienic quality of curd cheese may favor the presence of pathogenic micro-organisms in the product. Due to these factors control microbial contamination to the good manufacturing practices this type of cheese are important for product quality.

Keywords: cheese curds, coliforms, mesophiles, molds and yeast, *Staphylococcus aureus*, sanitary quality.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Resultados das análises microbiológica das seis amostras de queijo coalho obtidas em estabelecimentos comerciais no município de Itaporanga – PB- 2011 31

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principais fatores que afetam a carga microbiana do leite e derivados	21
Figura 2. A: Queijo mantido em temperatura de refrigeração. B: Queijo mantido em temperatura ambiente expostos em balcão	25
Figura 3. Desenvolvimento de bolores e leveduras em meio PDA acidificado	27
Figura 4. Diferença entre tubo positivo (turvação com produção de gás) e tubo negativo (sem turvação) em meio LST	28
Figura 5. Tubos semeados em meio de Triptona com o reagente de Kovacs para teste positivo (quando ocorreu o desenvolvimento do anel vermelho-violeta na superfície do meio) e negativo (quando o anel permaneceu na cor amarela do reagente)	29
Figura 6. Placa com crescimento de bactéria em meio de BPA	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
OMS	Organização Mundial da Saúde
ICMSF	International Commission on Microbiological Specifications for Foods
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
PCA	Ágar Padrão para Contagem
PDA	Ágar Batata Dextrose Acidificado
UFC/g	Unidade Formadoras de Colônias por gramas
LST	Lauril Sulfato Triptose
CVB	Caldo Verde Brilhante Bile
NMP/g	Número Mais Provável por gramas
BPA	Ágar Baird-Parker
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APHA	American Public Health Association
mL	mililitro (s)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Leite.....	15
2.2 O queijo de coalho e sua origem.....	16
2.3 Doenças Transmitidas através de Alimentos.....	16
2.4 Microrganismos indicadores de Condições Higiênico-Sanitárias de Queijos.....	18
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	19
2.4.2 <i>Staphylococcus</i>	20
2.5 Fontes de Contaminantes de Queijos.....	21
2.5.1 Animal.....	22
2.5.2 Manipuladores.....	22
2.5.3 Ambiente.....	23
3. OBJETIVOS.....	24
3.1 Geral.....	24
3.2 Específicos.....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Aquisição das amostras.....	25
4.2 Preparação das amostras.....	26
4.3 Contagem de Micro-organismos Aeróbios Mesófilos, Bolores e Leveduras.....	27
4.4 Determinação de coliformes Totais e Termotolerantes.....	28
4.5 Pesquisa de <i>Escherichia coli</i>	29
4.6 Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
5.1 Contagem de Mesófilos.....	32
5.2 Contagem de coliformes totais.....	33
5.3 Coliformes Termotolerantes ou a 45°C.....	34
5.4 Contagem de bolores e leveduras.....	34
5.5 Pesquisa de <i>Staphylococcus aureus</i>	35
6. CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1. INTRODUÇÃO

O leite é um produto com grande valor nutritivo para a alimentação humana. Carreiam componentes químicos como carboidratos, proteínas, vitaminas, sais minerais, enzimas e gases. Biologicamente, é definido como um produto pastoso de cor branca extraído das glândulas mamárias de fêmeas (MARQUES, 2000).

O Brasil é o sexto maior produtor de leite do mundo, no entanto, cerca de 95% do leite produzido e comercializado é classificado como leite do tipo “C” que não apresenta normatização nem fiscalização rigorosa. No entanto a normatização, fiscalização e o monitoramento eficaz por parte dos órgãos públicos responsáveis é decisiva para o êxito da produção de um leite com alta qualidade e conseqüentemente de seus derivados (COSTA, 2005).

No Brasil os principais Estados produtores de leite são: Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Paraná, Goiás, Santa Catarina e São Paulo, respectivamente (EMBRAPA, 2010). Entretanto novas fronteiras produtivas têm surgido como os estados da Região Nordeste que ocupa a 4ª colocação na produção de leite (IBGE, 2010).

Segundo Nassuet al.,(2003) na Região Nordeste, observa-se uma elevada taxa de crescimento no número de agroindústrias que utilizam como matéria-prima o leite produzido pelos pequenos e médios produtores. No entanto, a qualidade dos laticínios produzidos configura-se muitas vezes como um dos principais empecilhos na sua comercialização.

A carga microbiana do leite depende da quantidade de micro-organismos que entram em contato com o leite antes da ordenha ou através de contaminações subseqüentes ressaltando-se que a multiplicação microbiana interfere na qualidade microbiológica do leite cru e na de queijos de produção artesanal. Normalmente elaborados com leite cru, destacam-se: matéria-prima e água de má qualidade bacteriológica, sanitização deficiente dos utensílios utilizados no transporte do leite e comercialização a granel dos queijos, temperaturas de refrigeração impróprias, hábitos pouco higiênicos dos ordenhadores e todas as condições inadequadas de limpeza e higiene realizadas no processamento e comercialização dos produtos lácteos (INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS, 1991).

Entre os produtos derivados do leite fabricados na Região do Nordeste brasileiro, em especial na Paraíba o queijo de coalho é muito produzidos, onde são fabricados e consumidos (NASSUet al., 2003). A tecnologia utilizada na produção destes queijos é baseada na forma

de experiência e o seu processamento acontece de forma mecânica, uma vez que eles produzem o queijo com técnicas artesanais defasadas, envolvendo, muitas vezes, condutas inadequadas quanto aos aspectos sanitários, sendo deste modo mais propício a contaminação microbiana e, conseqüentemente reduz a vida útil do produto, pois as características sensoriais do produto ainda se mantêm (CAVALCANTE et al., 2007).

A contaminação presente nestes alimentos representa um perigo à saúde pública pelo risco de causar doenças (BORGES et al., 2003). Segundo a OMS (Organização Mundial da Saúde), essas doenças atingem os indivíduos de todo o mundo e causam prejuízos financeiros ao governo e a saúde do consumidor (GENTA et al., 2005).

Nesse contexto o estudo da avaliação da qualidade higiênico-sanitária de queijo de coalho de fabricação artesanal comercializado no município de Itaporanga-PB, é de suma importância tendo em vista o papel do leite e seus derivados na alimentação, além de analisar os agentes contaminantes deste alimento como Coliformes totais e Termotolerantes, *Staphylococcus*, *E.coli*, Mesófilos, Bolores e Leveduras, contribuindo desta forma para a avaliação da qualidade do produto e potencial risco de veiculação de micro-organismos patogênicos no queijo coalho artesanal.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Leite

O leite é uma emulsão de óleo em água estabilizado por proteínas, produzido pelas glândulas mamárias de animais (ABREU, 1999). Apresenta um valor alimentar inestimável na nutrição humana por conter proteínas de alto valor biológico, por sua riqueza em cálcio e fósforo e por conter notáveis quantidades de vitaminas A e B2, além de exercer uma influência reguladora sobre a flora bacteriana do trato intestinal (VEISSEYRE, 1998).

A qualidade inicial do leite é a condição primordial para se obter um bom queijo. O leite recém-ordenhado, em condições mínimas de assepsia, contém $5,0 \times 10^3$ a $5,0 \times 10^4$ UFC/g, devendo ser coletado, resfriado e mantido sob boas condições de higiene para eliminação de micro-organismos (ALMEIDA et al., 2002). A garantia da qualidade do leite, principalmente para evitar veiculação de agentes infecciosos ao homem, se inicia com o atestado sanitário da vaca, do ordenhador, das condições sanitárias do ambiente em que as vacas são ordenhadas, do equipamento usado na coleta e transporte do leite. Depende ainda, das condições higiênico-sanitárias durante a produção, do tratamento térmico, da temperatura de armazenamento do leite na propriedade, durante o transporte até a indústria, assim como os cuidados na rede de distribuição e no consumo (SANTOS; GENIGEORGES e FARVER, 1981).

O tipo de produção que ocorre na maioria das propriedades leiteiras no Brasil, com pouca tecnologia, controle sanitário dos animais e higienização deficientes, gera leite com baixa qualidade. Um dos principais aspectos de qualidade afetados é o microbiológico, uma vez que o leite produzido em condições inadequadas de higiene e sanidade possui alta população bacteriana, comprometendo-o do ponto de vista tecnológico, durabilidade e de segurança alimentar (ABREU, 2005).

Devido a sua constituição, o leite torna-se um excelente meio de cultura para proliferação de micro-organismos podendo ser responsável pela transmissão de importantes zoonoses ao homem (AMARAL et al., 2004). Estes micro-organismos podem contaminar o leite durante ou após a ordenha e conseqüentemente os derivados, os quais podem ainda sofrer contaminação durante processamento e estocagem, principalmente nos casos em que há grande manipulação do produto (NOUT, 1994).

2.2 O queijo de coalho e sua origem

Tendo início em 1888, a história da indústria queijeira no Brasil tem um pouco mais de 100 anos, com a chegada de imigrantes dinamarqueses e holandeses em Minas Gerais (ABREU, 2005).

A diversificação de queijos existentes no mercado é inestimável. Esse grande número de variedades é resultante de modificações em algumas etapas de fabricação. Das 480 mil toneladas de queijos produzidos anualmente no Brasil, a maior parte (95%) é considerada de consumo popular, destacando-se os tipos prato, mussarela, parmesão e minas (CRISCIONE, 1996; XAVIER, 2003).

Segundo a Portaria nº 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o queijo apresenta a seguinte definição:

Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. (BRASIL, 1996).

E ainda, como reporta Fox (2000), queijo é o nome genérico de um grupo de produtos lácteos fermentados, produzidos em todo mundo, numa enorme diversificação de textura, sabores e formas.

A obtenção higiênica do leite é o primeiro ponto crítico no processo de fabricação de queijos e de outros derivados, uma vez que os micro-organismos podem ser introduzidos no produto (LANGE; BRITO 2003). Desta forma, a qualidade do produto final é influenciada pelas condições higiênico-sanitárias em que o leite foi obtido, pelo processamento na indústria, pelas condições de sanitização do ambiente, qualidade da água e pelo armazenamento e transporte da matéria-prima e do produto (ICMSF, 1997).

2.3 Doenças Transmitidas através de Alimentos

Nas últimas décadas, as doenças de origem microbiana relacionadas com o consumo de alimentos vêm tornando-se a principal preocupação de segurança alimentar entre consumidores e agências reguladoras. Estima-se que, aproximadamente 30% dos habitantes de países industrializados sofrem de algum tipo de doença de origem microbiana transmitida por alimentos por ano, e no século XXI pelo menos 2 milhões de pessoas morreram como consequência de doenças diarréicas em todo o mundo (WHITE et al., 2002).

A toxinfecção alimentar é causada por micro-organismos patogênicos indesejavéis, presentes nos alimentos. A maioria dos casos de intoxicação e infecção alimentar no homem é atribuída a bactérias patogênicas como *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*, *Escherichia* spp. e *Shigella* spp. No decorrer dos últimos anos, houve uma crescente preocupação e interesse em identificar as causas de doenças gastrointestinais humanas como também as enterotoxinas e os fatores de virulência causadores de doença (FRANCO, 2005).

Quando contaminado por bactérias patogênicas, em razão das péssimas condições de higienização nas quais o produto é produzido e comercializado, o queijo coalho pode causar toxinfecção em humanos. A contaminação microbiana do queijo pode ser clandestina, gerada pela ordenha feita manualmente em currais (CARVALHO, 2001)

O processo de pasteurização do leite e a adição de conservantes ao queijo de coalho reduzem os riscos de toxinfecções alimentares, no entanto, falhas durante o processamento de manipulação pode favorecer a contaminação por matérias estranhas de origem biológica. As contaminações de queijo de coalho assumem uma grande importância na saúde pública, considerando-se que as bactérias enterotoxigênicas e patogênicas como *S. aureus* e *Salmonella* são bastante encontradas em produtos lácteos (PERESI et al., 2001).

A contaminação e a deterioração microbiana dos alimentos estão intimamente relacionadas com as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). Levando em consideração o modo de ocorrência da doença, pode-se dar de três formas de ação: intoxicações, quando resultam da ingestão do alimento contendo toxina fúngica ou bacteriana pré-formada; infecções, as quais ocorrem como consequência do consumo de alimentos contaminados com células viáveis de patógenos entéricos e toxinfecções, as quais ocorrem como resultado do consumo de um grande número de células viáveis de bactérias patogênicas, seguido pela liberação de toxinas em nível intestinal (JAY, 2005).

Nesse sentido torna-se emergencial a tomada de ações com ênfase na aplicação de processos que conduzam a uma redução do número de micro-organismos e/ou diminuição da velocidade de seu crescimento em alimentos, frente às consequências do crescimento

microbiano em alimentos, seja na consideração dos danos decorrentes de sua ação deteriorante ou de sua ação como causador de doenças.

2.4 Micro-organismos indicadores de condições Higiênico-Sanitárias de Queijos

A contaminação microbiológica na indústria de alimentos representa um sério perigo para a saúde do consumidor e acarreta grandes prejuízos econômicos. Os laticínios, pela própria matéria-prima que utilizam e pelo alto teor de umidade nos locais de produção, são particularmente suscetíveis a essa contaminação. Daí, a importância da conscientização dos profissionais do setor, em todos os níveis, para a necessidade da implantação de programas de boas práticas de fabricação e do controle permanente dos processos e seus pontos críticos (PERRY, 2004).

Os alimentos são passíveis de contaminação por diferentes agentes etiológicos, podendo levar a doenças manifestadas por ação de microorganismos patogênicos ou suas toxinas. Os micro-organismos mais comumente utilizados como indicadores de contaminação são representados pelo grupo coliformes, que abrange todos os bacilos gram-negativos, não esporulados, aeróbios ou anaeróbios facultativos, que fermentam lactose produzindo gás dentro de 48h a 35° C (PEREIRA, 1993). O grupo das bactérias coliformes totais e fecais é de grande importância, pois muitas delas colonizam o trato intestinal de animais e seres humanos, sendo, por isso, utilizadas para a verificação da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos.

Conforme Franco et al., (2005), os micro-organismos indicadores são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento.

Vários estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo de coalho relataram a ocorrência de micro-organismos patogênicos e contagens de micro-organismos deteriorantes em números que excedem, às vezes, os limites estabelecidos pela legislação (BASTOS et al., 2001). Dentre as bactérias patogênicas detectadas destacavam-se *S. aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

A contagem dos coliformes a 35°C é indicativo do grau de contaminação do ambiente em que o produto foi obtido, dependendo da higiene do queijo. Enquanto que a contagem de

coliformes a 45°C indica uma possível contaminação através de bactérias patogênicas e a presença de material fecal que é um indicador sanitário, sendo a *Escherichia coli* a espécie mais importante por ser exclusiva do intestino do homem e de animais de sangue quente e principalmente por existirem estirpes altamente patogênicas, como a *E.coli*OH:157(ICMFS,1978;JAY,2005).

Os fungos filamentosos também apresentam uma grande importância na microbiologia de alimentos, pois além de causarem a deterioração do alimento, eles também são produtores de micotoxinas. A ingestão crônica ou aguda, pelo homem, de alimentos contaminados com micotoxinas pode levar a um quadro de micotoxicose, podendo causar ao organismo vários danos, acarretando alterações em suas funções orgânicas, desenvolvimento de tumores, podendo inclusive, ser letal (SCUSSEL, 1998).

A presença de bolores e leveduras viáveis e em índices elevados nos alimentos podem fornecer várias informações, tais como, condições higiênicas deficientes de equipamentos, multiplicação no produto em decorrência de falhas no processamento e/ou estocagem e matéria prima com contaminação excessiva (SIQUEIRA, 1995).

2.4.1 *Escherichia coli*

São bactérias pertencentes à família Enterobacteriaceae, bacilos Gram-negativos, e possuem vários gêneros, que estão amplamente distribuídos no ambiente como também no trato intestinal de animais de sangue quente, a exemplo, do homem, bovino e aves. Estes microrganismos são enterobactérias capazes de fermentarem a lactose com produção de gás e crescerem quando inoculados em meios contendo sais biliares. Nesta família encontra-se o grupo dos coliformes, que dependendo da temperatura que se desenvolvam são classificados em coliformes totais (35°C) ou em coliformes termotolerantes (45°C) (QUINN et al., 2005).

E. coli é também a maior causa de infecções urinárias e nosocomiais incluindo septicemia e meningite. Outras espécies, exceto *E. Blatta* são raramente identificadas como patógenos oportunistas, usualmente associados com infecções de feridas (HOLT et al., 1994).

O reservatório principal de *E. coli* na população humana é o próprio ser humano. Os modos de transmissão principais são: a contaminação fecal de alimentos, a água contaminada e a transmissão pessoa a pessoa. O modo mais comum de transmissão é a via fecal-oral. As crianças são as mais susceptíveis a diarreias por *E. coli*, sendo encontradas, em algumas

ocasiões, as mesmas amostras de *E. coli* em crianças e animais, com cachorros e gatos incriminados como fontes de infecção (BRYAN, 1982).

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos da família Micrococcaceae, encontrados como organismos comensais ou patógenos bacterianos tanto em humanos como em animais. São imóveis, com diâmetro variando entre 0,5 a 1,5µm, não formadoras de esporos, apresentando-se na forma de cachos de uva. São formadoras de colônias pigmentadas, em geral não-capsuladas, catalase e termonuclease positivas e coagulase positivas ou negativas (RAVEL, 1997; ZECCONI; HAHN, 2000). Em meio de Ágar Sangue, alguns isolados produzem β-hemólise (KONEMAN *et al.*, 2001).

Segundo Pelczar *et al.* (1981) os *staphylococcus* são moradores naturais da microbiota animal, no qual serve de fonte para esses germes encontrados em toda parte. Como agente patogênico, eles são causa de muitos processos supurativos, diversificando desde espinhas, furúnculos e abscessos até septicemias fatais; são, ainda, invasores secundários em perionites, cistites e meningites. Como saprófitas, os *staphylococcus* são cosmopolitas, sendo encontrados na pele normal, no nariz, na boca e nos intestinos, assim como no ar, na água, no leite, nos despejos e nos fômites.

Estes micro-organismos são resistentes a condições severas e podem ser recuperados de ambientes não-fisiológicos meses após a inoculação (LISA; PLANO, 2004). Um dos principais patógenos oportunistas deste gênero, *S. aureus*, coloniza uma porção extensa da população humana (GILL *et al.*, 2005).

O *S. aureus* é um dos mais importantes causadores de intoxicações alimentares, assumindo relevância para a saúde pública, em virtude do risco potencial de sua veiculação ao homem através do leite e derivados que podem conter enterotoxinas termoestáveis pré-formadas nestes alimentos (SENA, 2000). A contaminação dos alimentos por *Staphylococcus spp.* de origem humana pode ser bastante reduzida mediante adoção de boas práticas de manuseio, aplicação e conservação. Assim como também medidas de controle da higiene de obtenção da matéria prima no caso, o leite. Os micro-organismos devem ser destruídos pela pasteurização antes que se multipliquem e os alimentos devem ser mantidos sobre refrigeração.

A análise microbiológica desses micro-organismos é de grande importância, pois são potencialmente patogênicos para a espécie humana. Estes micro-organismos desenvolvem papel importante na saúde pública, uma vez que são responsáveis pelos surtos de DTAs como as infecções alimentares (SILVA Jr., 2007).

O objetivo de se analisar este grupo de micro-organismos é saber se o queijo que está sendo oferecido ao consumidor, foi obtido através de condições sanitárias adequadas, sendo sua contagem indicador de deterioração, contato com animais doentes, meios higiênicos insatisfatórios por parte do manipulador, contato excessivo com ambiente, dentre outros fatores. Daí a importância da conscientização dos profissionais do setor, em todos os níveis, para a produção de um alimento de alta qualidade.

2.5 Fontes de Contaminantes de Queijos

A microbiota inicial influencia grandemente a qualidade do leite cru e conseqüentemente seus derivados (SUAREZ & FERREIROS, 1991).

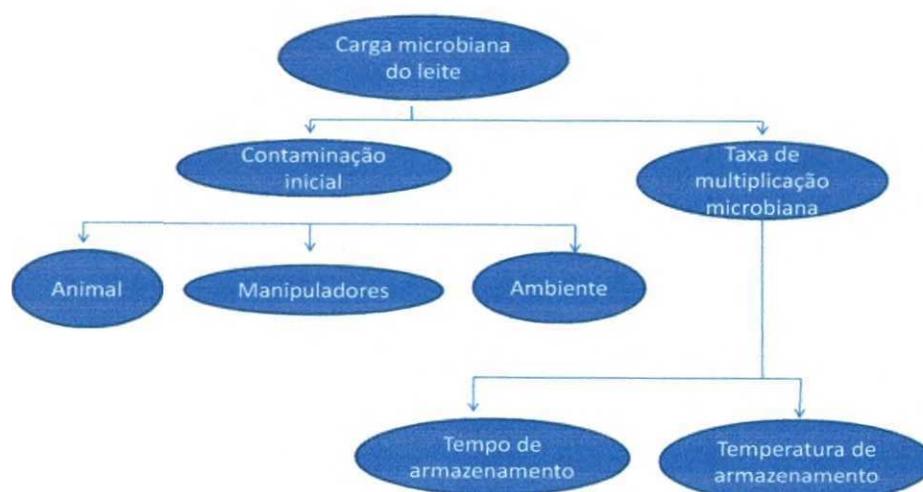


Figura 1: Principais fatores que afetam a carga microbiana do leite e derivados. Fonte: (FONSECA & SANTOS, 2007).

A microbiota presente e/ou a quantidade dos micro-organismos podem sofrer influência do estado de saúde do animal, das condições de higiene e limpeza do estábulo, dos equipamentos em contato com o leite e das condições de higiene e saúde dos manipuladores

até a elaboração do produto final (Figura 1). Também a forma de conservação do leite, o tipo de processamento, as condições de armazenamento e a qualidade microbiológica da água influenciam a microbiana presente nos derivados. (ZEGARRA, 2009).

Cada vez mais, a produção de leite deve ser atrelada aos sistemas agroindustriais de qualidade. A higiene do animal, do ordenhador e das instalações são ações necessárias para atingir este objetivo, no início do processo produtivo, ou no elo em que está relacionado ao produtor, como mostra na Figura 1. Não menos importante, deve haver atenção aos processos relacionados à refrigeração do leite, armazenamento e transporte (BRASIL, 2002).

2.5.1 Animal

O animal é o maior reservatório no que se refere à contaminação do leite produzido, e conseqüentemente aos seus derivados, tendo em vista que o próprio pode estar contaminado com micro-organismos patogênicos antes mesmo da produção do queijo. A contaminação acontece por o leite conter resíduos de substâncias como antibióticos, desinfetantes e pesticidas administradas aos animais pelas vias intramamárias, intramuscular, intra-uterina, oral e subcutânea, usados para tratar mastite e outras infecções das vacas leiteiras (BRITO et al.,; FONSECA, 2009). A sanidade do rebanho é um dos aspectos mais importantes que devem ser levados em conta nos sistemas de produção, pois o seu controle impede a disseminação de enfermidades.

Para evitar esta contaminação procedimentos de prevenção deverão ser adotados, destacando-se as vacinações, vermifugações sistemáticas, testes sorológicos para brucelose e leptospiros e parasitológico de fezes.

2.5.2 Manipuladores

Os micro-organismos estão em todos os lugares e chegam aos alimentos, geralmente pela falta de higiene pessoal, do ambiente e utensílios e também por falta de cuidados na preparação e na distribuição dos alimentos (JAY, 2005).

A água é outro fator preponderante para resguardar a qualidade do queijo, pois uso de água não potável, ou seja, fora dos padrões legais vigentes ocasiona sérios problemas às indústrias, dificultando e até inviabilizando a produção de alimentos em concordância com os

padrões desejáveis, além de representar um meio potencial de transmissão de micro-organismos patogênicos que podem provocar doenças gerando assim risco a saúde e a vida do consumidor (ANDRADE, 2008).

Todos os manipuladores de alimentos precisam conhecer informações sobre a prática de medidas de higiene que devem ser utilizadas para evitar a contaminação química, no caso veneno, pesticida, física, como pregos, cacos de vidro ou biológico, como os micro-organismos ou por outras substâncias indesejáveis.

2.5.3 Ambiente

O ambiente pode ser uma fonte poderosa de proliferação para a contaminação de alimentos, a área de alimentos é muito atrativa para a infestação de vetores mecânicos como insetos e roedores que podem contaminar diretamente os alimentos quando entram em contato com os mesmos, com seus apêndices contaminados com micro-organismos patogênicos ou parasitas ou por meio das suas fezes, urina, pêlo e saliva (SILVA Jr., 2007).

A contaminação por ar e o pó representam fatores importantes para contaminação do ambiente, pois através do ar são disseminados aerossóis e partículas como gotículas de saliva contaminada, e poeira contendo micro-organismos patogênicos em seu interior que ao entrarem em contato como os alimentos contamina-os (JAY, 2005).

3.OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a qualidade higiênico-sanitária de queijo coalho comercializado no município de Itaporanga-PB.

3.2 Específicos

- Quantificar os Micro-organismos Aeróbios Mesófilos, Bolores e Leveduras;
- Determinar a contagem de Coliformes Totais e Termotolerantes;
- Analisar a presença ou ausência de *Staphylococcus aureus*;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Aquisições das amostras

A matéria prima utilizada nesse trabalho constituiu de amostras de queijo coalho que foram coletadas em locais de comercialização no município de Itaporanga-PB, entre os meses de junho a julho de 2011. Das seis amostras coletadas, duas foram oriundas de queijos mantidos sob refrigeração e as demais do produto exposto em balcões na temperatura ambiente.

No momento da aquisição foi observado que apenas a amostra A e B eram mantidas sob refrigeração em torno de 7 °C, sendo as demais mantidas em temperatura ambiente e expostas em balcões de forma séptica, conforme se ver na Figura 2 (A e B) respectivamente.



Figura 2. A: Queijo mantido em temperatura de refrigeração. B: Queijo mantido em temperatura ambiente expostos em balcão.

Os queijos que constituíram as amostras foram embalados em sacos plásticos estéril, sendo em seguida lacrados, identificados e acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo onde foram transportadas para o Laboratório de Inspeção e Tecnologia de Leite e Derivados da Universidade Federal de Campina Grande.

Todas as análises microbiológicas das amostras foram baseadas no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods – APHA e no manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER, 1992; SILVA et al.;1997)

4.2 Preparação das amostras

Os procedimentos foram realizados no laboratório, onde foi utilizada uma faca inoxidável flambada para abrir uma fenda na amostra do queijo equivalente a 25g, correspondente a vários fragmentos do queijo. Em seguida realizou-se uma diluição inicial adicionando-se às 25g da amostra 225 mL de água peptonada a 0,1%. As amostras foram então submetidas a uma homogeneização por dispersão no Stomacher, em velocidade máxima, durante o tempo de 1 minuto à temperatura ambiente, obtendo-se a diluição inicial da amostra 10^{-1} . A partir da primeira diluição procederam-se as demais diluições decimais seriadas até 10^{-6} . Estas diluições foram empregadas em todas as análises microbiológicas, para a inoculação nos meios de cultura específicos.

4.3 Contagem de Micro-organismos Aeróbios Mesófilos, Bolores e Leveduras

O método utilizado para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas foi o plaqueamento em profundidade com meio Ágar Padrão para Contagem (PCA), previamente fundido e resfriado 45°C . Após inocular 1mL de cada diluição em placas de Petri em duplicata e vertido o PCA, estas foram homogeneizadas através de movimentos suaves circulares no sentido horário por dez vezes consecutivas, e depois incubadas, em posição invertida em estufa à temperatura de 37°C por 24 a 48 horas.

Para a contagem de bolores e leveduras utilizaram-se o método de plaqueamento em superfície (Figura 3). No meio Ágar Batata Dextrose Acidificado (PDA acidificado), inocularam-se em cada placa em duplicata, previamente preparadas, 0,1mL de cada diluição e com o auxílio de uma alça de Drigalski espalhou-se o inóculo por toda a superfície do meio. Sendo incubados a 25°C durante cinco dias.



Figura 3: Desenvolvimento de bolores e leveduras em meio PDA acidificado.

Para a leitura dos resultados, foram consideradas as placas com crescimento entre 25 a 250 unidades formadoras de colônias e de 10 a 150 unidades formadoras de colônias de micro-organismos mesófilos, bolores e leveduras, respectivamente. Os resultados foram expressos em Unidade Formadoras de Colônias por gramas (UFC/g).

4.4 Determinações de Coliformes Totais e Termotolerantes

Na determinação de coliformes foram realizados os testes presuntivo e confirmativo para coliformes totais (a 35°C) e coliformes termotolerantes ou a 45°C.

Para inoculação do teste presuntivo, selecionaram-se três diluições adequadas da amostra e transferiu-se 1,0 mL de cada diluição para uma série de três tubos contendo 9mL de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) e tubos de Durhan no seu interior. Incubou-se em estufa bacteriológica à 35°C, durante 48 horas e observou-se houve produção ou não de gás (Figura 4).



Figura 4: Diferença entre tubo positivo (turvação com produção de gás) e tubo negativo (sem turvação) em meio LST.

Dos tubos positivos de LST, com produção de gás no interior dos tubos de Durhan, foram transferidos, através de uma alça de platina, uma alçada de cada cultura para tubos contendo Caldo Verde Brilhante Bile (CVB) e tubos de Caldo EC com tubos de Durhan em seu interior, para a determinação de coliformes totais e termotolerantes, respectivamente. Os tubos de BV foram incubados em estufa bacteriológica a 35°C, durante 48 horas, enquanto que os tubos de EC foram incubados a 45°C, durante 24 horas para observar a produção ou não de gás.

Ao término das análises anotaram-se os tubos que foram positivos nas diluições decimais e a partir do resultado realizado foi feito o cálculo do Número Mais Provável por gramas (NMP/g), com base na tabela de Número Mais Provável.

4.5 Pesquisa de *Escherichia coli*

Para o teste sugestivo de *E.coli* utilizou-se um inóculo, com alça de platina, dos tubos de caldo EC que apresentavam turvação e bolhas de gás no interior do tubo de Durhan, positivos. Os inóculos foram então semeados para o meio do caldo triptona 1% e incubados a 35°C/24h. Em seguida foi adicionado 3 gotas do reagente de Kovacs e agitado levemente. Foram observados se houve desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura (teste positivo) ou se o anel permaneceu na cor amarela do reagente (teste negativo), como mostra a Figura 5.



Figura 5: Tubos semeados em meio de Triptona com o reagente de Kovacs para teste positivo (quando ocorreu o desenvolvimento do anel vermelho-violeta na superfície do meio) e negativo (quando o anel permaneceu na cor amarela do reagente).

4.6 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Para a pesquisa de *Staphylococcus aureus* foi utilizado o método de contagem direta em placas sempre em duplicatas de Ágar Baird-Parker (BPA), previamente preparadas. Aliquotas de 0,1 mL de cada diluição foram espalhadas na superfície do meio BP com auxílio de uma alça de Drigalski. As placas foram então encubadas a 35°C por 48 horas para posterior contagem das colônias típicas (Figura 5).

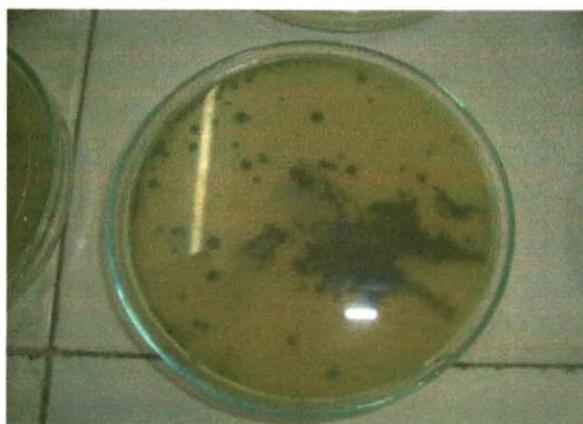


Figura 6: Placa com crescimento de bactéria em meio de BPA.

Foram consideradas sugestivas as amostras que condizeram com os resultados expressos em Unidades Formadoras de Colônias por gramas (UFC/g) e apresentaram colônias contendo o halo transparente em volta.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos através das análises microbiológicas do queijo coalho foram tabulados, e os resultados apresentados de acordo com cada aspecto estudado (Tabela 1).

Tabela1: Resultados das análise microbiológica das seis amostras de queijo coalho obtidas em estabelecimentos comerciais no município de Itaporanga – PB - 2011.

AMOSTRAS	A	B	C	D	E	F	Dentro padrões	Fora padrões	Limite Segundo RDC N°12
Mesófilos	2,7X10 ⁶	1x10 ⁶	6,7X10 ⁷	6x10 ⁵	3,5x10 ⁶	3,3x10 ⁵		6	-
Coliformes totais	1110	> 2400	> 2400	> 2400	> 2400	> 2400			-
Coliformes a 45°C	1110	9	7	>2400	43	210	4	2	5x10 ² NMP/g
Bolores e leveduras	Aus	8,1x10 ⁵	6,9x10 ⁶	5,7x10 ⁵	Aus	Aus			-
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,5x10 ⁵	1,2x10 ⁶	6x10 ⁶	4x10 ⁶	3,5x10 ⁶	3,1x10 ⁶		6	10 ³ UFC/g

UFC/g: unidade formadora de colônia por grama NMP/g: número mais provável por grama Aus: Ausente

5.1 Contagem de Mesófilos

Na tabela 1, observa-se que as amostras estudadas apresentaram resultados de contagem de micro-organismos mesófilos com variações de $3,3 \times 10^5$ a $6,7 \times 10^7$ (est) de UFC/g. O resultado mais elevado na contagem de mesófilos foi o da amostra C que apresentou $6,7 \times 10^7$ (est) UFC/g, e o valor mínimo observado foi $3,3 \times 10^5$ da amostra F. Com base nestes resultados, verificou-se que todos os queijos analisados apresentaram alta contaminação. Mesmo que não exista um parâmetro de legislação específica para mesófilos, os resultados apresentaram-se alarmantes devido a elevada carga microbiana.

Embora as amostras A e B fossem armazenadas sob refrigeração, em torno de 7°C, como mostra a Figura 2 A., o que torna o alimento menos suscetível a contaminação e ao maior tempo de vida útil, elas se mostraram contaminadas assim como as outras que eram expostas a temperatura ambiente. Provavelmente essa alta contaminação foi devido à abertura das portas dos freezers várias vezes ao dia, durante certo intervalo de tempo, além da falta do controle de temperatura, ou seja, com o desligar dos freezers ao fim do dia tornando a ligá-lo só no dia seguinte, comprometendo assim a qualidade do alimento.

Segundo Leite Júnior et al., (2000), níveis elevados de contaminação por mesófilos em alimentos podem indicar que os mesmos foram preparados com matéria-prima altamente

contaminada, que o processo de fabricação foi insatisfatório do ponto de vista sanitário ou que os alimentos foram estocados em condições inadequadas de tempo e temperatura.

5.2 Contagem de coliformes totais

As 6 amostras de queijo examinadas apresentaram contagem de coliformes totais variando 1110 a ≥ 2400 NMP/g (Tabela 1). Verificou-se a predominância de resultados no intervalo logarítmico de $\geq 2,4 \times 10^3$ NMP/g (83,33%). Embora o Ministério da Saúde não estabeleça padrão microbiológico para coliformes totais em queijo, contagens elevadas deste micro-organismo em alimentos indicam condições deficientes de higiene, situação verificada nesse estudo já que tiveram amostras que apresentaram contagem acima de $2,4 \times 10^3$, este fato pode estar relacionado com a deficiência de práticas higiênicas durante a fabricação, armazenamento e comercialização do produto.

Luna (2010) avaliando 10 amostras de queijo coalho obtido no comércio formal e informal de Recife verificou que a contagem de coliformes 35°C apresentou contagem de $>10^3$ est. a $9,2 \times 10^5$. Enquanto que Santana et al (2008) avaliando 60 amostras de queijo coalho coletadas aleatoriamente de 15 estabelecimentos que comercializam esse produto em Aracaju- SE apresentou resultados variando de 8×10^2 a $1,23 \times 10^4$. Os valores encontrados por esses autores não é compatível com a observação que foi verificado nesta pesquisa, uma vez que as contagens desse micro-organismo apresentaram valores inferiores a seus achados. Provavelmente o queijo comercializado no município de Itaporanga-PB apresentou uma menor deficiência quanto a fabricação e comercialização do produto.

Os valores encontrados assemelham-se aos apresentados por Silva et al (2010) que analisando 3 amostras de queijo coalho de três estabelecimentos procedente do sertão de Alagoas, verificou que todas as amostras apresentaram elevadas contagens de coliformes a 35°C. Os altos índices de contagem de coliformes a 35 °C encontrados no presente estudo, demonstram preocupação a nível de saúde pública, uma vez que esta contaminação pode ser oriunda de diversos fatores, como: matéria prima de baixa qualidade, durante a obtenção do queijo, transporte, armazenamento, processamento e comercialização.

5.3 Coliformes Termotolerantes ou a 45°C

Em relação aos coliformes termotolerantes, verificou-se que a quantificação em NMP/g, variou 7NMP/g (amostra C) a ≥ 2400 NMP/g (amostra D). Nas normas microbiológicas para alimentos, não existe padrões para a contagem de coliformes totais, no entanto através da resolução RDC nº 12, de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001), estabelece um limite máximo de 5×10^2 NMP/g de coliformes termotolerantes em queijos.

O percentual de amostras de queijo com limites acima do permitido para coliformes a 45°C foi superior aos achados de Sena et al. (1997), cujas contagens variaram de < 3 a 10^3 UFC/g, Herreno et al. (1998) que encontraram 23,8% das amostras em desacordo com os padrões microbiológicos legais, Florentino e Martins (1999) com valor médio de $2,6 \times 10^4$ NMP/g e também a Almeida Filho (1999) que obteve 35% das amostras em desacordo com os padrões microbiológicos regulamentares.

Os resultados foram compatíveis aos achados de Pereira (2006) que analisou a qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado em supermercados e feiras-livres da cidade São Luís e detectou que houve 30% de contaminação para coliformes a 45°C. O mesmo número observado neste trabalho, uma vez que, somente duas amostras A e D, apresentaram-se fora dos padrões estabelecido pela RDC nº12, de janeiro de 2001.

Esse índice elevado, acima de $\geq 2,4 \times 10^3$ de contaminação por coliformes termotolerantes, pode estar relacionado com a falta de adoção de medidas sanitárias adequadas durante o processo de obtenção dos queijos, como também indica a presença de material fecal com provável possibilidade destas amostras estarem contaminadas por bactérias patogênicas e condições sanitárias insatisfatórias durante o processamento dos queijos.

5.4 Contagem de bolores e leveduras

Nas análises de bolores e leveduras, verificou-se que as contagens variaram entre ausente a $8,1 \times 10^5$ UFC/g. Segundo Silva Jr. (2007) contagens elevadas de bolores e leveduras em alimentos são atribuídas, ao fato destes entrarem em contato excessivo com o ambiente, sofrerem manipulação sem a devida higiene e/ou armazenamento prolongado sobre refrigeração. Essa situação encontrada é preocupante, uma vez que concentrações elevadas podem produzir micotoxinas capazes de desencadear ações hepatotóxicas, nefrotóxicas e

neurotóxicas até a cancerígena, em virtudes destes fatos alguns países prescrevem um certo grau de tolerância de contaminação nos alimentos mais propícios a contaminação (CARVALHO,2001).

Feitosa et. al (2003) analisando 11 amostras indicativas de queijo coalho produzidos em 17 municípios das microrregiões do Estado do Rio Grande do Norte constatou que a contagem de bolores e leveduras variou de $1,9 \times 10^4$ a $4,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de queijo de coalho. Feitosa (1985) relatou contagens de bolores e leveduras em amostras de queijo de coalhoem valores que variaram de $8,6 \times 10^3$ a $3,2 \times 10^6$ UFC/g.

Os resultados encontrados neste trabalho podem ser atribuídos a forma de apresentação do queijo no momento da comercialização, ou seja, o local que estes estavam expostos para a venda. Observa-se que a maioria dos queijos adquiridos da feira são comercializados em balcões, sem nenhuma proteção, unindo ainda a práticas insatisfatórias de higiene por parte dos manipuladores, uma vez que os mesmos não faz uso de nenhum tipo de medidas de segurança como luvas, aventais, gorros,etc.

5.5 Pesquisa de *Staphylococcus aureus*

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram que houve crescimento em todas as amostras analisadas, com variação de $8,5 \times 10^5$ a 6×10^6 UFC/g.

A contaminação do queijo de coalho, produzido em vários estados do Nordeste por *S. aureus*, variou entre 10^3 a 10^6 UFC/g (NASSU *et al.*, 2000; PAIVA; CARDONHA, 1999). Valores compatíveis com os achados nessa pesquisa, onde todas as amostras apresentaram variação acima do limite estabelecido. Estes valores são preocupantes, pois se situam acima dos limites estabelecidos pelos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Saúde, cujo máximo permitido é 5×10^3 UFC/g (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001; BRASIL.M. AP.A., 1996). Concentrações superiores a 10^5 UFC/g podem propiciar a produção de enterotoxinas (FORSYTHE, 2002) e oferecer risco potencial à saúde do consumidor.

Feitosa et. al (2003) avaliando a ocorrência de *S. aureus* observou em 72,7% das amostras de queijo de coalho, contagens variando de $7,0 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^8$ UFC/g. Esses valores são considerados altos e acima do limite permitido pela legislação (5×10^3 UFC/g).A ocorrência desse patógeno também foi relatada em queijo de coalho produzido nos Estados de

Pernambuco por Mendes et al. (1997), na Paraíba por Florentino (1999) e Ceará por Feitosa (1985).

A vigilância epidemiológica da Paraíba (2008) reportou que entre 2004 e o primeiro semestre de 2008 foram notificados, 42 casos de surtos alimentares, envolvendo 481 doentes, a uma população exposta ao risco de 1266 pessoas. Verificou-se que 23,8% dos surtos estavam relacionados a queijos (aproximadamente 10 casos), adoecendo 59 pessoas (12,26%) e expondo ao risco 184 pessoas (14,53%). Dos 10 casos de surtos alimentares envolvendo queijo, 10% ocorreram na Capital e 90% no interior. Diante desses dados é notório que a comercialização do queijo coalho tem consumo maior no interior, devido a falta de fiscalização por órgãos responsáveis.

Níveis tão altos como os encontrados neste trabalho são alarmantes e não desejáveis, pois podem estar associados com a produção de enterotoxinas termoestáveis responsáveis por diversas intoxicações alimentares por *S.aureus*. A grande contaminação encontrada atribui-se à intensa manipulação dos queijos pelos comerciantes, e muitas das vezes pelos próprios consumidores, uma vez que este microrganismo está presente nas mãos, pele e fossas nasais do homem. Ressalta-se que a falta de hábitos higiênicos adequados pelos manipuladores e condições higiênico-sanitárias dos estabelecimentos é um fator de risco para esta contaminação.

6. CONCLUSÃO

Um percentual maior das amostras de queijo coalho apresentaram qualidades higiênico-sanitárias insatisfatórias;

Há necessidade de intensificar o sistema de vigilância sanitária, de forma a exigir dos fabricantes a produção de queijo coalho com melhor qualidade;

É indispensável disponibilizar a oferta de um produto que não represente risco à saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, L.R. **Tecnologia de leite e derivados**. Lavras: UFLA/FAEPE; 1999.

ABREU, R. L. **Processamento do Leite e Tecnologia de Produtos Lácteos**. Lavras:UFLA/FAEPE, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. (Brasil). Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília-DF, p.1-54, 2001.

ALMEIDA FILHO, E.S. **Características microbiológicas do queijo minas frescal produzido artesanalmente e comercializado no município de Poços de Caldas-MG**. Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, 1999, 62p. (Dissertação - Mestrado)

ALMEIDA E.S.F; SIGARINI C.O; FERREIRA M.B. Perfil microbiológico de queijo tipo Minas frescal de produção artesanal e inspecionada, comercializado no município de Cuiabá-MT. **Higiene Alimentar**, v.16, n.92, p.51-58, 2002.

AMARAL, L. A. *et al.* Qualidade da água em propriedades leiteiras como fator de risco à qualidade do leite e à saúde da glândula mamária. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 71, n. 4, p. 417-421, out./dez., 2004.

ANDRADE, N. J.; PINTO, C. L. O. **Higienização na Indústria de Alimentos e Segurança Alimentar**. In: BASTOS, M. S. R. Ferramentas da Ciência e Tecnologia para a Segurança dos Alimentos. 1ªed. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2008. 440 p.

BASTOS, M. S. R. *et al.* Inspeção em uma indústria produtora de queijo tipo coalho no estado do Ceará, visando à implantação das boas práticas de fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 57, p. 130-136, 2001.

BORGES, M. F. *et al.* Micro-organismos patogênicos e indicadores em queijo de coalho produzido no estado do Ceará, Brasil. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.21, n.1, p.31-40, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n.146, de 7 de março de 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília-DF, p. 3977-3978, 1996.

BRASIL, **Métodos de análise Microbiológica para Alimentos**. Secretaria da Defesa Agropecuária do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1999, 489 p.

BRASIL, 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**. Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1, p. 46-53.

BRASIL. Instrução Normativa nº51, 18 de setembro de 2002. **Diário Oficial da União**, Brasília-DF, Seção 1, p. 13, 2005.

BRITO, A.S; NOBRE, F.V; FONSECA, J.R. **Bovinocultura leiteira: Informações técnicas e de gestão**. Natal: Sebrae/RN, 2009. 320 p.

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.

CARVALHO E. P. DE. **Microbiologia de alimentos, saúde pública e legislação**. Lavras: UFLA/FAEPE; 2001.

CAVALCANTE, J. F. M. *et al.* Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 205-214, jan.-mar. 2007.

COSTA, E.O. **Programa Nacional de Melhoria a Qualidade do Leite (PNMQL)**, Revista Napgama São Paulo v.8, n.2, p.18-21, 2005.

CRISCIONE, D. A. A hora da verdade do queijo brasileiro. **Leite B**. SIPA/ MAA n. 115, 1996.

EMBRAPA Ranking da Produção de Leite por Estado, 2008/2010 Disponível em: <http://www.cnpqgl.embrapa.br/nova/informacoes/estatisticas/producao/tabela0240.p>. Acesso em: 02 de Novembro de 2011.

FEITOSA, T.; BORGES, M. F.; NASSU, R. T.; AZEVEDO, E. H. T.; MUNIZ, C. R. Pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. em micro-organismos indicadores de higiene de queijos de coalhos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.162-165, 2003.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Estratégias de controle de mastite e melhoria da qualidade do leite**. Barueri : Manole, 2007. 314p.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002, 424p.

FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 2. ed., London: Chapman & Hall, v. 1, 1993, 600p.

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

FRANCO, B.D.G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005, 195p.

FRANCO, R. M.; CAVALCANTI, R. M. S.; WOOD, P. C. B.; LORETTI, V. P.; GONÇALVES, P. M. R.; OLIVEIRA, L. A. T. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, v.14, n.68, p.70-77, 2000.

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

GILL, S. R. et al. Insights on Evolution of Virulence and Resistance from the Complete Genome Analysis of an Early Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strain and a Biofilm-Producing Methicillin-Resistant *Staphylococcus epidermidis* Strain. **Journal of Bacteriology**, Washington, v. 187,n.7, p. 2426-2438,2005.

GENTA, M.S; MAURÍCIO, A.A; MATIOLI, G. Avaliação das Boas Práticas através de check-list aplicado em restaurantes self-service da região central de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Science**, v.27, n.2, p.151-156, 2005.

GONDIM, S. S. R. **Obtenção e caracterização físico-química, microbiológica**. João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2002, 65p. Dissertação (Mestrado).

HERRENO, F, BIDÓIA, A.D; GUILHERMETTI, E; SILVA, S.C; PEDRA, M.K. **Qualidade microbiológica de queijo frescal e mussarela produzido na região de Maringá-PR**. In: Congresso latino-americano de microbiologia e alimentos. Águas de Lindóia-SP. p.94, 1998.

HOLT, J.G; KRIEG, N.R; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS. B. **Manual of determinative bacteriology**. 3ª ed, USA International Edition, 1994.

IBGE. **Produção de leite no período de 01.01 a 31.12, segundo as Grandes Regiões e as Unidades da Federação -2010**. Disponível

em:http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/tabelas_pdf/tab06.pdf>

Acesso em: 02 de Novembro de 2011.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. **Microbial Ecology of Foods**. Academic. New York/ London/ Toronto/ Sidney/ San Francisco, 1978.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. **APPCC na Qualidade e Segurança Microbiológica de Alimentos**. São Paulo: Varela 1997. 377p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**. 6ª ed. São Paulo: Artmed, 2005.

KONEMAN, F. W. *et al.* Cocos Gram-Positivos: Parte I: Estafilococos e Microrganismos Relacionados. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido**. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. 1465 p., p. 551-588.

LANGE, C. C.; BRITO, J. R. F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO, J. R. F.; PORTUGAL, J. A. (Ed.) **Diagnóstico da Qualidade do Leite, Impacto para a Indústria e a Questão dos Resíduos de Antibióticos**. Brasília, DF: Embrapa, 2003. p. 117-138.

LEITE Jr, A.F.S; FLORENTINO E.R.; OLIVEIRA, N.E.B.; AS, S.N.E.; TORRANO, A.D.M. Qualidade Microbiológica de queijo tipo coalho comercializado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, Campinas Grande – PB. **Revista Higiene Alimentar**, v. 14, n. 73, p. 53-59, 2000.

LUNA, et al. **Pesquisa de Coliformes em queijos de coalho e manteiga comercializados em Recife-PE**. In: X Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão-JEPEX (UFRPE), 2010.

MARQUES, A. V. M. de S. **Efeito da pasteurização do leite para a fabricação de queijo de coalho sobre a biota contaminante e constituinte químicos.** João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 2000. 98p. Dissertação (Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos)

MENDES, E.S; COELHO, M.I.S; LIMA, E.C. **Determinação de coliformes totais e fecais, contagens de Staphylococcus aureus e pesquisa de Salmonella sp. em queijo de "coalho" comercializado em Recife.** In: CONGRESSO NACIONAL DE HIGIENISTA DE ALIMENTOS, v.4, p.43, 1997.

NASSU, R. T. *et al.* Diagnóstico das condições de processamento e qualidade microbiológica de produtos regionais derivados do leite produzido no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, n. 315, p. 21-126, 2000.

NASSU, R.T; MOREIRA, C.G; ROCHA, R.G. de A; 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 Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, p. 121-126, 2003.

NOUT, M. J. R. Fermented foods and food safety. **Food Research International**, v.27, n. 7, p. 291-298, 1994.

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

PELCZAR, M; REID, R; CHAN, E.C.N. **Microbiologia**, vol. 1 e 2, Ed. McGraw-Hill, São Paulo (SP), 1981.

PEREIRA, L. S. **Qualidade Microbiologia e físico-químico do queijo coalho comercializado na cidade de São Luís- MA.** São Luís: Universidade Estadual do Maranhão. Monografia (Graduação), 2006.

PERESI, J. T. M; GRACIANO, A. S. ALMEIDA, I. A. Z. C; LIMA S. J; RIBEIRO, A. K; CARVALHO, I. S. LIMA. M. Queijo minas tipo frescal artesanal e industrial: qualidade microscopia, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos. **Higiene Alimentar**. v.15, n.63, p.63-10, 2001.

PERRY, K. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Quím. Nova**, v.27, n. 2, 2004.

QUINN, P. J.; MARKEY, B. K.; CARTER, M. E.; DONNELLY, W. J.; LEONARD, F. C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**, Porto Alegre Ed: Artmed, 2005 512p.

RAVEL, R. **Laboratório Clínico: Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 162-163.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005. 455p.

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

SANTOS, E.C; GENIGEORGIS, C. Survival and growth of *Staphylococcus aureus* in commercially manufactured Brazilian Minas cheese. **J. Food Prot**, v.44, p.84-177, 1981.

SCUSSEL, V. M. **Micotoxinas em alimentos**. Editora Insular: Florianópolis, 1998. 144p.

SECRETÁRIA DA SAÚDE DO ESTADO DA PARAÍBA. **Vigilância Epidemiológica**, 2008. Disponível <http://bvs.panalimentos.org/local/File/Guias_para_gerenciamento_riscos_sanitarios_em_alimentos.pdf> Acesso em: 02 de outubro 2011.

SENA, M.J; CERQUEIRA, M.N.P; CARMO, L.S; SILVA, M.C.C; DIAS, R.S. **Caracterização da microbiota patogênica de queijos tipo "coalho" comercializados em Recife-PE**. In: CONGRESSO NACIONAL DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, Olinda-PE. v.4, p.39-40, 1997.

SENA, M. J. **Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolados de queijos coalho comercializados em Recife-PE**. Belo Horizonte: Escola Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, 2000. 75p. Tese (Doutorado).

SILVA, N; JUNGUEIRA, V. C. A; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 1ª ed., São Paulo: Varela, 1997.

SILVA Jr, E. A. da. **Manual de controle higiênico-sanitário em serviços de alimentação**. 6ª ed, São Paulo: Varela, 2007.

SILVA, et al. Influência dos procedimentos de fabricação nas características físico-químicas, sensoriais e microbiológicas de queijo de coalho. **Rev Inst Adolfo Lutz**. Sao Paulo, v.69, n.2, p.214-21, 2010.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, SPI; Rio de Janeiro: EMBRAPA, CTAA, 1995. 159p.

SOUSA, J. S. **Produção e avaliação do poder de coagulação do coalho líquido artesanal**. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semi Árido, 2006. 36p. Monografia (Graduação).

SUAREZ, B; FERREIROS, C. M. Psychrotrophic flora of raw milk: resistance to several common disinfectants. **Journal of Dairy Research**, London, v. 58, n. 1, p. 127-136, 1991.

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

VEISSEYRE, R. **Lactologia técnica: composición recogida, tratamiento y transformacio de la leche**. Zaragoza: Acribia, p. 1-10, 1998.

XAVIER, L. S. **Identificação de leveduras em queijos de coalho comercializados na cidade de João Pessoa – PB.** João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 2003. 47p. Dissertação (Mestrado).

ZECCONI, A.; HAHN, G. *Staphylococcus aureus* in raw milk and human health risk. **Bulletin of the International Dairy Federation**, Bruxelas, v. 345, p.15-18, 2000.

ZEGARRA, J.J.Q. et al. Pesquisa de micro-organismos em utensílios, leite e queijos de produção artesanal em unidades de produção familiar no município de Seropédica, Rio de Janeiro. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 312 – 321, 2009.

WHITE, D. G. ; ZHAO, S.; SIMJEE, S.; WAGNER, D. D.; McDERMOTT, P. F. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. **Microbes and Infections**, v.4, n.4, p.405-412, 2002.