

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DO QUEIJO DE COALHO
COMERCIALIZADO NO MUNICÍPIO DE PATOS, PB.**

Conteúdo da identificação: Dissertação apresentada à Universidade Federal de Campina Grande, como uma das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Área de concentração Sistemas Agrosilvipastorismo Semi-árido, para obtenção do título de Mestre.

Dilermando Simões Dantas

Orientador: Prof. Dr. Onaldo Guedes Rodrigues

**PATOS - PB
2012**

FICHA CATALOGADA NA BIBLIOTECA SETORIAL DA UFCG
CSTR - CAMPUS DE PATOS - PB

D192a
2012

Dantas, Dilermando Simões

Qualidade Microbiológica do queijo de coalho
comercializado no Município de Patos, PB / Dilermando Simões
Dantas. - Patos: CSTR/PPGZ, 2012.

79 p.: Il.

Inclui bibliografia.

Orientador: Onaldo Guedes Rodrigues

Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal
de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

1 – Microbiologia de alimentos (Queijo). 2 – Queijo de
coalho- microbiologia. I – Título.

CDU:579.67:637.3



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

PROVA DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “Qualidade Microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos – PB.”


AUTOR: DILERMANDO SIMÕES DANTAS

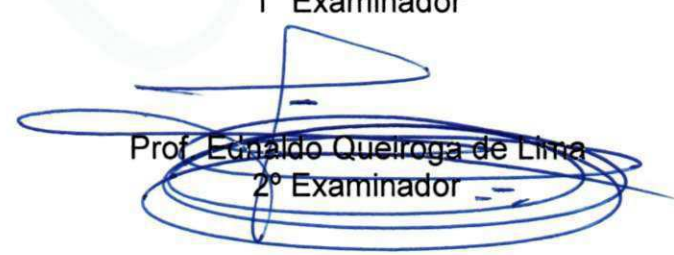
ORIENTADOR: Prof. Dr. ONALDO GUEDES RODRIGUES

JULGAMENTO


CONCEITO: APROVADO


Prof. Onaldo Guedes Rodrigues
Presidente


Prof. Maria do Socorro Vieira Pereira
1º Examinador


Prof. Ednaldo Queiroga de Lima
2º Examinador

Patos - PB, 29 de fevereiro de 2012


Prof. Aderbal Marcos de Azevêdo Silva
Coordenador

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde, força e aberto as portas necessárias a mais essa etapa de minha vida.

A minha esposa, por me incentivar, apoiar e ser a mão forte com quem sempre posso contar.

Aos meus filhos, que souberam entender a minha ausência.

A minha mãe que a todo dia tem orado por mim.

Ao meu orientador professor Onaldo Guedes Rodrigues, por sempre ter-se colocado a disposição.

A Vigilância Sanitária Municipal de Patos, pelo apoio logístico e funcional.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE QUADROS	ii
LISTA DE ANEXOS	iii
LISTA DE APENDICES	iv
LISTA DE SIGLAS	v
CAPÍTULO 1 Avaliação microbiológica do queijo de coalho comercializado no Brasil: Revisão de literatura	
RESUMO	
ABSTRAT	
1 INTRODUÇÃO	
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1 Histórico do queijo	17
2.2 O queijo de coalho	17
2.3 Processo de fabricação do queijo de coalho	19
2.4 Impacto na saúde pública	21
2.5 Impacto sócio econômico	24
2.6 Qualidade da matéria prima	25
2.7 Características microbiológicas do queijo de coalho	26
2.7.1 Microrganismos indicadores de contaminação	32
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	33
CAPÍTULO 2 Análises microbiológicas do queijo de coalho para pesquisa de coliformes totais, coliforme termotolerantes, <i>Echerichia coli</i> e <i>Salmonella sp.</i>	35
RESUMO	
ABSTRAT	
1 INTRODUÇÃO	
2. MATERIAL E MÉTODOS	
2.1 Tipo de estudo	41
2.2 Local da pesquisa	43
2.3 População e amostra	43
2.4 Coleta de dados	43
2.5 Análises microbiológicas	46
2.6 Análise de dados	46

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4 CONCLUSÕES	57
5 REFERÊNCIAS	58
APÊNDICE A - Ficha de cadastro da amostra	69
APENDICE B - Esquema demonstrativo do procedimento utilizado para pesquisa de coliformes, coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i>	71 74
APENDICE C - Esquema demonstrativo do procedimento utilizado para pesquisa de <i>Salmonella sp.</i>	75
APENDICE D - Protocolo para obtenção de queijo com qualidade microbiológica	76
APENDICE E - Diferentes meios de enriquecer seletivo para <i>Salmonella sp</i>	77
ANEXO A	78
ANEXO B	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Produtos artesanais sendo comercializados em tarimbas (boxer) do mercado público da cidade de Patos-PB. Registro feito em novembro de 2010	43
Figura 2	Queijos de colho fora de refrigeração, embalados em sacola plástica comum sem fechamento adequado sendo exposto a contaminantes ambientais e a manipulação por parte do comerciante e consumidor	44
Figura 3	Amostras de queijo em sacos estéreis identificados prontas para transporte até o laboratório em caixa isotérmica	46
Figura 4	Amostra pesada (25g) fragmentada manualmente no interior de frascos estéreis e fechados, proto para ser homogeneizados em AP	48
Figura 5	Amostra de queijo fragmentada manualmente e homogeneizada por agitação circular em frasco balão Erlenmeyer com 225 ml de Água peptonada	49
Figura 6	Amostras homogeneizadas em AP prontas para ser transferidas para tubos de ensaio com contendo Caldo Lauril e tubo Durhan invertido no seu interior	50
Figura 7	Incubação a $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas em caldo Lauril inoculado com amostra para detecção de coliformes totais	51
Figura 8	Incubação de meios não inoculados em estufa para certificação de qualidade do meio de cultura	52
Figura 9	Utilização de CVB e CEC em tubos de ensaio com tubos Durhan invertido como método confirmatório para coliformes totais	53
Figura 10	Meio de enriquecimento seletivo (CRV e CSC) para pesquisa de <i>Salmonella sp.</i> utilizado para prevenir o crescimento da flora acompanhante	54
Figura 11	Semeadura em placa de meio de enriquecimento seletivo para propiciar a diferenciação bacteriana a partir da formação e características das colônias	55
Figura 12	Fermentação do meio com produção de gás em CL evidenciado pela formação de bolha no interior do tubo Durhan	62
Figura 13	Produção de gás em CVB confirmando a ação de bactéria Gram negativa, uma vez que os sais biliares inibem o crescimento de bactéria G. positiva	63
Figura 14	Produção de gás em CEC quando incubado a 44°C significando a presença de bactéria termotolerantes, compatível com coliformes fecais	64
		65

Figura 15	Colônias típicas de <i>E. coli</i> , apresentando coloração verde metálico em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	66
Figura 16	Colônias de <i>Salmonella sp.</i> em meio HE – enriquecido em CTT, apresentando pontos amarelados sugestivo de contaminação por <i>Proteus</i> ou <i>Klebsiella</i>	67
Figura 17	Colônias de <i>E. coli</i> em meio HE - enriquecido em CTT, com destaque para mudança da cor do meio de verde para vermelho	76
Figura 18	Colônias de <i>Salmonella sp.</i> em HE– enriquecido com CSC	76
Figura 19	Colônias de <i>Salmonella sp.</i> em meio HE – enriquecido em CRV	77
Figura 20	Colônias de <i>Salmonella sp.</i> em meio XLD – enriquecido CSC	77
Figura 21	– Colônias de <i>Salmonella sp.</i> em meio XLD – enriquecido em CRV	

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Contagem bacteriana total	30
Quadro 2	Caracterização da amostra	57
Quadro 3	Contagens de coliformes totais e fecais (NMP/g)	59

LISTA DE APENDICES

APÊNDICE A	Ficha de cadastro da amostra.	72
APENDICE B	Esquema demonstrativo do procedimento utilizado para pesquisa de coliformes, coliformes termotolerantes e <i>E. coli</i> .	73
APENDICE C	Esquema demonstrativo do procedimento utilizado para pesquisa de <i>Salmonella sp.</i>	74
APENDICE D	Protocolo para obtenção de queijo com qualidade microbiológica.	75
APENDICE E	Diferentes meios de enriquecer seletivo para <i>Salmonella sp.</i>	75

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A	Tabela do Número Mais Provável por 100mL, para séries de 3 tubos com inóculos de 10 ml, 1,0 ml e 0,1 ml, e respectivos intervalos de confiança 95%.	78
ANEXO B	Padrão Microbiológico para Queijo de Coalho	79

LISTA DE SIGLAS

AP	Água Peptonada
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPM	Boas Práticas de Manipulação
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CEC	Caldo E. coli
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CVB	Caldo Verde Brillhante
CSC	Caldo Selenito Cistina
CRV	Caldo Rappaport Vassiliadis
CTT	Caldo Tetrionato
DTA	Doenças de Origem Alimentar
EMB	Eosina Azul de Metileno
HE	Hektoen
IN	Instrução Normativa
LD	Lauril Duplo
LS	Lauril Simples
MS	Ministério da Saúde
NMP/g	Número Mais Provável por grama
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAA	Programa de Aquisição de Alimentos
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
SIE	Sistema de Inspeção Estadual
SIF	Sistema de Inspeção Estadual
SIM	Sistema de Inspeção Municipal
SUASA	Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária
VISA	Vigilância Sanitária
XLD	Xilose-Lisina-Desoxicolato

CAPÍTULO 1

DANTAS, Dilermando Simões. **Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no Brasil: Revisão de literatura.** UFCG, 2012. 79p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia - Sistemas Agrossilvipastoris no Semiárido).

RESUMO

O queijo de coalho é um alimento de grande consumo entre os nordestinos, caracterizado como um produto de relevante importância socioeconômica e cultural. A sua produção é feita na grande maioria artesanalmente, tendo como matéria prima o leite cru, o que torna esta prática um meio propício a contaminação do produto. A ausência das Boas Práticas de Fabricação, atrelado ao transporte, acondicionamento e forma de exposição para comercialização inadequada, leva o consumidor a ficar expostos ao risco de adquirir doenças transmitidas por alimentos. Por sua importância socioeconômica para o produtor do semiárido, o trabalho objetivou avaliar as condições higiênicas sanitário do queijo de coalho comercializado no Brasil por meio de aspectos microbiológicos, através da determinação no número mais provável de coliformes totais e fecais a 35 e 45°C, pesquisa de *Echerichia coli* e *Salmonellas sp.* A partir da leitura de diversos trabalhos entre pesquisadores nas mais diferentes regiões do país, cujo objetivo era analisar os queijos de “coalho” e “queijo minas”, produtos que possuem características semelhantes, e o confronto entre seus resultados, onde todos apontavam para a contaminação dos queijos acima de 500 NMP/g de coliformes termotolerantes, pode-se perceber a carência de estudos no Estado da Paraíba, e a inexistência do mesmo no sertão paraibano, e isso constituiu-se ponto norteador para a realização de estudo que busque a realização de análises para caracterizar a qualidade microbiológica do queijo de coalho no município de Patos-PB, que por sua posição geográfica, torna-se pólo comercial propiciando grande circulação desse produto, tanto para venda como para consumo.

Palavras-chave: Queijo de coalho. Boas Práticas de Fabricação. Coliforme termotolerante.

CHAPTER 1

Dantas, Dilermando Simões. Microbiological quality of curd cheese commercialized in Brazil: literature review. UFCG, 2012. 79p. (Dissertation - Master's degree in Animal Science - Agrosilvopastoral Systems in the semiarid).

ABSTRACT

The curdled cheese is a widely consumed food from the northeast, characterized as a product of socioeconomic and cultural importance. Its production is mostly handmade, using raw milk as the raw material, which makes this a practical environment conducive to contamination of products. Absence of the Good Manufacturing Practices, linked to transportation, packaging and inadequate forms of exposure, lead the consumer to be exposed to the risk of acquiring Foodborne Diseases. For its socioeconomic importance for the producer from the semi-arid, the study aimed to evaluate the hygienic conditions of curdled cheese commercialized in Brazil through microbiological aspects, by determining the most probable number of total and fecal coliforms at 35 and 45 ° C, for *Echerichia coli* and *Salmonella sp.* Taking as a starting point the reading of several works among researchers in different regions of the country, whose goal was to analyze the curdled cheese and Minas type cheese, products which have similar characteristics, and the confrontation between their results, which all pointed to a level of contamination of cheese above 500 MPN / g of thermotolerant coliforms, which indicates the lack of studies in the State of Paraíba, as well as in the backlands of Paraíba, and this fact constitutes a guiding line for the study which aims to characterize the Microbiological quality of curdled cheese in the municipality of Patos - PB, which due to its geographical localization, it became a commercial hub providing large movement of the product, whether for sale or for consumption.

Keywords: Curdled cheese. Good Manufacturing Practices. Thermotolerant coliform.

1 INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um dos produtos mais típicos da região Nordeste, que faz parte das refeições diárias, seja como complemento alimentar ou como iguaria, apresentando um relevante valor socioeconômico e cultural, cujas bases encontram-se enraizadas na história do pecuarista do semiárido, através da transmissão cultural que ocorre de pais para filhos, e este último mantendo a tradição, faz sua produção de forma artesanal, tendo como base os conhecimentos práticos construídos através de gerações.

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

As características da matéria prima utilizada para a produção do queijo de coalho, associadas ao método de produção, na maioria das vezes sem levar em conta as boas práticas de fabricação (BPF), o tornam um alimento favorável ao crescimento de microorganismos patogênicos, e por isso quando consumidos expõe o indivíduo às doenças transmitidas por alimentos (DTAs), constituídas como sério problema de saúde pública, porém esta realidade pode ser transformada se o conhecimento tecnológico for disseminado entre os produtores.

A comercialização deste produto é efetuada em Supermercados e feiras livres, e, normalmente, chega aos pontos de vendas por produtores ou atravessadores sem uma inspeção e controle de qualidade prévia, daí a necessidade da atuação da Vigilância Sanitária (VISA), haja vista que os órgãos regulamentadores, Secretarias de Agricultura e Ministério da Agricultura, não estarem chegando até eles, e desta forma os consumidores acabem acessando um alimento de baixa qualidade higiênico-sanitária.

A magnitude dessa situação requer a intervenção direta de profissionais, tanto do setor produtivo como da área de saúde, que através das suas intervenções podem minimizar o impacto negativo deste agravo nas áreas da saúde pública e econômica, e como na região do semiárido Nordestino ainda não estão definidas as características microbiológicas e os principais pontos de contaminação na cadeia produtiva do queijo, se faz necessário um estudo que propicie este conhecimento o que despertou, no Médico Veterinário e no Inspetor Sanitário, o interesse em conhecer o aspecto microbiológico dos produtos desta região, de forma que fosse possível documentá-lo e divulgá-lo no meio profissional, acadêmico e

científico, e assim subsidiar a tomada de medidas corretivas por parte das autoridades sanitárias e dos produtores.

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

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

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Histórico do queijo

A organização da sociedade, processo contínuo e dinâmico, constitui-se um fator determinante na valorização do consumo do queijo, fazendo com que este produto saia dos espaços familiares, e apareça em outros espaços sociais como: bares, restaurantes, comércio ambulante, entre outros, pois ele deixa de ser apenas um meio de consumo alimentar, para satisfazer as necessidades fisiológicas, e passa a ser fonte de renda, para quem o comercializa, e diversão e prazer para quem o consome.

O queijo, como derivado tradicional do leite, devido as suas propriedades organolépticas e nutritivas, tem grande aceitação no mercado, apresentando-se para consumo com diversas variedades quanto ao tipo, sabor, cor, forma e aroma, a fim de satisfazer aos vários paladares dos seus consumidores (NOGUEIRA, 2006).

Esta grande aceitação e popularidade não foram adquiridas recentemente, pois a história da sua origem se perde no tempo, sendo um dos mais antigos alimentos preparados que se tem registro, tendo como seu exemplar pioneiro o queijo de coalho.

Na literatura, são encontradas variadas versões para explicar sua origem, que vão desde uma versão mitológica, que cita a descoberta do queijo por Aristeu, um dos filhos de Apolo e Rei de Arcádia, até as formas mais sofisticadas de fabricação encontradas nos tempos atuais. Não se sabe com precisão a data de sua origem, mas acredita-se que tenha surgido por volta de 11.000 a.C. Consta que os egípcios foram um dos primeiros povos que criaram gado para o uso do leite e do queijo em sua alimentação, além do leite de ovelha (SEBRAE, 2008).

Os Hebreus, no Antigo Testamento, louvavam com frequência o queijo como um dos alimentos mais nutritivos. Relatos Bíblicos referenciam o queijo em diversas passagens, como consta no Velho Testamento, em Gênesis 18:8; quando na visita do Senhor a Abraão ele lhe oferece coalhada e ainda em 1Samuel 17:18, quando Davi leva ao comandante, na batalha contra Golias, dez queijos (BIBLIA SAGRADA, 2005), ou seja, antes mesmo do nascimento de Cristo, o queijo já fazia parte da dieta dos povos antigos, constituindo um alimento de grande valor protéico, e de importância de status, pois eram ofertados como alimento principal aos visitantes ilustres e àqueles que mantinha posição de destaque.

Na tumba egípcia de Tutankamón (1500 a.C.), foi encontrado vestígio de queijo. Com uma origem tão incerta, porém tão antiga, acredita-se que a elaboração dos queijos

começou aproximadamente 8.000 a.C (BEUX, 2011), estes relatos remete-nos a idade aproximada da domesticação dos primeiros mamíferos, representado na vaca, que além de ajudar na aragem dos campos e fornecer carne, bem como passou a ter seu leite a ser utilizado para alimentar os homens.

Sem meios para conservá-lo, o leite percia facilmente e transformava-se em coalho, o que levou os homens a adotar métodos para sua conservação. Acidentalmente, haja vista não haver intencionalidade, um viajante, ao tentar sorver o leite do seu cantil fabricado com couro do estômago de carneiro parcialmente seco, o descobriu coagulado, desprovido de soro, resultante da reação química entre o leite e o couro, e isso serviu como para o desenvolvimento de técnicas, adotadas até os dias de hoje, que propicia meio pelo qual os elementos nutritivos do leite podem ser preservados e transformados em alimento sólido (ALBUQUERQUE, 2009).

À medida que o tempo foi passando, novas formas de conservar e produzir queijo foram surgindo, conforme as demandas sociais iam crescendo e com ela a necessidade de atender aos paladares mais diversos e exigentes, o que resulta hoje, espalhado no mercado mundial, a existência de milhares de tipos de queijos.

Nogueira (2006) corrobora afirmando que no decorrer dos tempos o processo de fabricação de queijo adquiriu novas performances, inclusive com a criação de fórmulas especiais de fabricação, algumas mantidas em segredo, que em tempos mais remotos, algumas eram escondidas em mosteiros, a fim de preservar sua identidade.

O consumo de queijo foi introduzido no Brasil com a chegada dos portugueses, que já o consumiam em grande escala, tendo uma variedade produzida com leite de cabra, que era muito apreciado por eles. Em São Paulo é introduzido com o advento da cafeicultura, que atraiu milhares de imigrantes, trazendo com eles o hábito do consumo de queijos, nas suas mais diversas formas: como refeição, como acompanhamento e até condimento (CASCUDO, 2004).

Apesar de chegarmos ao século 21 com o Brasil sendo o sétimo maior produtor de queijo do mundo, contando com cerca de mil fábricas, sendo as maiores: Catupiry, Tirol, Italac, Brasil Foods, Tirolez, Scala, Cruzeiro do Oeste, Nova Mix, Frimesa, Dan Vigor, Barbosa & Marques e Polenghi, que respondem por 23% da produção nacional de dois milhões de toneladas por ano, o ponto fraco do setor é o baixo consumo de queijos pelos brasileiros, de apenas 3,5 quilos por pessoa, contra 15 quilos nos Estados Unidos e 12 quilos na Argentina (DIAS, 2010).

Este baixo consumo recebe explicação diretamente na força econômica, pois como o queijo é um derivado do leite, com custo alto, ainda não chega livremente à mesa dos brasileiros, e por não ser considerado um produto de primeira necessidade, mesmo que ele seja acrescentado ao cardápio, nos momentos de crise ou dificuldade financeira, ele é uma das categorias a ser cortada da lista de compras (SEBRAE, 2008).

2.2 Queijo de coalho

O leite é matéria prima por excelência para a fabricação de produtos lácteos, e dentre estes produtos, o queijo desponta como sendo o mais reconhecido e valorizado agente nutritivo, sendo capaz, pela sua diversidade, de promover a união entre os povos, uma vez que, em cada tipo produzido há uma pouca de cultura de cada um no seu processo. Da mesma forma ocorre com o queijo de coalho, cuja produção, artesanal ou não, trás enraizado no seu processo, uma herança cultural, passada de geração em geração.

A produção do leite no Brasil data do período Colonial, e seu marco está centrado com a instituição da bovinocultura, um reforço para o trabalho da produção canavieira, que fortalecia os engenhos, além do caráter nutricional.

Neste período, o gado, da região nordeste, era criado nas proximidades dos engenhos de cana de açúcar para movimentar as moendas dos engenhos, realizar o transporte da cana de açúcar, além de servir ao fornecimento de carne e leite para os moradores do engenho. Por volta dos 150 anos da colonização é que surgiu a fabricação do queijo de coalho, de forma artesanal e que, ainda hoje, se mantêm o padrão artesanal, com sua fabricação ocorrendo na maioria das vezes em pequenas propriedades rurais ou em pequenas queijarias urbanas ou rurais. Seu sabor e consistência peculiar o colocam hoje entre os principais tipos de queijos artesanais os quais representam 40% do volume total de queijos produzido no Brasil sendo comprovadamente incorporados à cultura regional, mas que vem ganhando espaço em outras regiões do país, (SEBRAE, 2008).

O queijo de coalho é considerado um produto artesanal, uma vez que, *segundo o Dicionário Larousse da Língua Portuguesa, artesanal é aquilo que “é elaborado segundo os métodos tradicionais, individuais”, e também “o que é feito através de meios rudimentares, às vezes sem qualquer método; que apresenta feitura grosseira”.*

Por outro lado, produto artesanal, é aquele que mantenham características tradicionais, culturais ou regionais, produzidos em pequena escala, obedecendo parâmetros fixados em regulamentos; cuja produção segue os forma rudimentar, mas na prática ficam à

margem da legislação vigente, sem controles de qualidade, sendo comercializada, na maioria das vezes, de maneira informal, esta última inclui a maior parte dos produtores de queijos artesanais.

Perry (2004), afirma que a classificação dos queijos baseia-se em função das características decorrentes do tipo de leite utilizado, do tipo de coagulação utilizado no processo de produção, do teor de umidade mantido no produto, da consistência da pasta, do teor de gordura final, do tipo de casca, do tempo de cura, dentre outros.

Por estas características, e fabricados a partir de diferentes tipos de leites e sob diferentes processos de produção, ele desponta como um alimento rico em proteína de alto valor biológico, além de conter alto teor de cálcio, fósforo, zinco, iodo, selênio, vitaminas e oligoelementos, sendo encontrado em todo o mundo mais de 1.000 tipos, com variadas formas e sabores (LÁCTEA BRASIL, 2006).

Entre tantas diversidades de queijo encontra-se o de coalho, que por suas características apresenta grande aceitação comercial, e por consequência, amplamente consumido pela população nordestina. Este quadro tem garantido que a sua produção represente um meio de subsistência para diversas famílias, de forma direta ou indireta, assumindo grande impacto econômico.

A origem do seu nome decorre do processo de coagulação, observado pela primeira vez, conforme aponta a história, decorrente da ação de enzimas coagulantes existentes no estômago de animais herbívoros (ANDRADE, 2006).

De acordo com Brasil (2001a) este queijo detém as seguintes características: consistência semidura e elástica, com textura compacta e macia, podendo apresentar algumas olhaduras, possui coloração branca amarelada uniforme, sabor brando, ligeiramente ácido, lembrando massa de queijo coagulado. Possui ainda de médio a alto teor de umidade, variando de semigordo a gordo, conforme o percentual de gordura. Sendo obtido pela coagulação de leite por meio de coalho ou enzimas apropriadas, complementadas ou não pela ação de bactérias lácticas selecionadas, devendo ser comercializado com até 10 dias de fabricação, respeitando a regulamentação própria para sua identidade e requisitos mínimos de qualidade, que são instituídos por meio da Instrução Normativa (IN) Nº 30 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.

Entretanto, mesmo com a existência de uma regulamentação, segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Queijo (ABIQ), a produção de queijo sob inspeção no ano de 2006 representou aproximadamente 60% do total, e com isso pode-se estimar que a produção informal tenha sido da ordem de 380 mil toneladas naquele ano (SEBRAE, 2008).

Se levarmos em conta que o cenário nordestino não corresponde a realidade nacional, no que se refere a produção do queijo de coalho, onde a fabricação predominante é artesanal, esta estimativa pode estar além dos 40%, uma vez que não consta em estatísticas oficiais, e por isso torna-se difícil imaginar a dimensão dessa atividade produtiva no campo econômico, social, cultural e de saúde pública.

2.3 Processo de fabricação do queijo de coalho

O queijo, é um alimento rico do ponto de vista nutricional como fonte de proteínas, aminoácidos essenciais, vitaminas, cálcio, zinco, potássio ferro, fósforo, presença de Acido Linoléico e de outros ácidos graxos, preparado a partir do processo de coagulação do leite e remoção parcial do soro após a ação de bactérias lácticas (*Streptococcus leuconostoc*, *Lactobacillus sp.*), cujas mudanças nas condições de elaboração são os fatores determinantes nos diferentes tipos existentes em todo o mundo (OPAS, 2009).

Por esta composição constitui-se um alimento apropriado para todas as idades, pois normalmente contêm todos os aminoácidos necessários, além de quantidades apreciáveis de sais minerais, tendo como mais importantes o cálcio e o fósforo, que atua principalmente na formação dos dentes e ossos, além do ferro, que combate a anemia, e todas as vitaminas essenciais, exceto a C que é destruída durante o processo de fabricação (SCOTT, 1991 apud ANDRADE, 2006).

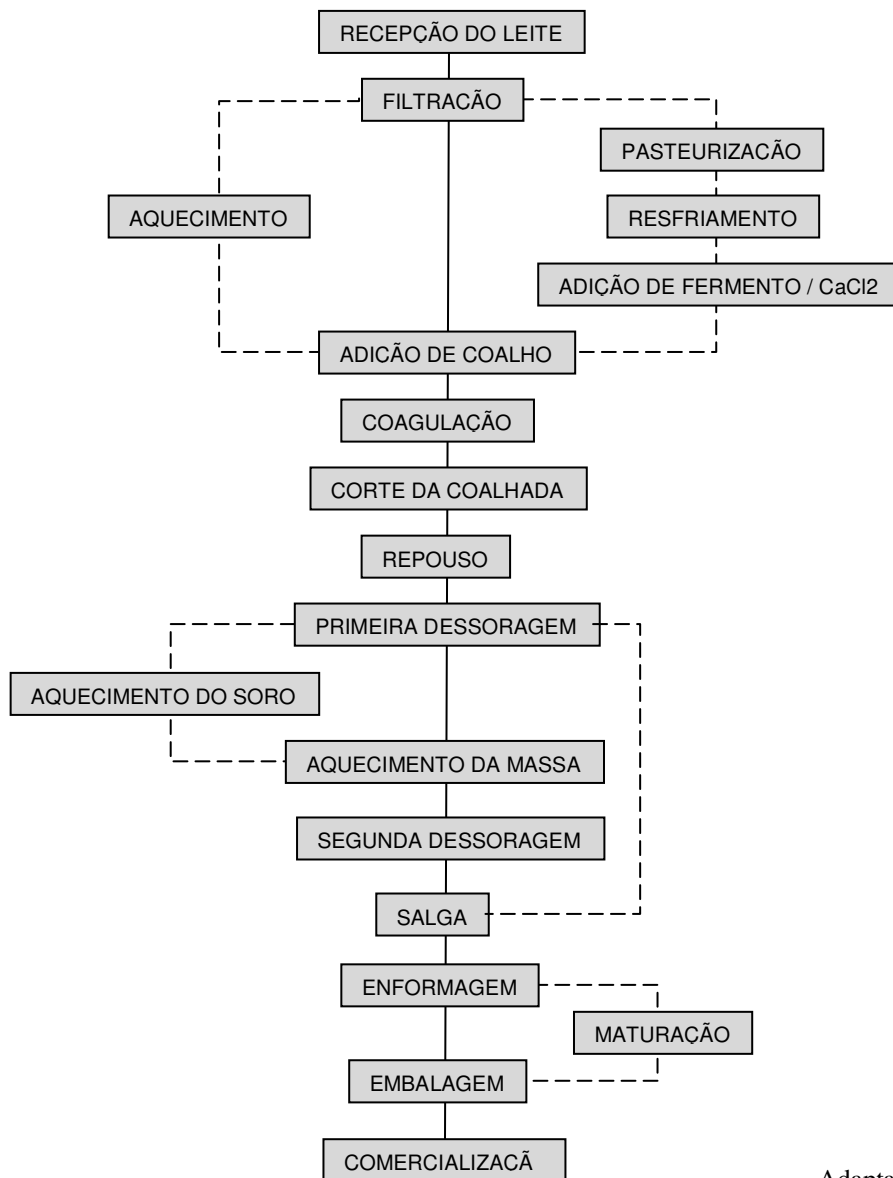
Sendo derivado do leite, encontra neste sua matéria prima, que muitas das vezes não recebe o tratamento adequado, seja na ordenha, acondicionamento ou transporte, favorecendo assim a sua contaminação, e interferindo na qualidade sanitário-higiênicas do seu produto.

Apesar das exigências legais estabelecidas, o queijo de coalho é produzido na grande maioria a partir de leite de vaca cru e por não necessitar de equipamentos caros, é processado de formas variadas obtendo-se diferentes tipos de queijo coalho, como resultado das mudanças particulares que cada fabricante faz nas etapas do processo de fabricação e do tratamento a que submetem o leite.

Para Bruno e Carvalho (2009) três etapas influenciam diretamente na definição das características deste queijo: a utilização do leite cru, o cozimento da massa, cuja temperatura de cozimento varia muito de produtor para produtor, e a salga diretamente na massa.

Como regra geral, para produção do queijo de coalho, usa-se o fluxograma a seguir:

Regra geral para o processo de fabricação do queijo de coalho



Adaptação: NASSU, 2001.

Para se produzir 1 kg de queijo, os produtores usam entre 8 e 12 litros de leite, apresentando uma média 10 litros. A recepção do leite, geralmente, é realizada no próprio local de produção, a filtração do leite é feita em pano de algodão ou em peneira de malha fina de material plástico, na maioria em unidades artesanais. Para tanto o processo do cozimento da massa se dá através da incorporação de parte do soro, que fora previamente retirado e aquecido a uma temperatura entre 85° e 100°, ou caso não tenha ocorrido esta separação

prévia, com água quente ou vapor, diretamente sobre o coalho, até se obter uma massa pré-cozida, submetida até 45°C, ou cozida entre 45° e 60°C. E a salga ocorre com a adição de cloreto de sódio, para evitar o estofamento da massa, que é provocado pela presença de coliformes, uma das principais contaminações encontradas neste queijo (QUEIROZ, 2008).

Para esse processo o grande desafio é a segurança alimentar, pois 85% desta produção ocorrem a partir do leite cru, que não atendeu no seu processo de ordenha, as normas higiênicas sanitárias das Boas Práticas de Manipulação (BPM), apesar do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho (IN nº 30/2001 MAPA), estabelecer que o leite a ser utilizado no processo de fabricação do Queijo de Coalho deve ser submetido à pasteurização.

E, outro ponto relevante, é que esta fabricação se dá, na maioria dos casos, por pequenos produtores que o fazem de maneira informal e que não se encontram regulamentados por nenhum órgão de fiscalização, ficando por sem receber nenhuma inspeção sanitária. Estes produtores nem sempre tomam as devidas precauções para evitar a contaminação do produto, onde a falta de critérios na obtenção da matéria-prima e das técnicas de processamento, fazem com que acabem levando ao mercado um produto de baixa qualidade, tanto do ponto de vista higiênico-sanitário como da padronização do produto, colocando em risco a saúde do consumidor.

Na prática da fabricação do Queijo de Coalho, a pasteurização é praticamente inexistente nas pequenas unidades produtoras, ficando restrita basicamente aos laticínios onde existe o Sistema de Inspeção Federal (SIF) ou Estadual (SIE), ou seja, áqueles que estão regulamentados. Segundo Nassu (2001), apenas 15% dos produtores estão regulamentados e pasteurizam o leite.

Estudos apontam que um dos principais motivo de não se pasteurizar o leite deve-se a destruição das bactérias lácteas naturalmente presentes no leite cru, responsáveis pelas características organolépticas peculiares do queijo da região e tão apreciadas pelo mercado, o que faz com que o produto perca o seu diferencial de identidade geográfica passando a ter as mesmas características de produtos produzidos em outra parte do mundo, fazendo com que ele perca sua competitividade para as grandes empresas (OPAS, 2009).

Em seu estudo Andrade (2006) afirma que para compensar as perdas oriundas do processo de pasteurização se faz necessário a adição de cloreto de cálcio e de fermento láctico ao leite a ser utilizado na produção do queijo, pois estas perdas interferem na acidificação e liberação de enzimas que provocam alterações sensoriais na textura, aroma e sabor desenvolvidos durante a maturação.

Neste contexto, o fato da maioria dos produtores não estarem sob fiscalização legal, e serem conhecedores que o processo de pasteurização altera as características do queijo, e que ao efetuar-lo seria necessário mais custos com o adicional de produtos ao leite, ocasionando por conseguinte a elevação do preço do produto, faz com que estes evitem a pasteurização, sem tomarem consciência do risco que expõe o seu consumidor, pois acreditam estarem oferecendo um produto de maior qualidade em virtude de manterem características organolépticas peculiares.

2.4 Impacto na saúde pública

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

Como sua forma de fabricação, na maioria das vezes, é artesanal, quando feito por pessoas inexperientes tecnologicamente, favorece a contaminação por diversos microorganismos, comprometendo sua qualidade e a saúde do consumidor. Reforçando este pensamento Peixoto et al (2007) afirmam que o queijo de coalho, por ser elaborado, em quantidade considerável, a partir de leite cru e sem os devidos cuidados de higiene, não apresenta segurança microbiológica e padronização da qualidade, levando a problemas de contaminação, devido à manipulação inadequada após o processamento. Barcellos (2006), afirma que para minimizar este problema cabe a população e aos órgãos fiscais cobrarem melhores condições higiênicas-sanitárias deste produto, onde o controle microbiológico dá, como medida inicial, uma boa resposta.

Por ser um produto de fácil aceitação, seu comércio é bastante difundido, sendo encontrado nos mais diversos pontos de venda: porta a porta, feira livre, lojas de produtos nordestinos, mercadinhos, supermercados, entre outros, sendo adquirido por várias faixas de renda, e consumido em quantidade e formas variadas: cru, assado, frito ou cozido. O comerciante, na maioria das vezes, não questiona a forma como o mesmo é produzido, pois para ele o que mais importa é se o produto está sendo vendido ou não, isto é, a qualidade do produto é determinada pela sua saída do balcão, e não pelos aspectos higiênico-sanitários. Como é uma prática comum este queijo ser consumido cru, e na maioria das vezes o mesmo ser produzido com leite também cru, o consumidor acaba expondo-se a risco sanitário, e desta

forma, como afirmam Peixoto; Praça e Góis (2007) a contaminação microbiana desse produto assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos, pois como corrobora Andrade (2009) se o leite não for obtido com condições adequadas de higiene, ele, pode ser, além de matéria prima, veículo de microrganismos patogênicos.

As condições higiênico-sanitárias inadequadas da matéria prima, falhas no processamento, armazenamento, transporte e exposição do produto a contaminação durante a comercialização, trazem como consequência, queijos de baixa qualidade expondo o consumidor ao risco de DTA. O ar, o ambiente, as embalagens primárias, as mãos dos funcionários, bem como os equipamentos e os utensílios, constituem pontos importantes que devem ser ajustados às BPF de forma a não representarem risco de contaminação para o produto (PEIXOTO et al, 2007), e desta forma evitar os surtos decorrentes de alimentos contaminados.

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

2.5 Impacto sócio econômico

O queijo de coalho é utilizado como meio de subsistência ou como complemento da renda dos pequenos produtores do semiárido, que precisam da garantia do escoamento de sua produção.

No ano de 2003 (Lei nº 10.696, Art. 19) o Governo Federal instituiu o Programa de Aquisição de Alimentos (PAA), mecanismo complementar ao Programa Nacional de Agricultura Familiar (PRONAF) com a finalidade de incentivar a agricultura familiar compreendendo a seguinte redação legal:

“Art. 19. Fica instituído o Programa de Aquisição de Alimentos com a finalidade de incentivar a agricultura familiar, compreendendo ações vinculadas à distribuição de produtos agropecuários para pessoas em situação de insegurança alimentar e à formação de estoques estratégicos.”

O PAA, através da doação de alimentos, é considerado como uma das principais ações estruturantes do Programa Fome Zero. Os produtos adquiridos são oriundos da agricultura familiar, sobre os quais é pago um valor que esteja no nível da realidade do mercado, garantindo um preço mínimo, diminuindo a especulação de preços ao produtor contribuindo para o fortalecimento do setor produtivo.

Para garantir maior confiabilidade na execução do PAA, o governo estabeleceu Controle Sanitário e de Qualidade, através do qual deve ser observado a qualidade dos produtos, a partir do atendimento às normas de fiscalização do SIF através do Ministério da Agricultura, do SIE pela Defesa Agropecuária ou Sistema de Inspeção Municipal (SIM) a cargo da Secretaria de Agricultura e VISA (VIEIRA;VIANA, 2007).

Por outro lado, a Companhia Nacional de Abastecimento por meio do Manual de Operações da Conab (MOC) estabelece que as operações de âmbito municipal e na ausência do SIM poderão ser aceito documento oficial (laudo, atestado ou declaração) que comprove a qualidade do produto (CONAB, 2008).

Ainda nesse sentido, e com o objetivo de controlar a qualidade sanitária dos alimentos sem comprometer a viabilidade econômica dos pequenos empreendimentos, o Governo Federal regulamentou o Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária – SUASA através do Decreto nº 5.741, de 30 de março de 2006, focado na facilitação da produção e da inserção dos produtos da agricultura familiar no mercado formal (BRASIL, 2006). Para tanto os municípios devem preencher alguns pré-requisitos, entre eles a implantação do SIM de forma isolada ou em sistema de consórcio, e só a partir da adesão ao SUASA, poderão comercializar seus produtos em qualquer parte do território Nacional, sem a necessidade do SIE ou SIF.

2.6 Qualidade da matéria prima

O leite é definido segundo a IN nº 51 (BRASIL, 2002), como o produto oriundo da ordenha completa e ininterrupta, em condições de higiene, de vacas sadias, bem alimentadas e descansadas, e quando proveniente de outros animais deve ser denominado segundo a espécie de procedência. Sua classificação é feita de acordo com o modo de produção, composição e requisitos físico-químicos e biológicos, recebendo as denominações A, B ou C. Ainda de acordo com a forma de apresentação pode ser disponibilizado na forma

de leite cru, refrigerado (tipo B e C) e pasteurizado, e quanto ao teor de gordura em integral, padronizado, semidesnatado ou desnatado.

Mesmo com todas as propriedades alimentares, o leite ainda apresenta um baixo consumo per capita no Brasil, quando comparado a outros países. Este consumo por sua vez varia de acordo com a disponibilidade do mesmo, que é afetado pelas fortes disparidades inter e intra regionais, referente ao desenvolvimento econômico e má distribuição de renda do País. Nas regiões mais desenvolvidas como o Sul e o Sudeste, o consumo per capita de leite é elevado em função do poder aquisitivo ser mais elevado e responderem pela maior produtividade de leite. Entretanto, a situação é inversa para as regiões Nordeste e Norte, devido ao menor desenvolvimento econômico e à menor produção e produtividade do rebanho (IBGE apud CAMPUS; PIACENTI, 2007).

Porém esta realidade tem apresentado uma mudança de comportamento, pois segundo o boletim informativo publicado pela Merial Leite (2011), o consumo de leite no Brasil tem crescido vertiginosamente tendo-se como base a década de 80, quando o consumo era de 100 litros de leite pessoa/ano, chega a 2010 com um consumo de 161 litros pessoa/ano, representando um aumento no consumo de 60% e colocando o Brasil como o 6º maior produtor de leite do mundo.

Sendo um produto alimentar consumido em todas as classes sociais e a matéria prima primordial para a fabricação do queijo, a qualidade do leite é definida por parâmetros relacionados à composição química, características físico-químicas e de higiene. A presença de componentes nutricionais, como proteína, gordura, lactose, sais minerais e vitaminas determinam a qualidade da sua composição, já a presença de microorganismos, que não fazem parte da composição natural láctea, determina a qualidade higiênica.

Manter a qualidade desta matéria prima é o requisito principal que o produtor de queijo deve ter, para evitar prejuízos econômicos, para ele e para quem vende, e a saúde pública para quem consome. Para isso deve adotar cuidados que deve ir da ordenha do leite a fabricação do queijo, com a inclusão da higienização adequada dos materiais (utensílios, tanques, entre outros) e dos funcionários envolvidos no processo (lavagem correta das mãos, higiene de uniformes e botas). Não devendo esquecer que isso inclui também a sanidade do rebanho.

Fatores zootécnicos associados ao manejo, alimentação e potencial genético dos rebanhos devem ser considerados quando se fala da qualidade do leite, e neste contexto a sanidade do rebanho adquire significativa relevância por interferir na composição e nas características físico-químicas do leite, merecendo destaque a atividade enzimática, o tempo

de coagulação, a produtividade e a qualidade dos derivados lácteos que sofrem alterações e efeitos patogênicos causados pela mastite e pelo aumento na contagem de células somáticas (MÜLLER, 2002).

O leite, oriundo do rebanho de caprinos ou bovinos, é obtido principalmente de pequenas propriedades rurais, cuja captação ocorre sem a utilização de recursos tecnológicos adequados, prevalecendo a ordenha manual de rebanhos, que são mantidos muitas vezes sem acompanhamento zoonosológico. O quantitativo de leite produzido é, na sua grande maioria, utilizado na fabricação artesanal do queijo ou na comercialização como bebida láctea, não recebendo, normalmente, o devido tratamento, ou seja, não passa pelo processo de pasteurização ou recebe qualquer tipo de fiscalização sanitária, levando aos consumidores produto contaminado e expondo os mesmos à situação de risco

No Brasil, a qualidade do leite interfere negativamente na produção e rendimento do queijo e outros derivados, uma vez que não atende aos padrões estabelecidos pela IN nº 51 (BRASIL, 2002). De acordo com estudo realizado por Matos et al (2010), na região agreste de Pernambuco segundo maior produtor do Nordeste e 10º do país, a partir de análises do leite cru, foi detectado que as amostras apresentaram altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos, coliformes totais, *Escherichia coli*, psicrófilos e estafilococos coagulase positivos, revelando que o leite já apresentava alta contaminação durante o processo de ordenha.

Estudo realizado por Nero et al (2005), em pequenas e médias propriedades dos Estados de Minas Gerais (MG), Rio Grande do Sul (RS), Paraná (PR) e São Paulo (SP), caracterizados como importantes produtores de leite no Brasil, encontrou altas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos nas amostras estudadas. No município de Luz (MG) Araújo et al (2009) detectou que 87,5% das amostras de leite das propriedades estudadas estavam fora dos padrões estabelecidos pela RDC 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2001b), apresentando coliformes totais, coliformes termotolerantes (87,5%), e *E. coli* (78,1%).

A contaminação de alimentos está relacionada diretamente ao manejo e ao acondicionamento do produto, seja no local de produção ou no de comercialização, e pode ocorrer de diversas maneiras, seja na forma física, química ou microbiológica, isoladas ou em conjunto. Entre os contaminantes físicos mais comumente encontrados em leite e queijos estão pêlos de animais, cabelos, fragmentos vegetais (capim, madeira, folhas, entre outros), pregos, fios sintéticos, que são facilmente visualizados a olho nu, o que leva consumidores e produtores muitas vezes a tomar medidas que os eliminem e/ou minimizem.

Nero et al. (2007) destacam que entre os contaminantes químicos encontrados no leite, estão os venenos utilizados no combate de ectoparasitas, agrotóxicos, pesticidas, saneantes (detergente, desinfetantes, sabões) e resíduos de medicamentos como antibióticos administrados nos animais, que são absorvidos pelo organismo e repassados através da produção láctea. Estes contaminantes são impossíveis de serem visualizados, necessitando da análise química para sua detecção, com isso produtores repassam seus produtos contaminados, por desconhecerem a contaminação e a população o consome, pois acredita na qualidade do produto.

Estudos realizados por Mattos et al. (2010) no agreste Pernambucano, merece destaque, pois detectou em amostras de leite cru, além da presença de microorganismos já referenciados em outros estudos, a existência de carbamatos e organofosforados (compostos utilizado em formulações para controle de parasitas).

Os contaminantes microbiológicos mais frequentemente encontrados são fungos, vírus, bactérias, células somáticas, além de macroorganismos como moscas, carrapatos e larvas de mosquitos. Isso tudo pode ocasionar doenças na população e estudos da Organização Mundial da Saúde (OMS), comprovam a existência de sete doenças viróticas básicas e 16 doenças bacterianas veiculadas pelo leite, destacando-se: rickettsioses (febre Q), infecções e intoxicações bacterianas (tuberculose, brucelose, listeriose, clostridioses), intoxicações alimentares (principalmente devido à toxina do *Staphylococcus aureus*), febres tifóide e paratifóide, salmonelose e intoxicações estreptocócicas. (ABRAHÃO et al., 2005).

Algumas destas contaminações ocorrem acidentalmente no cotidiano dos procedimentos dentro da cadeia produtiva quando medidas higiênico-sanitárias não são adotadas, ou ainda em situações onde ocorre a adulteração do leite pela adição de água, prática muito comum entre produtores ou atravessadores, para que seus lucros sejam aumentados.

Pela forma como se processa a produção do queijo de coalho, não se encontra relatos de fraudes na sua fabricação, a exemplo de outros queijos como o de manteiga, que, para diminuir custos para o produtor, tem no seu processo produtivo a adição de amido. Porém, não sendo adulterado na produção, a utilização de matéria prima contaminada na sua fabricação conduz a prejuízos na saúde bem mais danosos que os de ordem econômica, e frente a esta realidade, há uma preocupação permanente por parte de órgãos regulamentadores como os Ministério da Agricultura e MS, levando-os a criação de diversas normas e regulamentações que, operacionalizadas através das Defesas Agropecuárias e VISAs, têm levado a um avanço significativo na garantia de produtos com qualidade sanitária.

Dentre as recomendações existentes nestas normas para se manter a qualidade do leite, está a pasteurização, prevista no Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite que em estabelecimentos de laticínios de pequeno porte pode ser adotada a pasteurização lenta, onde se submete o leite a um aquecimento, no qual se utiliza temperaturas baixas (65°C) durante um período de trinta minutos ou mais, para logo em seguida submeter ao resfriamento. Este processo para a fabricação do queijo deve manter uma temperatura entre 35 e 40°C, quando então se adiciona o coalho (BRASIL, 2002).

Em meio aos diversos tipos de queijo, o de coalho, na sua avaliação nutricional se apresenta como um produto rico em proteínas de alto valor biológico, com grande aceitação pela população e é classificado por Brasil (1996; 2001a; 2001b), como sendo um produto de média umidade (36 a 45,9%), alta umidade (de 46,0 a 54,9%) e muito alta umidade (umidade não inferior a 55%), obtido por coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas, comercializado normalmente com até 10 (dez) dias de fabricação, apresentando um teor de gordura nos sólidos totais que varia entre 35,0% e 60,0%. Este produto é fabricado principalmente na região Nordeste, a partir da massa (coalhada) semicozida, cozida ou crua.

Por sua constituição, caracterizada pela apresentação de elevado teor de umidade e proteína, torna-se um produto altamente perecível, pois além destas condições favoráveis para proliferação microbiana, a sua manipulação ocorre de forma artesanal, na maioria das vezes sem atender as BPF, não apresentando segurança microbiológica e padronização da qualidade (FEITOSA et al., 2003). Isso favorece o aumento das condições para contaminação, sobrevivência e multiplicação dos microrganismos, que, ao alcançar o trato intestinal do consumidor, podem se apresentar como agentes inofensivos, a partir da convivência em harmonia com a flora intestinal ou podem causar intoxicações e/ou infecções alimentares.

Mesmo diante destas implicações sanitárias, a produção e comercialização do queijo de coalho têm assumido importante papel econômico na região do semiárido, pois como as maiorias dos produtores são pequenos agricultores e não dispõem de estrutura física e nem econômica para armazenar sua produção leiteira, acabam por investir na fabricação do queijo de coalho, forma mais prática e rápida para o escoamento do leite, visto que os custos para fabricação dos mesmos são menores quando comparados a outros tipos de queijo, além de apresentar um bom retorno financeiro em cima do que é investido.

Araujo et al (2008) em um estudo sócio-econômico sobre agricultura familiar na região do Inhamuns - CE, constataram que a produção tradicional de queijo é uma atividade responsável pela entrada de dinheiro e sustento de muitas famílias, mas que este processo se

dá numa situação de extrema vulnerabilidade, pois este fluxo de entrada sofre variações permanentes, por estar na dependência direta das tendências do mercado.

Apesar da proibição legal da Portaria Nº 146 imposta à comercialização de queijos elaborados a partir do leite cru sem os devidos cuidados de higiene, em pequenas propriedades rurais ou em pequenas indústrias que não adotam as BPF o comércio tem sido realizado abertamente em todo o Nordeste sem apresentar padronização da qualidade nem segurança microbiológica.

O leite após ordenha e sendo submetido à refrigeração, não sofrerá alteração bacteriana no quantitativo já existente, salvo por outras formas de contágio, por isso ele deve apresentar uma contagem bacteriana total (CBT), expressa em Unidade Formadora de Colônia por mililitro, conforme está demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 Contagem bacteriana total máxima admitida em conformidade com a NR 51, expressa em Unidades Formadoras de Colônias por ml (UFC/ml)

CONTAGEM BACTERIANA TOTAL MÁXIMA ADMITIDA NO LEITE CRU REFRIGERADO		
A partir de 1/7/2005 nas regiões Centro-Oeste, Sudeste e Sul e a partir de 1/7/2007 nas regiões Norte e Nordeste.	A partir de 1/7/2008 nas regiões Centro- Oeste, Sudeste e Sul e a partir de 1/7/2010 nas regiões Norte e Nordeste.	A partir de 1/1/2011 nas regiões Centro- Oeste, Sudeste e Sul e a partir de 1/7/2012 nas regiões Norte e Nordeste.
1.000.000 UFC/mL	750.000 UFC/mL	100.000 UFC/mL

FONTE: DÜRR (2005).

A contaminação microbiológica de produtos derivados do leite pode ter várias origens como: uso de leite cru ou mal pasteurizado; falhas após pasteurização do leite; manipulador portador de doenças; equipamentos inadequados e/ou falha na higienização; contaminação cruzada com outros produtos; contaminação no armazenamento; contaminação nos locais de comercialização, etc., e isso tudo reflete diretamente na ausência da adoção das BPF não estão presentes ou houve falha na sua execução.

A adoção das boas práticas agrícolas favorece tanto a sanidade animal e manejo, como também a higiene da ordenha e equipamentos, higiene pessoal e do ambiente da ordenha, conservação e transporte do leite produzido. Para tanto estas medidas devem estar associados para a obtenção de produtos lácteos de qualidade, principalmente quando se trata de produtos como o queijo de coalho, que na maioria das vezes é fabricado com o leite cru.

2.7 Características microbiológicas do queijo de coalho

A qualidade do queijo de coalho está diretamente relacionado a qualidade de sua matéria prima, e por isso o MS através do Regulamento da Diretoria Colegiada (RDC 12 de 02/01/2001) da ANVISA, estabelece os padrões Microbiológicos para alimentos bem como adota metodologia analítica editada pela Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOAC). A ANVISA considera ainda para o queijo de coalho através do Número Mais Provável por grama (NMP/g) uma tolerância de 5×10^2 da amostra para Coliformes a 45°C e Estafilococos coagulase positiva e ausência de *Salmonella sp.* e *L.monocytogenes*.

Normalmente, dentre os microrganismos encontrados no queijo de coalho, em função da ausência de BPF, destaca-se coliformes totais e fecais, *Escherichia coli*, *Salmonella sp.* e *Staphylococcus aureus* (SANTANA et al., 2008), e no trabalho realizado por Freitas Filho et al. (2009) no Município de Jucati - PE, 50% das amostras de queijo analisadas estavam fora dos padrões microbiológicos quanto aos níveis de coliformes fecais.

Leite et al. (2002) avaliaram 32 amostras de queijo de Coalho comercializadas em Salvador e detectaram a presença coliformes termo tolerantes em 90,62 % das mesmas, com valores acima do que preconiza a RDC 12, cujo valor máximo aceitável permitido é de 500 NMP/g, nas quais 37,5% foi identificado como *Escherichia coli*. No trabalho realizado por Francisco (2007), na cidade de Bananeiras - PB, onde foram avaliadas três amostras de queijo de coalho, foi encontrado 100% de contaminação, ou seja, todas estavam fora dos padrões estabelecidos pela legislação, com números elevados para Coliformes totais e fecais, *Staphylococcus aureus* e microrganismos mesófilos, só não sendo constatado a presença de salmonela.

Salotti et al. (2006), pesquisando a qualidade microbiológica de queijo minas frescal, produto com processo de fabricação semelhante ao queijo de coalho, detectou que 83,3% dos queijos fabricados sem passar por processo de inspeção, encontravam-se fora dos padrões, quanto a contaminação por coliformes fecais, demonstrando o contato do produto com fezes humanas ou de outros animais.

Destaca-se a importância de se identificar a presença de coliformes fecais em produtos derivados do leite, tanto pelo aspecto sanitário como o de saúde pública, porém, deve-se destacar o papel destes microrganismos no processo industrial, no que diz respeito às características e aspectos de cada tipo específico de queijo. Beux (2011) corrobora afirmando que os coliformes metabolizam a lactose, produzindo, entre outras substâncias, ácido láctico e CO₂, que fica retido na massa dos queijos, provocando o aparecimento de pequenos buracos,

também chamados de olhaduras, e, quando o número de coliformes é excessivo, o gás provoca o inchamento do queijo.

2.7.1 Microrganismos indicadores de contaminação

Por suas características de processamento inadequado, os queijos produzidos em pequenas fábricas, ou artesanalmente, apresentam em geral uma grande quantidade de microorganismos responsáveis pela deteriorização e ou a redução da vida útil do produto, indicadores de más condições higiênicas sanitárias do processamento além da manipulação inadequada da matéria prima, utensílio e equipamento (PEIXOTO et al, 2007), assim faz-se necessário, para um maior controle de qualidade, com padrões higiênicos sanitários, a identificação de microrganismos indicadores de condições higiênicas sanitárias, que irão fornecer informações da ocorrência de contaminantes de origem fecal, com a possibilidade de entre esses microrganismos encontrarmos agentes patogênicos. Quando presente em um número considerável é um indicador de falhas no processo de fabricação / manipulação.

Os coliformes fazem parte do trato gastrointestinal dos animais de sangue quente, por esse motivo tem-se investigado em pesquisas a presença destes tanto em alimentos e na água, como indicadores das condições higiênicas sanitárias destes produtos de consumo.

Dentre os coliformes totais, estão os coliformes fecais, caracterizados como termotolerantes, uma vez que quando incubados a 44 - 45°C / 24-48 h, continuam fermentando a lactose com produção de ácido e gás, sendo exemplo a *Escherichia coli*, principal de indicador de contaminação fecal. Ainda aparecem como termotolerantes diversas espécies de vida livre, por terem sua origem não-exclusivamente fecal, ou seja, além de poderem ser encontradas no trato intestinal são encontradas também no solo, na água e nos alimentos, a exemplo dos gêneros: *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, e *Proteus* (HAJDENWURCEL, 1998). Por esse motivo há uma preferência em adotar-se o emprego do termo coliformes termotolerantes em vez de coliformes fecais.

Para análise das características de potabilidade da água oferecido à população, O Ministério da Saúde recomenda a adoção de ensaios físico-químicos, além de ensaios microbiológicos para pesquisa da presença de coliformes totais e *Echerichia coli* (BRASIL, 2004). Fazendo-se uma revisão no Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (RDC 12 - ANVISA), pode-se observar que um dos indicadores dos padrões microbiológicos para praticamente todos os alimentos é a presença de Coliformes a 45°C, e

por isso utilizado como um dos critérios para interpretação e conclusão na análise microbiológica de alimentos destinados ao consumo humano (BRASIL, 2001b).

A *Salmonella sp.* apresenta a maioria dos sorotipos patogênicos ao homem, e por este motivo considerada uma das principais zoonoses de interesse para a saúde pública em todo o mundo, devido a sua alta endemicidade e alta morbidade, constituindo-se responsável por graves intoxicações alimentares.

Se no patamar mundial aparece como um dos principais agentes notificados em surtos de infecção alimentar em vários países, no Brasil o quadro é de subnotificação, quando apenas 10% do total de surtos de origem alimentar são notificados, não esquecendo o fato de que a maioria dos casos de gastroenterites não demanda internação (SHINOHARA, 2008). Este primeiro ponto, talvez receba explicação, em virtude de que a única forma de salmonelose de notificação compulsória ser a febre tifóide, causada pela *S. typhi* (BRASIL, 2011).

3 BIBLIOGRAFIA

ABRAHÃO, R. M. C. M.; NOGUEIRA, P. A.; MALUCELLI, M. I. C. O comércio clandestino de carne e leite no Brasil e o risco de transmissão da tuberculose bovina e de outras doenças ao homem: um problema de saúde pública. *Archives of Veterinary Science*, v.10, n.2, p.1-17, 2005.

ANDRADE, A. A. **Estudo do perfil sensorial, físico-químico e aceitação de queijo de coalho produzido no estado do Ceará.** Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Depto. de Engenharia de Alimentos, Dissertação (mestrado) – Fortaleza, 2006.

ANDRADE, A. P. C. de. **Identificação bioquímica, molecular e pesquisa de genes codificadores de enterotoxinas de *Staphylococcus spp.* isolados de Coalho.** Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Depto. de Engenharia de Alimentos, Dissertação (mestrado) – Fortaleza, 2009

ALBUQUERQUE, L. C. **História da fabricação de queijos.** Disponível em: <http://tecnologiadefabricacaodequeijo.blogspot.com/2009/03/historia-da-fabricacao-de-queijos.html>. Acessado em: 17 de Outubro de 2010.

ARAÚJO, J. C. et al. **Estudo sócio-econômico sobre agricultores familiares produtores de queijo-de-coalho das comunidades do Junco, Tiasol e Tapera, no município de Tauá – CE.** Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural (SOBER); 46th Congress, July 20-23, 2008, Rio Branco, Acre, Brasil. Disponível em: www.sober.org.br/palestra/9/608.pdf. Acessado em: 7 de junho de 2010.

ARAUJO, M. M. P., et al. Qualidade higiênico-sanitária do leite e da água de algumas propriedades da bacia leiteira do município de Luz – MG. *Revista de Biologia e Ciência da Terra*, vol. 9, nº 2, 2009.

BARCELLOS, T. G. **Pesquisa de *E. coli* em queijos minas frescal oriundos de feiras no Distrito Federal.** Universidade de Brasília, CET – Centro de Excelência em Turismo / Qualidade em Alimentos, Monografia, 2006.

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

BIBLIA SAGRADA. **Nova Tradução na Linguagem de Hoje**, Paulinas Editora, São Paulo, 2005. p 16, 278.

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

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

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

_____. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa Nº 51, de 18 de setembro de 2002. Regulamentos Técnicos de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, do Leite tipo B, do Leite tipo C, do Leite Pasteurizado e do Leite Cru Refrigerado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União de 20/09/2002, Seção 1, Página 13.

_____. Ministério da Saúde. Portaria No. 518, de 25 de março de 2004. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 26 de mar. 2004. Seção 1, p. 266.

_____. Decreto nº 5.741, de 30 de março de 2006. Regulamenta os Arts. 27-A, 28-A e 29-A, Organiza o Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária, e dá outras providências. Brasília, 2006. Legislação Federal

_____, Ministério da Saúde. Portaria ° 104, Lista de notificação compulsória. Diário Oficial da União, Brasília, de 26 janeiro de 2011, Seção I, pág. 38.

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. **Microbiota láctica de queijos artesanais**. Documentos, Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 30p.

CASCUDO, L. C. **História da Alimentação no Brasil**. 1ª edição, 2004, São Paulo: global editora.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Manual de Operações da Conab – MOC**, título 27 e 30. Brasília, 2008. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/moc/titulos/T30.pdf>. Acessado em: 11/01/2012.

DIAS, J. C. As peripécias do queijo no Brasil. **Revista Isto É - Dinheiro rural**. Edição no 72, outubro, 2010.

DÜRR, J. W. **Como produzir leite de alta qualidade**. Brasília: SENAR, 2005. 28p

FEITOSA, T. et al. Pesquisa de *Salmonellasp.*, *Listeriasp.* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, set./dez. 2003, p.162-16

FRANCISCO, M. S., **Aspectos microbiológicos de queijo de coalho comercializado no município de Bananeiras, PB**. In: II Jornada Nacional da Agroindústria, Bananeiras, CFT/UFPA 04 a 07 de dezembro de 2007

FREITAS FILHO, J. R. et al. **Avaliação da qualidade do queijo “coalho” artesanal fabricado em Jucati – PE**. Revista Eletrônica de Extensão, v. 6, n. 8, dezembro de 2009. Disponível em: <<http://www.periodicos.ufsc.br/index.php/extensio/article/viewFile/11393/11446>>. Acesso em: 10 de mar. de 2010.

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. Fonte Comunicação e editora. São Paulo, Volume I, 66p. 1998).

CAMPUS; PIACENTI, 2007 LÁCTEA BRASIL. **Queijo**: Alimento nobre e saudável. Julho de 2006. Disponível em: <www.lacteabrasil.org.br> Acesso em: 25 de julho de 2010.

LÁCTEA BRASIL. **Queijo:** Alimento nobre e saudável. Julho de 2006. Disponível em: <www.lacteabrasil.org.br> Acesso em: 25 de julho de 2010.

LEITE, C. C. et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* em queijo do tipo “coalho” comercializado em Salvador (BA): Importância para saúde pública. **Revista Analytica** . Nº 02, Novembro, 2002 .

MATTOS, M. R. et al.; **Qualidade do leite cru produzido na região do agreste de Pernambuco**, Brasil. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, v. 31, n. 1, p. 173-182, jan./mar. 2010.

MERIAL LEITE. Produção x Consumo de leite no Brasil. **Boletim Informativo descarte zero**, nº 6. Outubro, 2011. Disponível em: http://br.merial.com/pecuaristas/boletim_descarte_zero/2011/outubro/mercado/mercado.asp. Acessado em: 20 de novembro de 2011.

MÜLLER, E. E. Qualidade do leite, células somáticas e prevenção da mastite. In: Simpósio sobre Sustentabilidade da Pecuária Leiteira na Região Sul do Brasil. Editores Geraldo Tadeu dos Santos. – Maringá : UEM/CCA/DZO – NUPEL. **Anais**. 2002. p. 206-217.

NASSU, R. T. et al **Diagnóstico das condições de processamento de produtos regionais derivados do leite no Estado do Ceará**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento, Fortaleza : Embrapa Agroindústria Tropical, 2001. 28 p.

NERO, L. A. et al. Leite cru de quatro regiões leiteiras brasileiras: perspectivas de atendimento dos requisitos microbiológicos estabelecidos pela Instrução Normativa 51. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 25(1): 191-195, jan.-mar. 2005 Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n1/a30v25n1.pdf>>. Acesso em: 11 outubro de 2011.

NERO, L. A. et al; **Resíduos de antibióticos em leite cru de quatro regiões leiteiras no Brasil**. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v. 27, n. 2, p. 391-393, abr./jun. 2007.

NOGUEIRA, J. G. **A embalagem como fator de agregação de valor ao produto: Um estudo do segmento de queijos em Juiz de Fora**. Universidade Federal Fluminense. Sistema de Gestão, Dissertação (mestrado) Área Sistema de Gestão pela Qualidade Total, Niterói, 2006

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

PEIXOTO, A.M.S.; PRAÇA, E.F.; GÓIS, V.A. de,. A potencialidade microbiológica de coagulação do coalho líquido artesanal. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil)v.2, n.2, p. 52 – 64 Julho/Dezembro de 2007.

PERRY, K.S.P. **Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos**. Quim. Nova, v.27, p.293-300, 2004. Disponível em :<http://www.scielo.br/pdf/qn/v27n2/19276.pdf> Acessado em: 15 de setembro de 2011.

QUEIROZ, A. A. M. de. **Caracterização molecular de bactérias ácido lácticas com potencial tecnológico para produção de queijo de coalho no Ceará**. Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias. Depto. de Tecnologia de Alimentos, Dissertação (mestrado) – Fortaleza, 2008

SALOTTI, B.M. et al. **Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticaba, SP, Brasil.** Arq. Inst.Biol., v.73, p. 171-175, 2006.

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

SEBRAE- Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. **Queijos Nacionais:** estudos de mercado. SEBRAE/ESPM. SEBRAE, 2008. 34p

SHINOHARA, N. K. S. et al. ***Salmonella spp.*, importante agente patogênico veiculado em alimentos,** Ciência & Saúde Coletiva, 13(5):1675-1683, 2008)

VIEIRA, D. F. A., VIANA, C. A. S. **O programa de aquisição de alimentos:** PAA e sua relação com o modo de funcionamento da agricultura familiar. Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2007, 09 p. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/98d489686768a24d24fa7f0d1acabf81..pdf>. Acessado em: 24 de janeiro de 2011.

CAPÍTULO 2

DANTAS, Dilermando Simões. **Análises microbiológicas do queijo de coalho para pesquisa de coliformes totais, coliforme termotolerantes, *Echerichia coli* e *Salmonella sp.*** UFCG, 2012. 79p. (Dissertação – Mestrado em Zootecnia - Sistemas Agrossilvipastoris no Semiárido).

RESUMO

O queijo de coalho é um produto amplamente comercializado na região Nordeste, produzido, sabidamente, na maioria das vezes, com leite cru, que normalmente são obtidos sem atender as normas higiênicas sanitárias, chegando a mesa do consumidor sem a devida qualidade, carecendo a necessidade de se realizar a avaliação microbiológica do produto, na qual são pesquisados microrganismos indicadores de higiene como coliformes fecais, termotolerantes e *Echerichia coli*, prática recomendada para verificar se em algum ponto da cadeia produtiva o alimento teve contato com material fecal. A presença desses microorganismos é um indício de que agentes patogênicos como as *Salmonellas sp.* dentre outros, também podem estar presentes no alimento, fazendo com que a saúde do consumidor seja colocada em risco. Por meio da análise microbiológica, seguindo recomendação da instrução normativa nº 62/2003, 12 amostras de queijo de coalho provenientes do comércio do município de Patos – PB foram investigadas. Os resultados apontaram 100% de contaminação das amostras analisadas, com registro dos NMP/g de coliformes acima de 1100, demonstrando condições impróprias para o consumo humano conforme regulamenta a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, por meio da Resolução de Diretoria Colegiada nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Destaca-se a confirmação, através dos testes de plaqueamento, pela presença de *E.coli* em todas as amostras e de *Salmonella sp.* em uma única amostra (8,33%), este último dado não é indicador da ausência de contaminação, mas pode implicar em competição biológica. Assegura-se que o pré-cozimento utilizado na produção do queijo em estudo não foi suficiente para impedir a contaminação das amostras estudadas. A análise da forma de exposição do produto para comercialização mostrou-se inadequada, além do que nenhum queijo passou pelo processo de maturação, uma vez que a média de dias de fabricação foi de 2,4. Esta condição é resultante da carência das boas práticas de manipulação ao longo da cadeia produtiva, e para minimizar este problema se faz necessário a capacitação contínua dos produtores por meio da parceria intersetorial, e a implantação de protocolo para obtenção de queijo com qualidade microbiológica, que possa oferecer segurança alimentar aos consumidores.

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

CHAPTER 2

Dantas, Dilermando Simões. **Microbiological analysis of curdled cheese in order to search for total coliforms, thermotolerant coliforms, *Salmonella sp.* and the *Echerichia coli*:** UFCG, 2012. 79p. (Dissertation - Master's degree in Animal Science - agroforestry systems in semiarid).

ABSTRACT

The curdled cheese is a widely commercialized product in the Northeast. It is known to be produced mostly with raw milk, which is usually obtained without meeting the hygienic sanitary standards, reaching the consumer's table without proper quality, lacking the need to perform the microbiological evaluation of the product, in which hygiene indicators such as fecal coliform, coliform and the *Echerichia coli* are tested, a highly recommended procedure in order to verify if at some point in the production chain the food has been in contact with fecal material. The presence of these microorganisms is an indication that pathogens such as *Salmonellas sp.* among others, may also be present in the food, so that the health of the consumer is put at risk. By means of microbiological analysis, following the recommendation of the normative instruction No. 62/2003, 12 samples of curdled cheese commercialized in the municipality of Patos - PB were investigated. The results showed 100% contamination of the samples, which registered the MPN / g of coliforms above 1100, showing inappropriate conditions for human consumption as it regulates the National Agency of Sanitary Surveillance, through Board Resolution No. 12, January 2, 2001. Confirmation of the presence of *E. coli* in all samples and *Salmonella sp.* in a single sample (8.33%) through tests of plating is highlighted, since the latter does not indicate the absence of contamination, but it can be a result of biological competition. It is ensured that the pre-cooking procedure used in the production of cheese in this study was not sufficient to prevent contamination of the samples. The analysis on the way the product is displayed for commercializing showed that it is inadequate, as well as the fact that none of the cheeses went to the process of maturation, since the production process took only 2.4 days. This condition is the result of a lack of adequate handling practices along the productive chain, and in order to minimize this problem it is necessary the continuous training of farmers through intersectoral partnerships, and implementation of protocol to obtain microbiological quality of cheese, which can provide food security to consumers.

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

1 INTRODUÇÃO

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

Por se dá de maneira artesanal, essa forma básica de produção tem grande possibilidade de apresentar contaminação, uma vez que a maioria dos produtores, na manutenção de padrões culturais transmitidos de geração em geração, utilizam-se de meios simples, que não se enquadram nas Boas Práticas de Fabricação (BPF), fazendo com que o produto final torne-se um risco potencial a saúde do consumidor.

O queijo de coalho, por suas características orgânicas, torna-se propício ao desenvolvimento microbiano, e é enquadrado como alimento de alto risco a saúde, quando não atende às normas higiênicas sanitárias, tendo como base quatro pontos fundamentais: o método artesanal de fabricação; a utilização de leite cru normalmente é obtido em precárias condições; deficiências estruturais existentes nas pequenas queijarias e à falta de conhecimentos técnicos sobre higiene e microbiologia de alimentos dos responsáveis pela sua elaboração.

Um grande número de bactérias patogênicas pode ser encontrado contaminando o alimento, e para se identificar os mesmos, é utilizado na prática, através de análises laboratoriais, a pesquisa da presença de microrganismos indicadores das condições higiênicas sanitárias do produto, uma vez que para se pesquisar todos os agentes presentes no alimento, tornar-se-ia uma tarefa demorada e dispendiosa, em virtude da diversidade de materiais e produtos utilizados para realização das análises.

A presença de coliformes e *Echerichia coli* é adotado como indicador das condições higiênicas sanitárias em que se obteve o alimento, seja ele qual for, cujo quantitativo aceitável, sem que venha a causar risco para o consumo humano, está determinado em normativa do Ministério da Saúde. No entanto, para uma avaliação mais detalhada recomenda-se a pesquisa de outros microrganismos, a fim de oferecer ao consumidor um produto de qualidade.

Em se tratando de queijo de coalho, a Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 (RDC 12/ ANVISA), considera como produto próprio para consumo aquele que apresenta Coliformes 45°C e Estafilococos coagulase positiva com número mais provável por grama (NMP/g) até o valor de 5×10^2 , e ausência de *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes*.

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

Com isso pode-se ofertar dados que subsidie o trabalho da Vigilância Sanitária (VISA) do Município pesquisado, além de promover o desenvolvimento de uma proposta de

trabalho para adoção de BPF a serem desenvolvidas junto aos produtores para que os mesmos possam fabricar um produto com qualidade higiênica sanitária.

A oferta de produtos adequados ao consumo, sem expor a saúde do consumidor, eleva a credibilidade do produtor e conseqüentemente seu poder econômico, por isso torna-se necessário conhecer a qualidade higiênica sanitária aplicada no processamento do alimento, uma vez que, através deste conhecimento, pode-se determinar os grupos de microrganismos indicadores e patogênicos encontrados no alimento bem como sua origem.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Tipo de estudo

Trata-se de uma pesquisa descritiva exploratória com abordagem quantitativa. Para Richardson (2010), o método quantitativo é caracterizado pelo emprego de quantificação nas modalidades de coleta de informação e no tratamento das mesmas, através de técnicas

estatísticas, desde as mais simples como percentual, média, desvio-padrão, até as mais complexas que são coeficientes de correlação, análise de regressão entre outras, com a intenção de garantir a precisão dos resultados, evitar distorções de análise e interpretação, possibilitando, conseqüentemente, uma margem de segurança quanto às inferências.

2.2 Local da pesquisa

A Pesquisa foi realizada no município de Patos -PB, situado no sertão paraibano, a uma distância de 301 Km, da Capital do Estado, com uma área de 473,504 Km², sendo 45Km² de área urbana, encontrando-se a uma altitude de 242 m acima do nível do mar. Ocupa 0,91% da área total do Estado do Paraíba. Com uma posição geográfica privilegiada, próximo a divisa dos Estados do Pernambuco e do Rio Grande do Norte, torna-se o principal centro comercial da região do sertão paraibano. Sua economia gira em torno do serviço público, da indústria, do comércio e da agropecuária. O município possui uma população estimada em 2011 de 101.359 habitantes com uma densidade demográfica de 212,82 hab./km². Somando-se a esse número, conta com uma população flutuante fazendo com que este valor oscile em torno de 130 mil pessoas (IBGE - 2011).

O Comércio do Município está distribuído nas mais diversas variedades: calçados, roupas, eletrodomésticos, alimentos, entre outros. No seguimento alimentar conta com lanchonetes, bares e restaurantes servindo-os prontos, e na venda do produto a ser preparado tem-se mercado público, supermercados, mercadinhos, entre outros.

Na área de produção de leite apresenta um quantitativo de 2.091 mil litros de leite bovino por ano (IBGE, 2011), porém não existe dados oficiais que comprovem a produção de queijo de coalho no município e nem mesmo o volume comercializado dentro do município, no entanto, em um levantamento feito com cinco dos oito comerciantes de queijos e outros produtos lacteos artesanais (queijo de manteiga, manteiga de garrafa, doce de leite e nata (Figura 1) nas instalações do Mercado Público da cidade, chegamos a um volume aproximado de 830 Kg semanais. Entretanto sabemos que este quantitativo é superior a este volume, uma vez que não foi levado em conta o que é comercializado nos supermercados, mercearias e similares cadastrados junto a VISA.

Figura 1 Produtos artesanais sendo comercializados em tarimbas (boxer) do mercado público da cidade de Patos-PB. Registro feito em novembro de 2010



FONTE: O AUTOR

O queijo de coalho é comercializado em tarimbas do mercado público, feiras livres, supermercados, mercadinhos e padarias diretamente aos consumidores, como também nos serviços de bares e restaurantes.

De fabricação simples e de baixo custo, ele é produzido com técnicas que normalmente não estão normatizadas, uma vez que elas são adotadas de acordo com o entendimento e aprendizagem que cada produtor adquiriu ao longo de sua existência. Outro ponto de destaque que põe em risco a qualidade sanitária do queijo é a forma de transporte, armazenamento e comercialização. Este último ponto ocorre sem a devida proteção a agentes contaminantes, onde os comerciantes os manuseiam sem a devida proteção, seja com o uso de luvas descartáveis, toucas ou aventais, propiciando um meio de contaminação direta. Além do mais os queijos não são normalmente embalados, sendo expostos ao ar livre, e quando recebem algum invólucro ele é inadequado (Figura 2), não garantindo a inocuidade do produto.

Figura 2 Queijos de coalho fora de refrigeração, embalados em sacola plástica comum sem fechamento adequado sendo exposto a contaminantes ambientais e a manipulação por parte do comerciante e consumidor



FONTE: O AUTOR

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

Para regularizar e manter uma vigilância constante dos pontos comerciais que trabalham com produtos que podem levar a danos na saúde pública, o município conta com a VISA, regulamentada pela Lei Municipal nº 2.160 de 31 de Maio de 1995, composta de cinco Médicos Veterinários, um Nutricionista, um Farmacêutico e um Bioquímico, além de profissionais de nível médio. Na sede da VISA está montado desde o ano de 2008, o Laboratório de Bromatologia, utilizado para análises físico-químicas e microbiológicas de água e alimentos, como procedimento de monitoramento por parte do órgão de fiscalização, sendo o mesmo utilizado como suporte para a análise microbiológica das amostras do queijo do estudo.

2.3 População e amostra

A população do referido estudo foi composta de 08 tarimbas (boxes de comercialização), do Mercado Público e 176 supermercados que comercializam queijo de coalho na cidade de Patos, conforme dados da VISA, caracterizados como os principais pontos comerciais. A amostra foi constituída por 04 tarimbas, 03 supermercados e 01 queijeira. Para seleção das tarimbas foi utilizado como critério de exclusão encontrar-se fechada e para a determinação dos supermercados aqueles que vendiam queijos industrializados e recebiam produtos coincidentes com os das tarimbas. Destes pontos comerciais foram coletadas 12 amostras de queijo, que mesmo sendo superior ao número de estabelecimentos, tem como justificativa o fato de que um mesmo estabelecimento comercializar queijo de mais de um produtor, e assim fornecer mais de uma amostra.

2.4 Coleta de dados

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

As amostras foram adquiridas em duplicata para uma eventual necessidade de uma análise de contra prova, a partir da retirada de frações da peça inteira, utilizando a faca do próprio comerciante, e depois acondicionadas em sacos estéril com arame de fechamento, desenvolvido para coleta de amostras sólidas ou líquidas. Transportada em caixa isotérmica (Figura 3), com a identificação de cada amostra e informações prestadas pelo comerciante, através do preenchimento de uma ficha de cadastro (Apêndice A) previamente elaborada. As amostras foram mantidas sob refrigeração até o momento da análise, realizadas no Laboratório de Bromatologia da VISA Municipal.

Figura 3 Amostras de queijo em sacos estéreis identificados prontas para transporte até o laboratório em caixa isotérmica



FONTE: O AUTOR

Técnica semelhante foi adotada por Santana et al (2008), quando realizou seu estudo em Aracaju SE, e realizou a coleta de amostras fracionadas, que foram identificadas, pesadas, acondicionadas em caixas isotérmicas contendo gelo e transportadas, em seguida, até o laboratório de pesquisa em alimentos.

As amostras obtidas tão logo chegaram ao Laboratório de Bromatologia da VISA Municipal receberam tratamento imediato, com as técnicas necessárias para a realização da análise microbiológica.

2.5 Análises microbiológicas

Este procedimento exige dedicação, responsabilidade e técnicas estéreis, uma vez que ações inadequadas podem gerar diagnósticos incompatíveis com a qualidade do produto examinado. E, Salotti et al. (2006) afirmam que tal procedimento deve ser encarado com certo rigor, pois só assim pode-se conhecer a existência de possíveis deficiências de manipulação, através da averiguação da presença de microrganismos indicadores de má qualidade higiênica e de microrganismos patogênicos, que implicariam em contaminação do alimento.

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

Para a realização deste procedimento foram utilizados os seguintes materiais: tubos de ensaio; tubos de Duran; fraco balão Erlenmeyer; placas de Petri; alça de platina; haste de platina; estufa microbiológica; pipetas de 10, 1 e 0,1ml; bico de bulsen; capela de fluxo laminar; balança analítica; autoclave; estufa; meios de cultura: água peptonada a 0,1% (AP); Lauril duplo (LD); Lauril Simples (LS); Caldo Verde Brilhante (CVB); Caldo *E. coli* (CEC); Caldo Selenito Cistina (CSC); Caldo Rappaport Vassiliadis (CRV); Caldo Tetrionato (CTT); ágar Hektoen (HE); ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD); agar Eosina Azul de Metileno (EMB).

O quantitativo destes materiais não foi possível de ser estabelecido, porque os mesmos eram utilizados a medida que se faziam necessário, considerando inclusive as perdas decorrentes de quebras, derramamento, e outros acidentes passíveis de ocorrer quando se está fazendo pesquisa.

A fim de evitar contaminação dos meios, haja vista o resultado da pesquisa exigir dados fidedignos, que retratem a qualidade do queijo comercializado e não dados de falha técnica decorrente de procedimentos inadequados ou inseguros, adotou-se técnica estéril em todas as etapas, utilizando para tal fim, desde a preparação até a semeadura, o ambiente da capela de fluxo laminar.

Além disso, as vidrarias foram esterilizadas em autoclaves a uma temperatura de 121°C durante um período de 15 minutos e secadas em estufas à 170°C durante 1 hora, o que caracteriza uma nova esterilização, garantindo maior condição asséptica do material. Após cada manuseio das hastes e alças de platinas, a fim de garantir que as mesmas permanecessem estéreis, elas eram imediatamente flambadas em bico de bulsen, durante o tempo necessária para que elas ficassem rubras.

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

Figura 4 Amostra pesada (25 g) fragmentada manualmente no interior de sacos estéreis e fechados, pronto para ser homogeneizado em Água Peptonada



FONTE: O AUTOR

Para tanto adotou-se o seguinte procedimento: pesagem de 25g da amostra, que foi acondicionada em saco estéril e fechado, seguido da fragmentação manual da mesma (Figura 4), que na seqüência foi colocada no frasco balão Erlenmeyer com 225 ml de Água peptonada, sendo em seguida homogeneizada com movimentos circulares do frasco (Figura 5).

Figura 5 Amostra de queijo fragmentada manualmente e homogeneizada por agitação circular em frasco balão Erlenmeyer com 225 ml de Água peptonada



FONTE: O AUTOR

Este procedimento foi adotado em cada uma das 12 amostras do estudo, em baterias de cinco, cinco e duas amostras, em virtude da estrutura física e da disponibilidade de material (Figuras 6).

Com a homogeneização concluída (Figura 6), utilizando pipetas de graduação específica (10 e 01 ml) embaladas e esterilizadas individualmente, foi retirada do frasco Erlenmeyer um total de 33,3 ml da solução que foi distribuído em triplicata para tubos de ensaio contendo caldo Lauril e tubos Durhan invertidos, com o seguinte quantitativo: 10 ml para tubos de ensaios com LD (diluição 10^{-1}), 1ml para tubos de LS (diluição 10^{-2}) e 0,1ml para os outros tubos de LS (diluição 10^{-3}).

Figura 6 Amostras homogeneizadas em AP prontas para ser transferidas para tubos de ensaio com contendo Caldo Lauril e tubo Durhan invertido no seu interior



FONTE: O AUTOR

Vale ressaltar que este procedimento se deu em nove movimentos para cada amostra, sendo realizados em baterias de pipetagem agrupadas em três de 10 ml, três de 01ml e três de 0,1ml, para se evitar acidentes e nem correr o risco de aumentar a diluição, o que poderia interferir nos resultados.

Destaca-se ainda que tivemos o cuidado de realizar a identificação de cada tubo com o número da amostra, o meio utilizado e a diluição, a fim de evitar troca de amostras e viés de leitura, garantindo com isso a confiabilidade dos dados e a preservação da identidade do comerciante.

Na seqüência procedeu-se a incubação dos tubos contendo Caldo Lauril (CL), que contém na sua composição triptose, fosfato de potássio, cloreto de sódio, lactose, fosfato monopotássico, lauril sulfato de sódio e água destilada. O processo de incubação deu-se por 24 horas a uma temperatura de 35 ± 2 °C utilizando-se a estufa microbiológica (Figura 7). Este procedimento é realizado para propiciar o desenvolvimento microbiano, a partir do fornecimento de nutrientes, a partir do meio de cultura e condições ambientais, por meio de

conforto térmico ofertado pela estufa, que sejam propícios para proliferação e desenvolvimento do agente a ser pesquisado.

Figura 7 Incubação a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas em caldo Lauril inoculado com amostra para detecção de coliformes totais



FONTE: O AUTOR

O CL é um meio rico em nutrientes que permite um rápido desenvolvimento de microorganismos fermentadores de lactose, considerado um meio seletivo em virtude do Lauril sulfato de sódio ter ação inibidora da flora acompanhante dos coliformes totais.

Na preparação deste meio foi seguida a técnica recomendada pelo fabricante, para tanto foi dissolvido um volume específico do meio desidratado em água destilada fria, sob agitação e posterior repouso por 5 minutos. Foram distribuídos 10 ml do meio em tubos de ensaio fechados com tampões de algodão hidrófilo e esterilizados em autoclave a 121°C , por 15 minutos, nos quais previamente foram colocados tubos de Durham. O caldo foi resfriado, imediatamente, após a esterilização, apresentando pH final $6,8 \pm 0,2$ e, estocado em temperatura ambiente até o momento do uso.

Ao mesmo tempo, foram incubados tubos com os mesmos meios de cultura, mas sem fazer uso de sementeira, a fim de servir de testemunha para a inocuidade do meio como

garantia de sua qualidade (Figura 8), aumentando assim a confiabilidade do procedimento de preparação.

Figura 8 Incubação de meios não inoculados em estufa para certificação de qualidade do meio de cultura



FONTE: O AUTOR

Este teste deve ser aplicado como controle de qualidade, para eximir o pesquisador de diagnósticos falso positivos, decorrente de contaminação do meio durante o preparo, mesmo quando o procedimento é realizado com materiais estéreis e com a utilização de um ambiente propício.

A fermentação da lactose presente no CL leva a produção de ácido e gás, sendo este último evidenciado pela formação de bolhas no interior do tubo de Durham, e segundo recomendação de Brasil (2003) são considerados como positivos a formação de gás mínima de 1/10 do volume total do referido tubo.

Constatados tubos positivos, indicativo de contaminação pelo método presuntivo de coliformes totais, foi realizado o registro dos mesmos, com leitura dos NMP/g através da tabela (Anexo A). Posteriormente eles foram utilizados para realizar o teste confirmativo, nos quais foi introduzida uma alçada de platina para a retirada de uma amostra do inoculado de

cada cultura, sendo a mesma transferida para tubos de Caldo Verde Brilhante (CVB) à 2% com tubos Duran invertidos. Na composição do CVB encontra-se água destilada, peptona, bile bovina, lactose e verde brilhante, e a partir dos sais biliares inibe o crescimento de bactérias gram positivas (HAJDENWURCEL,1998).

Na sequência do procedimento os tubos passaram por um processo de incubação a 35°C por 24 horas, e concomitantemente foi realizada incubação em Caldo Echerichia coli (CEC), em cuja composição se encontra caseína, lactose, sais biliares, fosfato de potássio, fosfato monopotássico e cloreto de sódio (Figura 9).

Figura 9 Utilização de CVB e CEC em tubos de ensaio com tubos Duran invertido como método confirmatório para coliformes totais



FONTE: O AUTOR

A incubação ocorreu a uma temperatura de 44- 45°C durante 24 horas, no qual observou-se o crescimento de bactérias anaeróbicas a partir da produção de gás nos dois tipos de caldos.

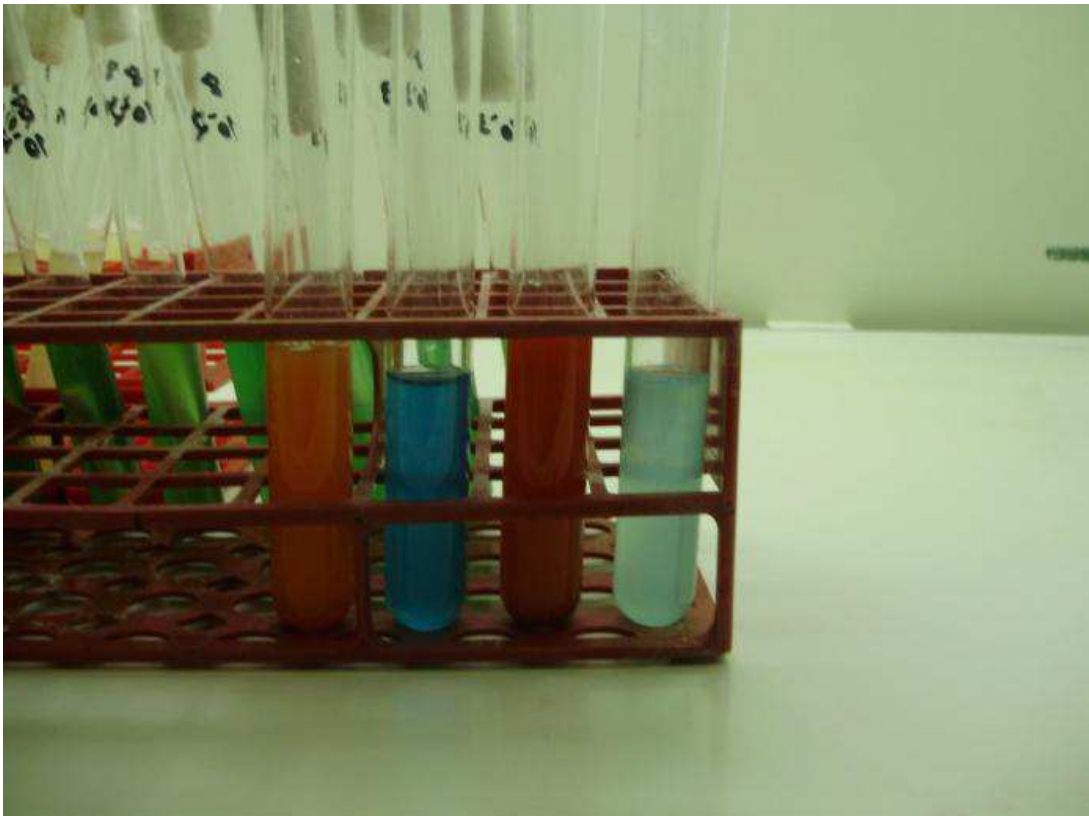
Justifica-se a utilização dos dois caldos (CVB e CEC), uma vez que ambos são utilizados como métodos confirmativos para coliformes totais e termotolerantes respectivamente . Os tubos que apresentaram produção de gás, identificados previamente com um número específico para cada amostra, teve a contagem de coliformes estimados e

expressos em NMP/g de coliformes totais, a partir da tabela (Anexo A) que determina o NMP/g apropriada às diluições inoculadas.

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

Na pesquisa de *E. coli* foi retirada uma alçada do CEC positivo para termotolerantes, e semeado em estrias sobre os meios ágar EMB e verde brilhante, dispostos em placas de Petri, com um período de incubação de 24h a 35°C, cuja identificação do microorganismo foi feita a partir da visualização de colônias típicas.

Figura 10 Meio de enriquecimento seletivo (CRV e CSC) para pesquisa de *Salmonella sp.* utilizado para prevenir o crescimento da flora acompanhante



FONTE: O AUTOR

Para a pesquisa de *Salmonella sp.* as amostra foram pré-enriquecidas em água peptonada a 1% (AP) e incubadas a 42°C por um período de 24h. Após o término deste tempo iniciou-se o processo de enriquecimento seletivo, onde foi transferido 1 ml da cada amostra diluída em AP para um tubo de ensaio contendo aproximadamente 10ml de caldo selenito cistina (CSC), outro ml para tubo com caldo tetrionato (CTT) e 0,1ml em outro tubo de

ensaio contendo em média 10ml de caldo rappaport vassiliadis (CRV), sendo os mesmos incubados a 42°C durante 24h (Figura 10).

Concluído o prazo de incubação foi iniciado o plaqueamento diferencial a partir dos produtos dos tubos incubados com os três tipos de caldo (CSC, CTT e CRV), nos quais foram mergulhadas hastes de platina, que foram utilizadas para construir estrias na superfície de placas com ágar Hektoen (HE) e outra em ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato (XLD). Concluída a semeadura das placas (Figura 11), as mesmas foram incubadas por 24h a uma temperatura de 37°C, cujo resultado final é determinado pelo aspecto do crescimento de colônias

Figura 11 Semeadura em placa de meio de enriquecimento seletivo para propiciar a diferenciação bacteriana a partir da formação e características das colônias



FONTE: O AUTOR

2.6 Análise de dados

Para a análise dos dados, utilizou-se a tabela do NMP/g (Anexo A), pela técnica de tubos múltiplos com diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} em CL, para pesquisa presuntiva de coliformes totais e caldo verde brilhante como método confirmativo. Para confirmação contaminação por

bactérias termotolerantes usou-se como meio de cultura o CEC, com todos os tubos em triplicata, sendo considerado positivo os que apresentaram formação de gás no interior dos tubos de Durhan. Os resultados obtidos foram comparados com o Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos (Anexo B).

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

O tratamento estatístico adotado foi descritivo simples, com a frequência estabelecida em termos percentuais, quantificados como sendo dentro e fora dos padrões e posteriormente confrontados à luz da literatura pertinente e com a legislação vigente.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma melhor visualização dos dados, os mesmos foram agrupados em quadros a fim de facilitar a interpretação dos resultados, sendo dispostos em dois momentos, um que descreve a caracterização da amostra e outro que apresenta a contagem de coliformes fecais e totais.

O quadro 2 foi construído a partir das informações coletadas junto aos comerciantes, através da ficha de cadastro (Apêndice A).

Quadro 2 Caracterização das amostras de queijo coletadas com informações colhidas no local de comercialização

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

(*) Não informado

A partir dos dados apresentados percebeu-se que no tocante a procedência da amostra, apenas 01(8,33%) foi fabricado no município do estudo, 9 (75%) eram fabricados em municípios do próprio estado e 2 (16,67%) provenientes de Estados vizinhos. A média de venda de queijo mensal nestes estabelecimentos gira em torno de 81,6 kg semanal, o que fornece um bom suporte financeiro aos produtores, porém os dados sugerem que, para o município em estudo a venda do leite in natura, bem como a fabricação de queijo manteiga são mais representativas para os produtores deste município do que o queijo de coalho.

A comercialização dos mesmos ocorre na maioria das vezes sem refrigeração, com 7 (58,33%) representando esta condição, onde os queijos para comercialização são expostos em balcão, fato comum nas tarimbas. Já os que são comercializados sob

refrigeração, representados por 5 amostras (41,67%), são expostos em balcões refrigerados que foram encontrados nos supermercados e queijeira.

No estudo 100% das amostras estavam embaladas de forma inadequada, pois não obedeciam as recomendações exigidas pela legislação. A forma de exposição do queijo durante a comercialização, por si só, não é suficiente para garantir índices microbiológicos dentro dos limites aceitáveis como preconiza a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº12 (5×10^2), visto que a contaminação pode ocorrer diretamente no processo de fabricação pela ausência de BPF e pela qualidade da matéria prima utilizada, entretanto Brasil (2001) recomenda através do Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos de alimentos que o acondicionamento do queijo deve ser em temperatura não superior a 12°C e embalados bromatologicamente apta com ou sem vácuo.

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

Com relação à forma de fabricação do queijo, 100% da amostra foi produzida com leite cru, sem passar por um processo de maturação, uma vez que a média do nº de dias de fabricação foi de 2,4, e a portaria ministerial 146 (BRASIL, 1996) determina que o processo de maturação a uma temperatura superior aos 5° C, seja aplicado nos queijos fabricados com leite sem pasteurização, durante um tempo não inferior a 60 dias.

Ainda referente ao processo de fabricação 7 elementos (58,33 %) da amostra tiveram o soro ou massa aquecida, procedimento denominado pelo comerciante como “queijo pré-cozido”, e 5 (41,67%), não passaram por este processo. No entanto, esse procedimento aparentemente não foi utilizado para melhoria na qualidade microbiologia, haja vista não se tratar de um processo de pasteurização, procedimento que não foi adotado para nenhuma das amostras, mas sim um procedimento de aquecimento para realização de uma segunda dessoragem criando um queijo com uma massa de consistência mais firme que atende as exigências do mercado consumidor.

A adoção deste procedimento vai ao encontro do que referencia Beux (2011), quando a mesma afirma que o cozimento é utilizado para melhorar a dessora influenciando na expulsão do soro pela formação de ligações intermicelares com a consequência retração do coágulo.

O Quadro 3 foi construído a partir do resultado das análises laboratoriais das amostras coletadas junto aos comerciantes.

Quadro 3 Contagens de coliformes totais e fecais (termotolerantes) pelo método do Numero Mais Provável por grama (NMP/g) e plaqueamento diferencial para *E. coli* e *Salmonella sp.*

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

A partir dos resultados da análise microbiológica detectou-se que a presença de coliformes totais e termotolerantes ficaram acima de 10×10^2 NMP/g, e a legislação brasileira vigente apresenta como limite máximo de tolerância para os referidos 5×10^2 NMP/g. Conforme a distribuição dos dados infere-se que 100% da amostra encontra-se com coliformes apresentando valores superiores a 1.000 NMP/g, o que de acordo com as normas regulamentares (RDC 12), pode-se definir que o produto está impróprio para a comercialização e consequentemente para o consumo humano.

A contagem de coliformes totais é utilizada como indicador higiênico, e a presença de coliformes 45° C e *E. coli* nas amostras indica que material fecal entrou em contato com o alimento, de forma direta ou indireta, o que implica dizer que outros patógenos entéricos podem estar presentes no queijo.

Com valores tão acima do estabelecido pela legislação, pode-se questionar a qualidade da matéria prima, e reafirmar a ausência das BPF, o que leva ainda a uma condição

crítica, pois como as amostras foram coletadas em pontos comerciais, os produtos chegaram a mesa do consumidor sem o devido controle de qualidade, e estas muitas das vezes o consome cru, levando os patógenos diretamente ao seu trato intestinal, favorecendo assim a instalação de DTA.

Estudos realizados por Santana et al (2008) em Aracaju – SE e por Alves et al (2009) em São Luiz - MA reafirmam este achado, onde os resultados dos seus trabalhos apontam contaminação do queijo de coalho por coliformes totais e termotolerantes superiores ao definido pela legislação nacional, e os autores atribuem este fato as más condições de higiene no processo de produção.

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

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

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

Para minimizar este problema, é recomendado que o queijo de coalho seja produzido com leite pasteurizado, fato regulamentado pela IN nº 30 e Portaria 146, que exclui da obrigatoriedade de tratamento térmico, os produtos submetidos a processo de maturação durante um tempo superior a 60 dias. Porém é fato comprovado que estas normas não são obedecidas nas unidades produtoras onde não existe o acompanhamento de órgãos de fiscalização, haja vista que a maioria da produção de queijo de coalho é realizada com leite cru.

A ANVISA em 2004 aprovou o Regulamento Técnico das Boas Práticas para Serviços de Alimentação por meio da RDC N° 216. A desobediência à essa Resolução configura infração de natureza sanitária, conforme rege a Lei Federal de n° 6.437, de 20 de agosto de 1977, dispositivos também adotados entre Estados e Municípios, porém o que se vê na prática dos órgãos de fiscalização é que a aplicabilidade das BPF restringe-se as unidades produtivas reguladas por esses órgãos, representando uma pequena parcela de produtores deste tipo de queijo.

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

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

Para resolver este problema se faz necessária o aumento do contingente de técnicos nas entidades competentes, para que possa haver uma fiscalização mais efetiva e eficiente, além da capacitação dos pequenos produtores em BPF, uma recomendação que tem sido feita em todos os trabalhos realizados em que se identifica contaminação em alimentos. No entanto, a região Nordeste tem-se mostrado carente quanto a estas recomendações essenciais que devem ser adotadas para a obtenção de um produto seguro, seja por estímulo por parte de instituições ou por falta de interesse dos pequenos produtores.

Esta capacitação deve ser realizada mediante oficinas, cursos, palestras, dia de campo e divulgação em meios de comunicação, com a participação dos diversos setores: Universidades, Secretária de Agricultura, EMATER, Vigilância Sanitária, através de um trabalho intersetorial e multidisciplinar, de forma que sejam estabelecidas medidas, traçadas com e para os produtores, afim de que os mesmos possam ofertar um produto com qualidade microbiológica, e assim agregar valor ao produto, visto que o mesmo não irá oferecer risco à população consumidora.

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

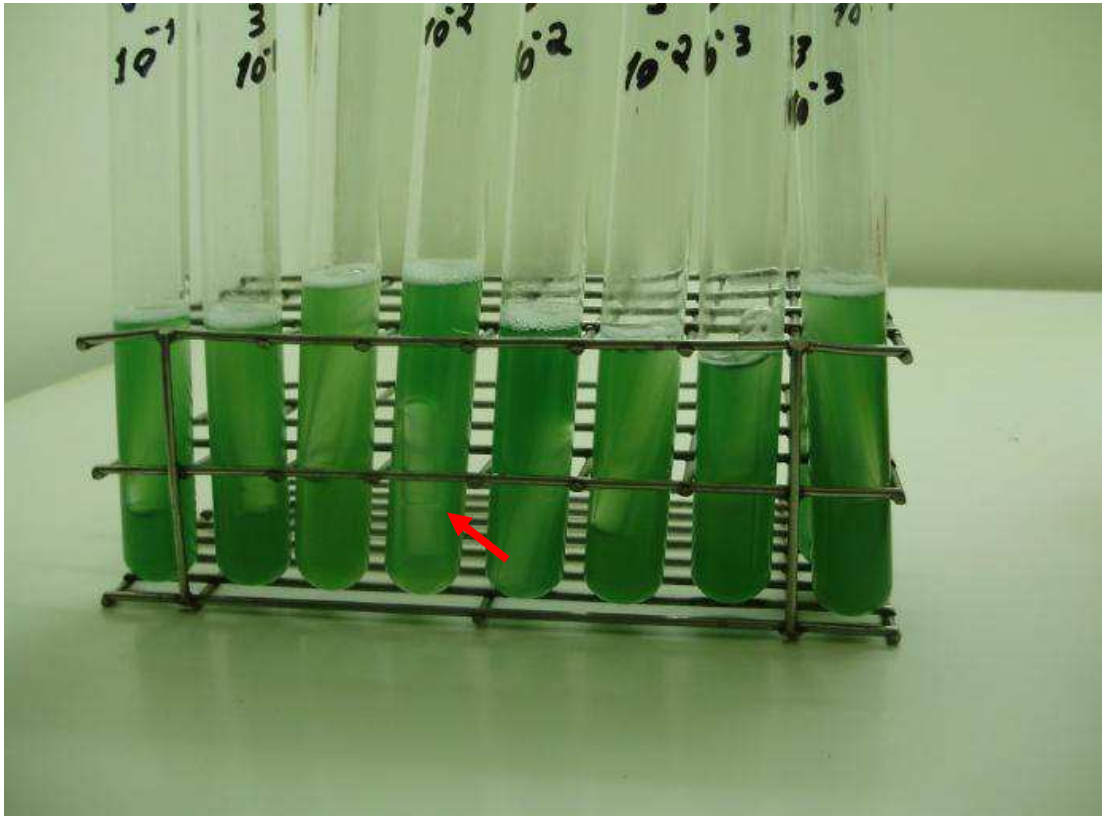
Figura 12 Fermentação do meio com produção de gás em CL evidenciado pela formação de bolha no interior do tubo Durhan



FONTE: O AUTOR

A Figura 12 retrata a utilização do CL para inoculação da fração retirada da amostra homogeneizada. Esta técnica é aplicada para que, na existência de bactérias anaeróbicas, as mesmas possam ter seu crescimento favorecido, e através da fermentação da lactose presente no meio de cultura causar a produção de gás. Neste caso, este processo pode ser observado a partir da formação de gás no interior de todos os tubos Durhan, que preenche mais de 1/10 da capacidade do tubo, sendo por isso, conforme a legislação nacional adotada, considerado como positivo servindo como meio presuntivo para presença de bactérias do grupo coliformes.

Figura 13 Produção de gás em CVB confirmando a ação de bactéria Gram negativa, uma vez que os sais biliares inibem o crescimento de bactéria G. positiva



FONTE: O AUTOR

O Caldo VB é o meio utilizado para a confirmação do teste presuntivo para coliformes uma vez que entre os seus constituintes encontram-se os sais biliares, que inibem o desenvolvimento de organismos não coliformes. A formação de bolha no interior do tubo Durhan, evidenciado na Figura 13, é um indicativo da produção de gás pela ação fermentativa da lactose por bactérias anaeróbicas que inclui os gêneros *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. O fato de todos os tubos apresentarem o gás, é que permite estabelecer o NMP/g, como um valor maior que 1100 (Anexo A).

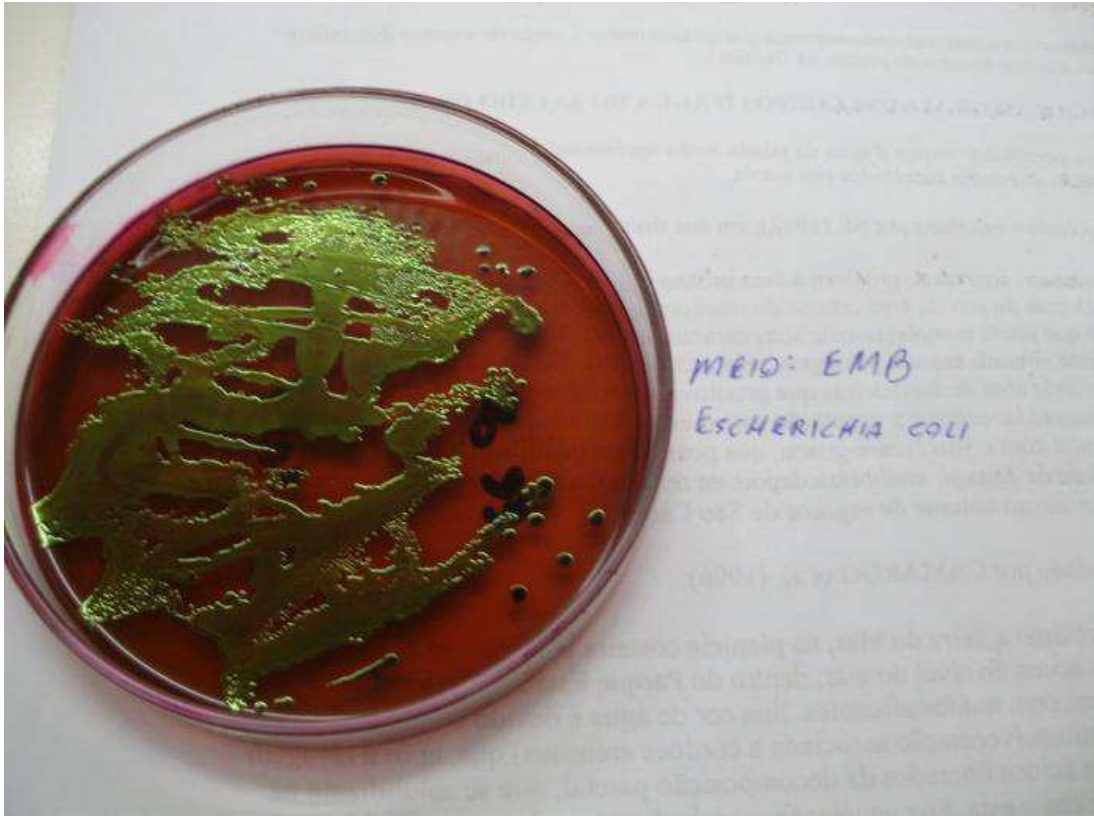
Figura 14 Produção de gás em CEC quando incubado a 44°C significando a presença de bactéria termotolerantes, compatível com coliformes fecais



FONTE: O AUTOR

A Figura 14 mostra a utilização de CEC para diferenciação de coliformes termotolerantes, nas quais estão incluídas a *E. coli*, *Enterobacter* e *Klebsiella*. Para tanto as amostras positivas no teste presuntivo (CL) foram incubadas neste meio por 24h à 44°C, e possibilitando a leitura da presença de bactérias termotolerantes através da produção de gás no tubo Durham, como evidenciado na Figura. Porém, como este método não é específico apenas para *E. coli*, mas sim para microrganismos termotolerantes, e sendo interesse de investigação neste estudo a presença de *E. coli* meio, visto que ela é estritamente fecal, faz-se necessário a identificação da mesma, por meio de plaqueamento em meio seletivo o qual se fez com a utilização de Agar Eosina Azul de Metileno (EMB), meio seletivo onde *E. coli* cresce abundantemente, apresentando uma característica típica que é cor verde metálico brilhante, diferente de outros microrganismos que também podem desenvolver-se neste meio sendo necessária a realização de outros testes como os bioquímicos quando se pretende uma completa identificação de outros agentes o que não foi objeto desse estudo.

Figura 15 Colônias típicas de *E. coli*, apresentando coloração verde metálico em Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)

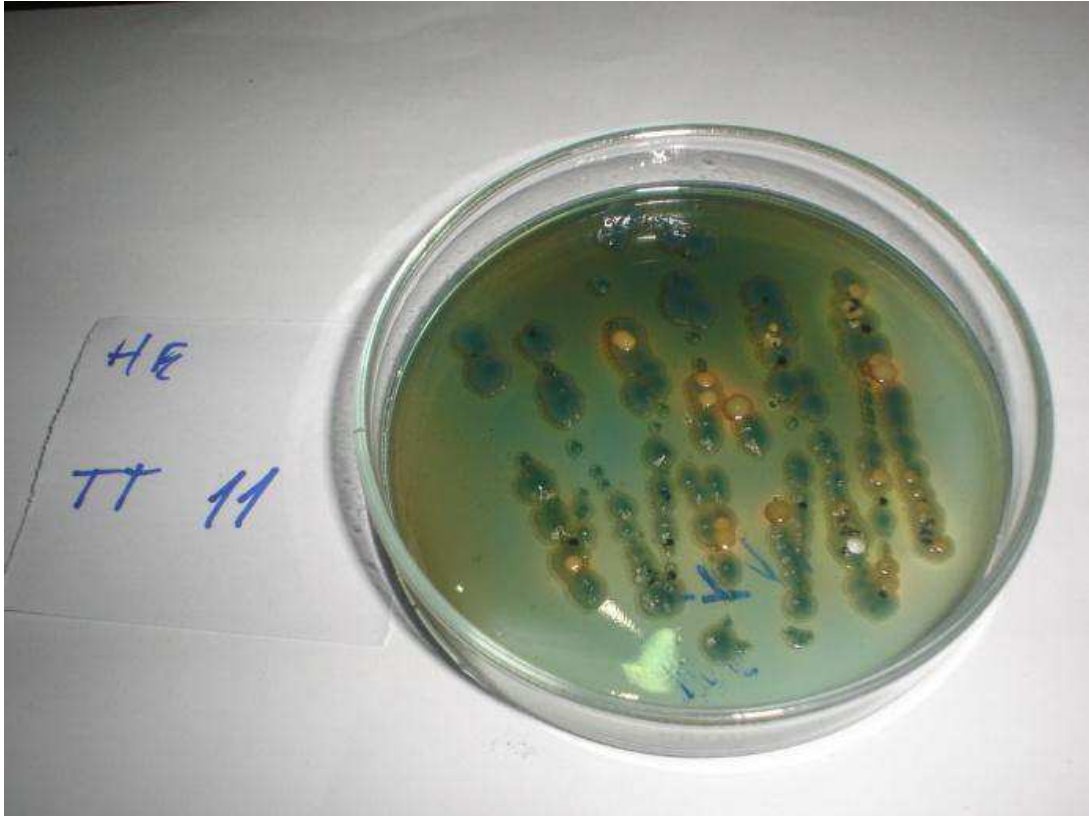


FONTE: O AUTOR

Nesta placa (Figura 15) e em todas as outras, foi utilizado o meio EMB, onde, dentre seus diversos componentes, a eosina e o azul de metileno permitem a inibição do crescimento de bactérias Gram positivo, conduzindo a diferenciação entre os microorganismos fermentadores e não fermentadores de lactose (HAJDENWURCEL, 1998). A partir deste princípio, é possível a identificação de *E. coli* pela visualização de colônias na cor verde com brilho metálico, como resultado da reação da eosina em meio com pH baixo devido a produção de ácido conseqüente da fermentação da lactose.

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

Figura 16 Colônias de *Salmonella sp.* em meio HE – enriquecido em CTT, apresentando pontos amarelados sugestivo de contaminação por *Proteus* ou *Klebsiella*

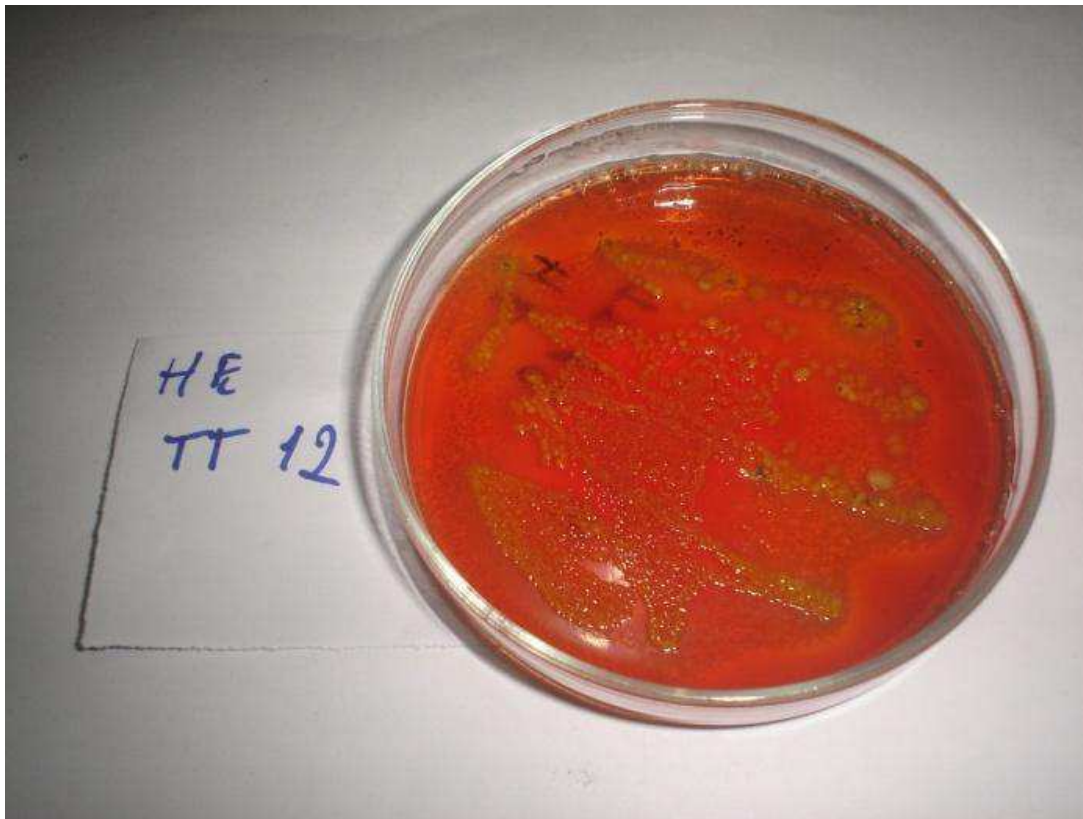


FONTE: O AUTOR

Na Figura 16 é possível visualizar a formação de colônias em tonalidades de verdes azulado mais escuras que o meio, e com isso confirmamos nesta placa o crescimento de *Salmonella sp.* Além disso, evidencia-se a formação de pontos negros devido a produção de H_2S (ácido sulfúrico) pelas bactérias, que reagiu com o Tiosulfato de sódio e o citrato de ferro amoniacal, uma condição que compartilhada com Hajdenwurcel (1998). O crescimento de colônias na coloração amarelo alaranjado é sugestivo do crescimento *Proteus*, *Klebsiella* ou ainda indicar *E.coli*, sendo, portanto, fundamental para identificação da colônia acompanhante a realização de testes bioquímicos apesar deste meio ser padrão para o isolamento de *Salmonella sp.* e *Shigella sp.*

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

Figura 17 Colônias de *E. coli* em meio HE - enriquecido em CTT, com destaque para mudança da cor do meio de verde para vermelho



FONTE: O AUTOR

Na Figura 17, percebe-se o crescimento de *E. coli*, através da formação de colônias no meio HE, como resultado da fermentação de lactose, sacarose e salicina que fazem parte da formulação deste meio. Este indicativo é evidenciada pela mudança na coloração do meio, que passou de verde para vermelho e as colônias com tom amarelado.

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

4 CONCLUSÕES

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

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

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

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

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

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

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

A parceria entre órgãos técnicos e de ensino deve ser adotada para a capacitação de produtores de queijo, tendo como base a implantação do protocolo para obtenção de

alimentos com qualidade microbiológica (Apêndice D), a fim de garantir aos mesmos um produto que lhe garanta uma boa renda e não coloque em risco a saúde do consumidor;

É necessário a realização de novas pesquisas que busquem identificar os pontos de contaminação na cadeia produtiva, a fim de fornecer subsídios aos órgãos fiscalizadores para que os mesmos possam atuar com mais pontualidade.

5 BIBLIOGRAFIA

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

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

BD. **Instruções de Utilização – Meios em Placas Prontos a Usar**, PA-254014.04, Rev.: June 2009. Disponível em: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=9065> Acessado em: 12 de Janeiro de 2012

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

BRASIL. Ministério da Agricultura. 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, 11 mar. 1996, Seção 1, p.3977-3978.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 12, de 02/01/2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. p.1-54. Brasília: 2001.

_____. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa N° 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União de 18/09/2003, Seção 1, Página 14, Anexos V e IX.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamentos Técnicos sobre de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html. Acessado em: 15 setembro de 2011.

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

HAJDENWURCEL, J. R. **Atlas de microbiologia de alimentos**. Fonte Comunicação e editora. São Paulo, Volume I, 66p. 1998).

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

RICHARDSON, R. J. **Pesquisa Social: Métodos e Técnicas**. 3ª ed. 11. reimpressão. São Paulo, Atlas, 2010.

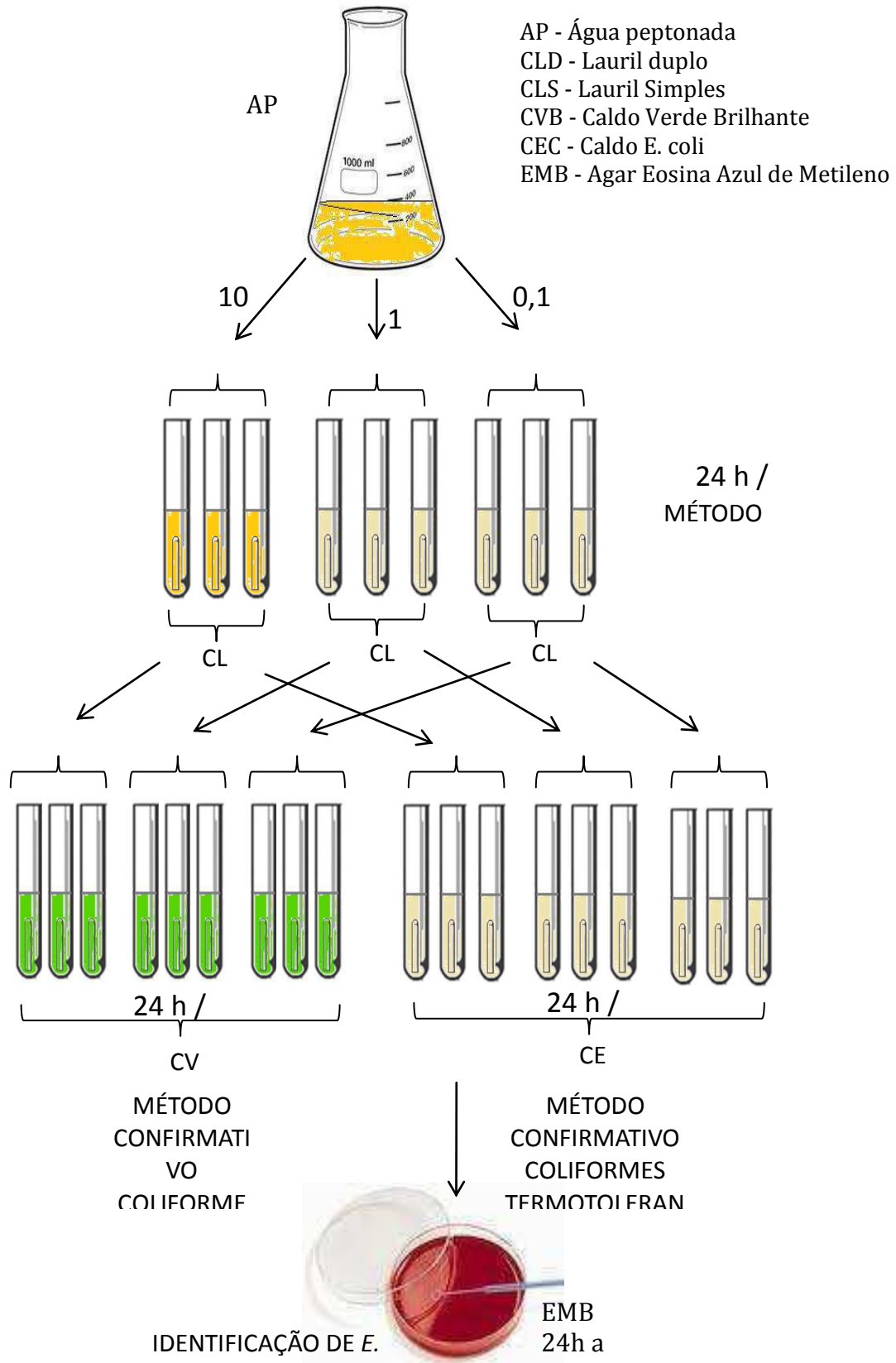
SALOTTI, B.M. et al. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. Arq. Inst.Biol., v.73, p. 171-175, 2006.

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

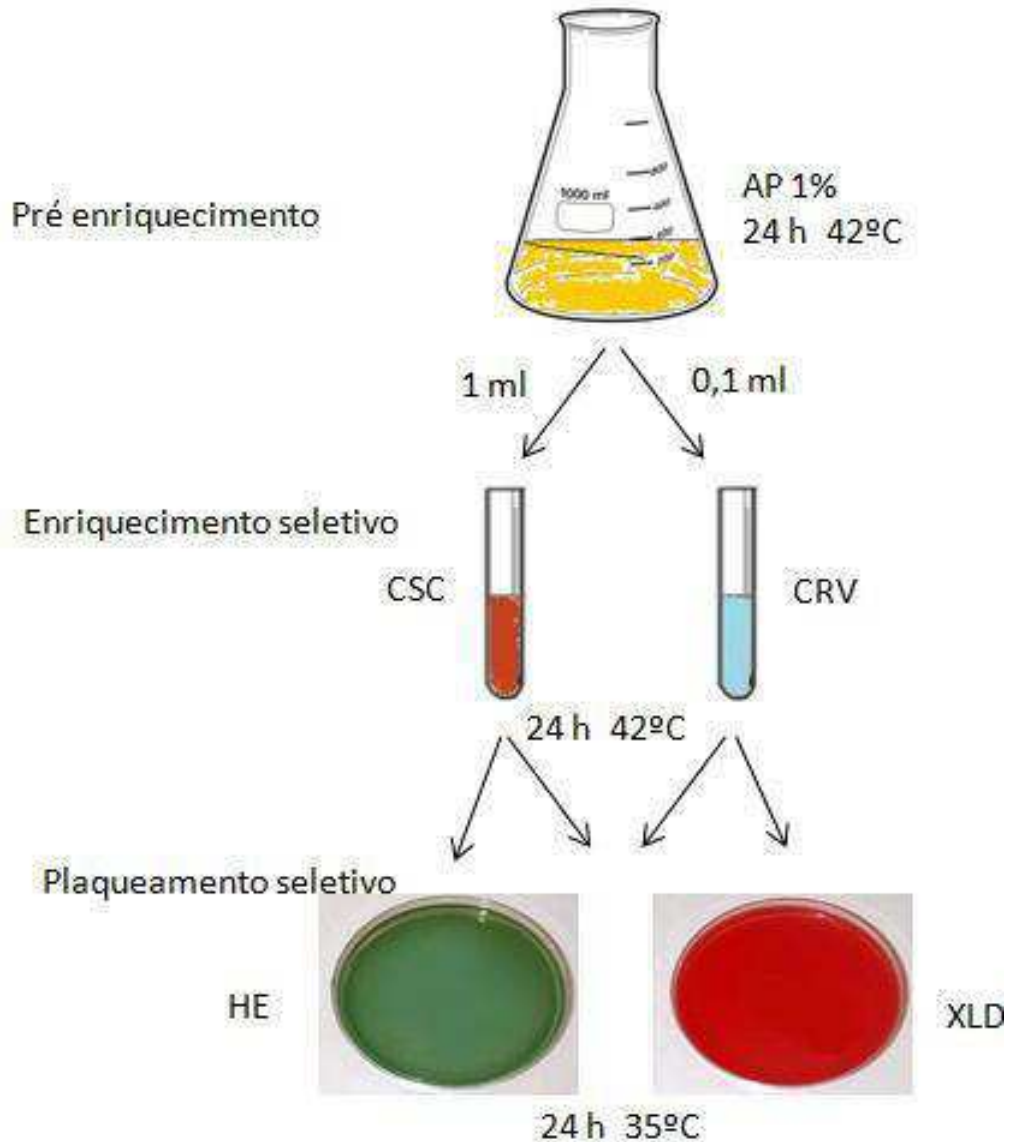
APÊNDICE A - Ficha de cadastro da amostra

1. Número da amostra:
2. Data da coleta:
3. Nome do comerciante:
4. Endereço comercial:
5. Data do recebimento do produto para comercialização:
6. Quantidade comercializada por semana:
7. Tempo médio para venda:
8. Forma de acondicionamento:
9. Nome do produtor:
10. Endereço:
11. Data de fabricação do produto:

APENDICE B - Esquema demonstrativo do procedimento utilizado para pesquisa de coliformes, coliformes termotolerantes e *E. coli*



APENDICE C - Esquema demonstrativo do procedimento utilizado para pesquisa de *Salmonella sp.*



AP – Água peptonada

CSC – Caldo Selenito Cistina

CRV - Caldo Rappaport Vassiliadis

HE - Ágar Hektoen

XLD - ágar Xilose-Lisina-Desoxicolato

APENDICE D - Protocolo para obtenção de queijo com qualidade microbiológica

1. Efetivar o cadastramento de todos os produtores de queijo pela Secretaria de Agricultura municipal;
2. Efetivar o cadastramento dos fornecedores de queijo pela Vigilância Sanitária;
3. Cruzar informações dos bancos de dados da Secretaria de Agricultura e Vigilância Sanitária;
4. Criar o Sistema de Inspeção Municipal;
5. Oferecer curso de Boas Práticas de Fabricação para todos os produtores de queijo;
6. Adequar a estrutura física das queijeiras, conforme a realidade de cada uma, a partir da iniciativa privada dos produtores e fiscalização dos órgãos competentes;
7. Implantar a pasteurização lenta do leite a ser utilizado na fabricação de queijo não maturado para consumo, conforme passos:
8. Fabricar queijo com leite cru apenas para aquele maturado, confeccionado com matéria prima obtida dentro das BPF e oriunda de rebanho com atestado de acompanhamento Médico Veterinário;
9. Padronizar a embalagem para evitar a contaminação pela exposição e manipulação do produto;
10. Padronizar a rotulagem dentro das normas do SIM que possibilitem o rastreamento do produto;
11. Estruturar laboratórios para análise microbiológica sistemáticas de produtos lácteos;
12. Manter fiscalização contínua para combater o comércio de queijos que não atendem as exigências do SIM, impedindo a concorrência desleal dos produtos que infringem as normas;
13. Adesão dos municípios ao Sistema Unificado de Atenção à Sanidade Agropecuária (SUASA) para facilitar as comercializações intermunicipais e interestaduais.

APENDICE E - Diferentes meios de enriquecer seletivo para *Salmonella sp.*

Figura 18 Colônias de *Salmonella sp.* em HE- enriquecido com CSC



FONTE: O AUTOR

Figura 19 Colônias de *Salmonella sp.* em meio HE – enriquecido em CRV



FONTE: O AUTOR

Figura 20 Colônias de *Salmonella sp.* em meio XLD – enriquecido CSC



FONTE: O AUTOR

Figura 21 Colônias de *Salmonella sp.* em meio XLD – enriquecido em CRV



FONTE: O AUTOR

ANEXO A - Tabela do Número Mais Provável por 100ml, para séries de 3 tubos com inóculos de 10 ml, 1,0 ml e 0,1 ml, e respectivos intervalos de confiança 95%

Número de Tubos Positivos			NMP/g ou ml	Intervalo Confiança (95%)	
10	1,0	0,1		Inferior	Superior
0	0	0	<3,0	.-	9,5
0	0	1	3,0	0,15	9,6
0	1	0	3,0	0,15	11
0	1	1	6,1	1,2	18
0	2	0	6,2	1,2	18
0	3	0	9,4	3,6	38
1	0	0	3,6	0,17	18
1	0	1	7,2	1,3	18
1	0	2	11	3,6	38
1	1	0	7,4	1,3	20
1	1	1	11	3,6	38
1	2	0	11	3,6	42
1	2	1	15	4,5	42
1	3	0	16	4,5	42
2	0	0	9,2	1,4	38
2	0	1	14	3,6	42
2	0	2	20	4,5	42
2	1	0	15	3,7	42
2	1	1	20	4,5	42
2	1	2	27	8,7	94
2	2	0	21	4,5	42
2	2	1	28	8,7	94
2	2	2	35	8,7	94
2	3	0	29	8,7	94
2	3	1	36	8,7	94
3	0	0	23	4,6	94
3	0	1	38	8,7	110
3	0	2	64	17	180
3	1	0	43	9	180
3	1	1	75	17	200
3	1	2	120	37	420
3	1	3	160	40	420
3	2	0	93	18	420
3	2	1	150	37	420
3	2	2	210	40	430
3	2	3	290	90	1000
3	3	0	240	42	1000
3	3	1	460	90	2000
3	3	2	1100	180	4100
3	3	3	>1100	420	.-

Fonte: BRASIL, 2003

ANEXO B - Padrão Microbiológico para Queijo de Coalho

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA
QUEIJO		
De muito alta umidade: umid 55%, incluindo os queijos de coalho com umidade correspondente, minas frescal, mussarela (mozzarella, muzzarella) e outros, elaborados por coagulação enzimática, sem a ação de bactérias lácticas	Coliformes a 45°C * Estaf.coag.positiva/g** <i>Salmonella sp</i> /25g <i>L.monocytogenes</i> /25g	5x10 ² 5x10 ² Ausência Ausência

* A denominação de "coliformes a 45°C" é equivalente à denominação de "coliformes de origem fecal" e de "coliformes termotolerantes"

**A enumeração de estafilococos coagulase positiva tem por objetivo substituir a determinação de *Staphylococcus aureus*.

Adaptado da RDC 12, da ANVISA / MS