

**LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
FACULDADE NATALENSE PARA O DESENVOLVIMENTO
DO RIO GRANDE DO NORTE**

MARCELA FRIAS DUTRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS DE COALHO COMERCIALIZADOS NA
CIDADE DE NATAL-RN**

NATAL – RN

2009

MARCELA FRIAS DUTRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS DE COALHO COMERCIALIZADOS NA
CIDADE DE NATAL-RN**

Monografia apresentada ao curso de Nutrição da Faculdade Natalense para o Desenvolvimento do Rio Grande do Norte, como requisito obrigatório para obtenção do título de Nutricionista.

Orientadora: Monique Silveira Rosa (Msc.)

NATAL – RN

2009

MARCELA FRIAS DUTRA

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS DE COALHO COMERCIALIZADOS NA
CIDADE DE NATAL-RN**

Monografia apresentada ao curso de Nutrição da Faculdade Natalense para o
Desenvolvimento do Rio Grande do Norte, aprovada em 07/12/2009 pela banca
examinadora composta pelos seguintes membros:

Monique Silveira Rosa, Msc.
Orientadora

Valtêmia Porpino Gomes da Costa
Membro Examinador

Célia Regina Barbosa de Araújo
Membro Examinador

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guiar e me dar forças em todos os momentos e tornar tudo isto possível.

À toda minha família, que de alguma forma torceu pelo meu sucesso; aos meus irmãos, **Breno e Nídia**, por estarem sempre presentes e à **Allan Oliveira**, pelo companheirismo, paciência e amor.

Aos amigos e colegas de faculdade, por dividir experiências e todos os trabalhos realizados, em especial à **Marina Macêdo**, que além de ser colega de faculdade e de profissão, é amiga de longa data, sempre me apoiando, me escutando e que me ajudou muito durante esses quatro anos de jornada.

Às supervisoras de estágio, Ada Moura, Paula Bessa e Ana Sílvia Martins, por todo aprendizado adquirido diariamente e que contribuíram para meu crescimento profissional.

Aos professores, pelo compartilhamento de conhecimentos e atenção, que permitiram alcançar este objetivo

À orientadora Monique Silveira Rosa, por ser um exemplo e por toda a dedicação, auxílio e disponibilidade, e que sem seu incentivo e ensinamento, nada disso seria possível.

Especialmente aos meus pais, Marcelo e Edna Dutra, a quem os amo e os admiro, por terem proporcionado a minha educação, por sempre acreditarem em mim e me apoiarem em qualquer decisão e por serem responsáveis pela pessoa que sou hoje. Amo vocês.

"Não se pode trabalhar sem combustível, porque a máquina humana é igual a qualquer outra e o combustível da máquina humana é o alimento."

(Josué de Castro)

RESUMO

O queijo de coalho é um importante produto regional produzido em toda a região Nordeste, sendo o estado do Rio Grande do Norte um dos principais produtores. A maioria desses queijos tem sua origem ligada à fabricação artesanal. Como no processo da elaboração do leite (sendo comum o emprego de leite cru) não existe nenhum tipo de padronização, a saúde dos consumidores fica em risco, já que o queijo fica suscetível à contaminação de vários microrganismos patogênicos. O processo para a fabricação do queijo de coalho regional consiste em várias etapas, sendo elas a matéria-prima, pasteurização, resfriamento, adição de ingredientes, coagulação, corte da coalhada, dessoragem, salga, pré prensagem (opcional), enformagem, prensagens, aplicação de antimio, maturação e embalagem. Uma manipulação inadequada de alimentos pode levar a contaminação, através de perigos químicos, físicos ou biológicos, provocando riscos à saúde humana, por isso, o treinamento de manipuladores é um dos procedimentos de maior relevância para a prevenção da contaminação de alimentos durante as diferentes fases de preparo. Tal trabalho objetiva analisar a qualidade microbiológica dos queijos de coalho comercializados na cidade de Natal-RN. Foram analisadas 20 amostras de queijos de coalho, provenientes de quatro estabelecimentos distintos, coletadas em diferentes pontos na cidade de Natal, na qualidade de consumidor. A análise realizada foi a determinação de coliformes à 45°C, pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva e pesquisa de *Salmonella* sp. e a metodologia aplicada na pesquisa foi a preconizada pelo FDA (Food and Drug Administration). Das amostras analisadas, foram observadas que 30% apresentaram uma contaminação por bactérias do grupo coliformes à 45°C, encontrando-se acima do padrão legal permitido pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), com um NMP (Número Mais Provável) apresentado de $\geq 2400/g$. Para *Staphylococcus*, apenas três amostras encontraram-se contaminadas, com contagens de 10×10^1 UFC/g, $5,1 \times 10^1$ UFC/g e $1,7 \times 10^2$ UFC/g, estando dentro do permitido, no qual o limite máximo é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Uma amostra (5%) positivou para *Salmonella* sp., estando fora dos padrões permitidos, já que o preconizado para queijos de coalho é a ausência deste microrganismo. Portanto, evidenciam-se a necessidade de maiores cuidados na manipulação deste alimento, desde a sua fabricação até a distribuição final do produto, para uma maior segurança alimentar, devido a um percentual significativo das amostras que se apresentaram acima dos padrões legais permitidos para bactérias do grupo coliformes à 45°C e para *Salmonella* sp.

Palavras-Chave: Queijo de Coalho. Microrganismos. Manipulação.

ABSTRACT

The “coalho” cheese is an important regional product produced throughout the Northeast Region, and the state of Rio Grande do Norte is one of the main producers. Most of these cheeses have their origin linked to homemade. As in the preparation of milk (which is common to use raw milk) does not exist any kind of standardization, consumer health is at risk, since the cheese is susceptible to contamination of various pathogenic microorganisms. The process for the manufacture of “coalho” cheese regional consists of several steps, and they are the raw material, pasteurization, cooling, adding ingredients, coagulation, cutting the curd, dessoragem, salting, pre press (optional) enformagem, pressings, application anti mold, maturation and packaging. Poor handling of food can lead to contamination through chemical hazards, physical or biological, causing risks to human health, therefore, the training of handlers is one of the most relevant procedures to prevent contamination of food during the different phases preparation. This paper aims to analyze the microbiological quality of “coalho” cheese sold in the city of Natal-RN. We analyzed 20 samples of “coalho” cheese, from four separate establishments, collected at different points in the city of Natal, as a consumer. The analysis was the determination of coliforms at 45°C, *Staphylococcus* coagulase positive and *Salmonella* sp. and the methodology applied in the research was advocated by the FDA (Food and Drug Administration). Among all samples, we observed that 30% had a contamination with coliform bacteria at 45°C and is above the legal standard allowed by ANVISA (National Health Surveillance Agency), with an MPN (Most Probable Number) presented $\geq 2400/g$. For *Staphylococcus*, only three samples were found contaminated with scores of 10×10^1 UFC/g, $5,1 \times 10^1$ UFC/g and $1,7 \times 10^2$ UFC/g, and the permissible limit, in which the ceiling is $5,0 \times 10^2$ UFC/g. A sample (5%) positive for *Salmonella* sp., being allowed out of the box, as recommended for the “coalho” cheese is the absence of this microorganism. Thus, reveal the need for greater care in handling of food, from manufacturing to the final distribution of the product for greater food security, due to a significant percentage of samples that registered above the legal standards allowed for bacteria Coliforms at 45 ° C and *Salmonella* sp.

Keywords: “Coalho” Cheese. Microorganisms. Manipulation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Fluxograma da coleta das amostras para as análises microbiológicas em queijos de coalho.....	24
FIGURA 2 - Fluxograma da determinação do NMP de coliformes a 45°C em amostras de queijos de coalho.....	26
FIGURA 3 - Fluxograma da pesquisa de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva em amostras de queijos de coalho.....	28
FIGURA 4 - Fluxograma da pesquisa de <i>Salmonella sp.</i> em amostras de queijos de coalho.....	30
TABELA 1 - Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C em amostras de queijos de coalho comercializados em Natal-RN.....	31
GRÁFICO 1 - Percentual de contaminação por coliformes a 45°C em queijos de coalho comercializados em Natal-RN.....	32
GRÁFICO 2 - Percentual de contaminação por <i>Salmonella sp.</i> em queijos de coalho comercializados em Natal-RN.....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 REFERENCIAL TEÓRICO	12
3.1 PRODUTO REGIONAL	12
3.2 QUEIJO E NUTRIÇÃO	12
3.3 QUEIJO DE COALHO	13
3.4 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA	18
3.5 MICRORGANISMOS PRESENTES EM QUEIJOS DE COALHO	18
3.5.1 <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	19
3.5.2 <i>Salmonella</i> sp.	20
3.5.3 Coliformes fecais (45°C)	21
4 METODOLOGIA	23
4.1 TIPO DE ESTUDO	23
4.2 MATERIAL	23
4.2.1 Amostragem	23
4.3 MÉTODOS	25
4.3.1 Preparação das Amostras	25
4.4 ANÁLISES REALIZADAS	25
4.4.1 Determinação de Coliformes à 45°C (ICMSF, 1978)	25
4.4.2 Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva (ICMSF, 1978)	27
4.4.3 Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp. (ICMSF, 1978)	29
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
6 CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

O queijo de coalho é um importante produto regional produzido em toda a região Nordeste, sendo o estado do Rio Grande do Norte um dos principais produtores.

A maioria desses queijos tem sua origem ligada à fabricação artesanal, em grandes unidades de produção caseira e propriedades rurais de pequeno porte, tornando difícil sua quantificação em estatísticas oficiais e o controle pelos órgãos de inspeção (LEITE et al., 2002).

Como no processo da elaboração do leite (sendo comum o emprego de leite cru) não existe nenhum tipo de padronização, a saúde dos consumidores fica em risco, já que o queijo fica suscetível à contaminação de vários microrganismos patogênicos.

Falhas no controle de qualidade tanto da matéria prima, quanto no seu beneficiamento e estocagem, podem resultar em um produto de má qualidade e em risco de infecções e intoxicações nos consumidores (ZAFFARI et al., 2007).

O processo para a fabricação do queijo de coalho regional consiste em várias etapas, sendo elas a matéria-prima, pasteurização, resfriamento, adição de ingredientes, coagulação, corte da coalhada, dessoragem, salga, pré-prensagem (opcional), enformagem, prensagens, aplicação de antimio, maturação e embalagem (CAVALCANTE et al., 2007).

Um microrganismo terá ou não condições de multiplicação dependendo das suas características físico-químicas dos alimentos e do meio atmosférico que se encontram (SANT'ANA; ARAÚJO, 2007), e sendo o queijo classificado como um produto de muita alta umidade, o meio cria condições e torna mais susceptível para proliferação de microrganismos.

Uma manipulação inadequada de alimentos pode levar a contaminação, através de perigos químicos, físicos ou biológicos, provocando riscos à saúde humana. Por isso, Segundo Germano; Germano (2008), o treinamento de manipuladores é um dos procedimentos de maior relevância para a prevenção da contaminação de alimentos durante as diferentes fases de preparo.

A identificação do nível de contaminação de um determinado alimento é de extrema importância para que se estabeleçam recomendações e aplicações de

medidas preventivas e de controle para garantir uma segurança alimentar, aumentando a vida de prateleira dos alimentos, diminuindo o recolhimento de alimentos do fabricante e, conseqüentemente, diminuindo o risco de toxinfecções (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2000).

A análise da qualidade microbiológica dos queijos de coalho comercializados na cidade de Natal-RN é indispensável devido ao enorme consumo deste produto por toda a população e também devido a pouca existência para investigação de tal produto. Como a contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância para a saúde da população, por causar doenças transmitidas por alimentos, medidas e programas que visem o controle e a proteção da saúde da população devem ser implementadas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a qualidade microbiológica dos queijos de coalho comercializados na cidade de Natal-RN.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar a presença de Coliformes a 45°C, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp. em queijos de coalho comercializados na cidade de Natal-RN.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PRODUTO REGIONAL

Os produtos regionais, que podem ser apresentados sob a forma de artesanato ou produtos alimentares, são a expressão da cultura, tradições, valores e modos de vida de uma região. Entre os produtos alimentares poderão incluir, entre outros, os enchidos, doçarias, compotas, geléias, mel e finalmente o queijo (VALE DO LIMA, 2005).

3.2 QUEIJO E NUTRIÇÃO

Os queijos são fontes essenciais de proteínas de alta digestibilidade, cálcio, potássio, zinco, selênio e vitaminas. Na gordura dos queijos se encontra o CLA, Ácido Linoléico Conjugado, que é responsável por vários benefícios como a redução de gordura corporal, ação imunológica, prevenção de câncer e de arterosclerose (VIA INTEGRAL, 2008).

Em relação às proteínas, o teor de aminoácidos essenciais das proteínas dos queijos lhes confere um alto valor biológico e uma digestibilidade próxima a 95%. Ou seja, as proteínas dos queijos são absorvidas quase integralmente na altura do intestino e fornecem ao organismo os aminoácidos necessários ao seu desenvolvimento.

Os lipídios, que conferem aos queijos sua cremosidade, encontram-se sob forma de emulsão, o que os torna fáceis de serem digeridos e, alguns ácidos graxos livres formados durante a maturação, contribuem para a formação do aroma. Vale notar ainda que nos queijos estão presentes dois ácidos graxos trans: o ácido vacênico e o ácido rumênico, os quais têm efeitos benéficos sobre a saúde (prevenção de câncer, arterosclerose e ação imunológica).

Os benefícios do cálcio sobre a formação dos dentes, ossos e cartilagens e na prevenção da osteoporose já estão amplamente demonstrados, sendo os queijos excelentes fonte de cálcio. No entanto, a presença desse mineral varia em função do teor de umidade e da técnica de fabricação dos queijos.

O teor de vitaminas lipossolúveis dos queijos (A, D e eventualmente E), depende do teor de lipídios. Já o teor de vitaminas hidrossolúveis (grupo B) varia dependendo do tipo de queijo. Na verdade o teor de vitaminas resulta de dois fatores antagônicos: a perda na fase de dessoragem e o enriquecimento durante o processo de maturação. A maioria dos queijos fornece quantidades consideráveis de ácido fólico e de retinol, mas por outro lado são pobres em vitamina C. Os queijos são também importante fonte de zinco, de iodo e de selênio, alguns fornecendo quantidades não desprezíveis de potássio. O teor de fósforo é, em geral, próximo do teor de cálcio (reconhecendo o queijo como papel protetor na prevenção da cárie) e a maioria dos queijos é pobre em magnésio (NUTRIÇÃO E SAÚDE, 2005).

3.3 QUEIJO DE COALHO

Queijo é um alimento sólido feito a partir do leite de vacas, cabras, ovelhas, búfalas e/ou outros mamíferos, sendo produzido pela coagulação do leite. É realizado pela acidificação com uma cultura bacteriana e em seguida, empregando a quimosina (coalho ou substitutos) para transformar o leite em “coalhada e soro” (FANKHAUSER *apud* WIKIPÉDIA, 2008).

Entende-se por queijo de coalho, o queijo que se obtém por coagulação do leite por meio do coalho ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não pela ação de bactérias lácteas selecionadas e comercializado normalmente com até 10 (dez) dias de fabricação, é um queijo de média a alta umidade, de massa semicozida ou cozida apresentando um teor de gordura nos sólidos totais variável entre 35,0% e 60,0% (BRASIL, 2001). É bastante consumido, seja na brasa, assado ou frito, tornando um produto bastante usado na culinária.

A elaboração do queijo exige leites de excelente qualidade, onde as contaminações bacterianas não sejam capazes de produzir desvios nos processos fermentativos ou que sabores estranhos não possam causar mudanças das propriedades organolépticas em detrimento de sua qualidade (SALINAS, 2002).

A bactéria precisa e o processamento da coalhada vão desempenhar uma importante função na definição da textura e sabor da maioria dos queijos, sendo que

alguns queijos apresentam também bolores, tanto na superfície externa quanto no seu interior (WIKIPÉDIA, 2008).

A contaminação microbiana desses produtos assume destacada relevância tanto para a indústria, pelas perdas econômicas, como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos (FEITOSA et al., 2003).

“O queijo de coalho é um importante produto regional derivado do leite produzido em toda a Região Nordeste do Brasil” (NASSU et al., 2007).

No Brasil, principalmente na Região Nordeste, o queijo de coalho é muito apreciado. A maioria desses queijos tem sua origem ligada à fabricação artesanal, em numerosas unidades de produção caseira e propriedades rurais de pequeno porte, tornando difícil sua quantificação em estatísticas oficiais e, portanto, o controle pelos órgãos de inspeção (LEITE et al., 2002, p. 39).

O leite utilizado para a elaboração do queijo, normalmente não recebe nenhum beneficiamento térmico, o que estabelece sérios perigos quanto à contaminação por uma grande variedade de microrganismos (FLORENTINO; MARTINS, 1999).

Não existe padronização do seu processo de elaboração, sendo comum o emprego de leite cru, o que coloca em risco a saúde do consumidor (ESCOBAR et al., 2001).

Segundo Ferreira (2001), sabe-se que na elaboração de queijos, os fermentos ou culturas lácticas desempenham papel importante, porque facilitam a ação do coalho e auxilia na expulsão do soro.

Falhas no controle de qualidade tanto da matéria prima, quanto no seu beneficiamento e estocagem, podem resultar em um produto de má qualidade e em risco de infecções e intoxicações nos consumidores. A maioria dos microrganismos presentes na matéria-prima pode ser eliminada através da pasteurização que, em condições artesanais, pode não ser efetiva (ZAFFARI et al., 2007, p. 863).

Cavalcante et al., (2007) apresentam o protocolo proposto para fabricação do queijo Coalho Regional, como demonstrado no procedimento abaixo:

Procedimento operacional:

- Matéria-prima

Utilizar leite de vaca de boa qualidade, com acidez máxima de 17 °D e padronizar para 3,3% de gordura. Nota: A padronização do leite pode ser realizada por meio de padronizadora industrial ou desnatadeira comum.

- Pasteurização

Aquecer o leite a 65 °C por 30 minutos no próprio tanque de fabricação de aço inoxidável, com capacidade adequada à produção, munido de camisa de vapor e entrada de água fria para resfriamento. Utilizar termômetro e cronômetro aferidos. Esta etapa é ponto crítico para obtenção de um produto dentro dos padrões de segurança alimentar para o consumidor.

- Resfriamento

Resfriar o leite até 35 °C, por meio da entrada de água fria na camisa de vapor do tanque. Empregar um termômetro aferido para controle da temperatura.

- Adição de ingredientes

Adicionar 50 mL da solução aquosa de cloreto de cálcio a 50% e 1 L do fermento láctico endógeno ativado para cada 100 L de leite processado. Em seguida, adicionar o coalho dissolvido em água potável, sem cloro, conforme recomendação do fabricante. Logo após a adição de cada ingrediente, homogeneizar o leite por cerca de dois minutos. Nota: O fermento láctico endógeno pode ser adicionado de duas maneiras:

- a) Por meio de fermento láctico endógeno (F. L. E.), o qual é isolado, cultivado em laboratório especializado e repassado para pequenas queijarias. A quantidade usada de F. L. E. é de 1% do volume de leite processado;
- b) Por meio de soro fermento, o qual é obtido por meio de procedimento simples e higiênico na produção de queijo Coalho do dia anterior. A quantidade usada é de cerca de 3% do volume de leite processado.

- Coagulação

Deixar em repouso por um período de tempo que varia entre 40 e 45 minutos, ou de acordo com as recomendações do fabricante do coalho. Cobrir o tanque com filme plástico transparente com objetivo de manter a temperatura e proteger o leite.

- Corte da coalhada

No ponto de corte, quando a coalhada apresenta aspecto firme e brilhante, cortar a coalhada lentamente com auxílio de liras horizontal e vertical, para obter grãos em formato de cubos de 1,5 a 2,0 cm. No último corte, fazer três movimentos rotacionais na lira vertical para obter grãos do tamanho de ervilha. Deixar a massa em repouso por cerca de 5 minutos, após o corte. Esta etapa é muito importante na textura e no rendimento do queijo.

Mexedura com aquecimento: Iniciar com movimentos leves, com auxílio de um garfo ou pá de aço inoxidável e, aos poucos, aumentar a velocidade dos movimentos durante 25 a 30 minutos, aumentando gradativamente a temperatura da massa até atingir os 45°C. Ao término da mexedura, os grãos apresentam uma consistência firme e brilhante. Ao se pressionar com os dedos, a massa se desagregará facilmente formando pequenos grãos, menores do que grãos de ervilha. Esta etapa é ponto crítico na padronização do produto final.

- Dessoragem

Verificado o ponto dos grãos, retirar cerca de 95% do soro, por meio da abertura de válvula do tanque ou processo de sifonagem.

- Salga

Adicionar sal refinado de boa qualidade na massa, misturando manual e constantemente para a sua homogeneização e para desagregar os grãos da coalhada. A quantidade de sal usada para o queijo Coalho comum é 0,8-1,0% e para o queijo Coalho no espeto ou palito é 1,2%, calculada sobre o volume de leite processado. Nota: A quantidade de sal empregado influencia na qualidade do queijo. Assim, quanto maior for o emprego de sal, melhor a qualidade do queijo para uso no espeto. Entretanto, o emprego do sal deve respeitar o limite ideal tolerado para não inibir o crescimento do fermento láctico.

- Pré-prensagem (opcional)

Arrastar e prensar a massa na extremidade oposta da saída do soro do tanque, com duas placas perfuradas de aço inoxidável (lateral e superior), com o dobro do peso na parte superior, durante 15 minutos. Nota: Este procedimento facilita a obtenção de queijo com textura fechada, peso uniforme e pequenas olhaduras mecânicas. Esta etapa é opcional e pode ser dispensada. No seu lugar, proceder à retirada total do soro

e juntar toda massa numa extremidade do tanque. O sal é distribuído diretamente na massa do queijo antes da enformagem. Este procedimento confere ao queijo uma textura aberta, olhaduras de maior tamanho e em maior número.

- Enformagem

Cortar a massa no tamanho da forma no próprio tanque de fabricação, com auxílio de faca de aço inoxidável e colocar em formas plásticas, retangulares (1.500-3.000 g) forradas com dessoradores para facilitar a formação da casca. Dimensões da forma em milímetros: L 120 x C 252 x H 110. Se não houver a pré-prensagem, colocar manualmente a massa na forma com o dessorador e pressionar para retirada parcial do soro.

- Prensagens

Usar uma prensa convencional, tipo prensa vertical coletiva. A primeira prensagem tem tempo de duração de 15 minutos com pesos de 15 kg. Fazer a viragem dos queijos e realizar a segunda prensagem por cerca de 15 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, retirar os queijos da prensa e das formas. Corrigir eventuais defeitos no formato dos queijos, por meio de aparas, empregando-se faca de aço inoxidável. Pesar os queijos para controle de rendimento da produção.

- Aplicação de antimoho

Aplicar uma solução de natamicina a 0,02% por meio de pulverização manual na superfície dos queijos para prevenir a contaminação de fungos filamentosos e leveduras. Nota: A natamicina é um antimoho eficiente e permitido pela legislação do Mercosul.

- Maturação

Identificar o lote produzido e colocar em câmara fria de 10 a 12 °C e umidade relativa do ar de 75% a 80%, para fazer a secagem e maturação dos queijos. Virar os queijos a cada 24 horas nos primeiros 10 dias de maturação para se obter um produto com casca fina e coloração uniforme. Depois dos 10 dias, realizar os cuidados em intervalos de 2 a 4 dias. Nota: Os queijos devem permanecer por um período mínimo de 10 dias de maturação nas condições mencionadas anteriormente, para desenvolver o sabor, textura e aroma do queijo Coalho tradicional. Ao término deste período, o produto poderá ser liberado para o consumo.

- Embalagem

Após a maturação, embalar os queijos a vácuo com filme tipo *poly-vac* e estocar em câmara fria (10 a 12 °C) até momento da expedição do produto. Nota: Algumas vezes, para atender ao mercado, os queijos são fracionados manualmente ou por meio de máquinas. Atualmente, existe no mercado um equipamento pneumático apropriado para produção de queijo Coalho no palito.

3.4 CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Os microrganismos esporulados vão assumir grande importância na indústria de queijos por serem contaminantes encontrados no solo, fezes e na silagem, em altos níveis de contaminação. Hoje em dia, no Brasil, o padrão microbiológico de qualidade de queijos é definido tanto na produção quanto no comércio varejista, de acordo com MAPA, Portaria n. 146 de 7/3/96 e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, Resolução RDC n. 12, de 2/1/2001 (GERMANO; GERMANO, 2008).

O aumento do número e da gravidade de doenças transmitidas por alimentos têm causado, em todo o mundo, uma preocupação em relação à segurança alimentar. (FORSYTHE, 2005).

O tamanho, formato, grau de maturação, cor, sabor, textura, consistência e grau de frescor de um alimento estão diretamente relacionado com o consumo de um determinado alimento. Essas características não necessariamente devem estar compatíveis e coerentes com as características internas que revelam a segurança química, física e biológica do alimento (SOUZA, 2006).

Dependendo das características físico-químicas dos alimentos e do meio atmosférico que se encontram, um microrganismo terá ou não condições de multiplicação (SANT'ANA; ARAÚJO, 2007).

3.5 MICRORGANISMOS PRESENTES EM QUEIJOS DE COALHO

Recomenda que os microrganismos a serem pesquisados em queijos de coalho sejam os microrganismos *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes a 45°C,

Salmonella sp. e *Listeria monocytogenes*, segundo a resolução 12/01 (BRASIL, 2001). Entretanto, neste trabalho será realizada apenas a determinação de *Staphylococcus* coagulase positiva, Coliformes a 45°C e *Salmonella sp.*

3.5.1 *Staphylococcus* coagulase positiva

Como todos os *Staphylococcus*, as cepas de *S. aureus* são cocos Gram-positivos que, caracteristicamente, se dividem em mais de um plano, formando aglomerados de células que lembram um cacho de uvas. São anaeróbios facultativos e catalase positivos, distinguindo-se dos demais estafilococos através de três testes: o teste de coagulase (coagulação do plasma sanguíneo) positivo, o teste de DNase termooestável (nuclease resistente ao calor) positivo e o teste de redução do telurito, também positivo (SILVA et al., 2007).

O *Staphylococcus aureus* foi o primeiro microrganismo causador de doenças alimentares que teve sua patogenicidade determinada (JAY, 2005). E segundo Silva et al., 2007, *S. aureus* não é resistente ao calor, sendo facilmente destruído na pasteurização ou na cocção de alimentos.

Surtos de intoxicação alimentar são freqüentemente relatados, e os causados por *Staphylococcus aureus*, são os mais comuns, pois havendo no alimento condições favoráveis à sua multiplicação, em poucas horas, certas cepas produzem uma toxina termooestável que é responsável pelo quadro clínico (TROLLER *apud* RADDI et al., 1988).

Alimentos já incriminados em surtos incluem carnes e produtos cárneos (principalmente presunto), produtos lácteos e derivados (principalmente queijos), aves, ovos, saladas mistas com vários ingredientes entre outros. São de maior risco os alimentos muito manipulados durante o preparo e/ou os que permanecem à temperatura ambiente depois da preparação (SILVA et al., 2007).

Em saúde pública, em particular na área de vigilância sanitária de alimentos, o *S. aureus* é considerado um dos mais freqüentes causadores de surtos de toxinfecção, devido ao importante papel desempenhado pelos manipuladores durante as diferentes etapas de processamento dos alimentos somado aos riscos de contaminação das

matérias-primas desde sua origem e às temperaturas abusivas de conservação pós-cocção.

Estima-se que 20 até 60% da população humana possa ser portadora da bactéria sem apresentar qualquer tipo de doença. Assim, os portadores humanos sempre representam risco quando lidam com alimentos, pois podem contaminá-los durante as diferentes fases de preparação, pelas mãos e secreções oronasais.

A transmissão ocorre pela ingestão de alimentos, inicialmente contaminados com a bactéria, submetidos a temperaturas de cocção insuficientes para provocar sua destruição e depois mantidos a temperaturas abusivas para conservação. O mesmo aplica-se para os alimentos contaminados após preparação correta, mas mantidos a temperaturas abusivas de conservação.

O treinamento de manipuladores é um dos procedimentos de maior relevância para a prevenção da contaminação de alimentos durante as diferentes fases de preparo. Em relação à conservação dos alimentos, a faixa de temperatura, compreendida entre 7 e 60°C, deve ser evitada, para impedir a proliferação do *S. aureus* e a conseqüente produção de exenterotoxina (GERMANO; GERMANO, 2008).

3.5.2 *Salmonella sp.*

O gênero *Salmonella* pertence à família *enterobacteriaceae* e compreende os bacilos Gram-negativos não produtores de esporos. São anaeróbios facultativos, produzem gás a partir de glicose (exceto *S. typhi*) e são capazes de utilizar o citrato como única fonte de carboidrato. A maioria é móvel, apresentando flagelos peritríquios, exceção feita à *S. pullorum* e à *S. gallinarum* (FRANCO; LANDGRAF, 1996).

Registros epidemiológicos em todo o mundo mostram a importância da *Salmonella sp.* como a maior causadora de doenças bacterianas de origem alimentar no homem, o qual se infecta mediante a ingestão de alimentos contaminados (LINDER, 2002).

No Brasil, supõe-se que a ocorrência de salmonelas seja relevante devido as deficiências de saneamento básico e as más condições higiênico-sanitárias da maioria da população, aliadas ao precário controle de qualidade de algumas indústrias

alimentícias e de pequenos abatedouros de aves (FUZIHARA et al *apud* TIROLI; COSTA, 2006).

O habitat primário da *Salmonella* é o trato intestinal de animais, podendo ser encontrados em outras partes do corpo. Os microrganismos são excretados nas fezes, das quais podem ser transmitidos por insetos e outros organismos vivos. Dessa forma, a *Salmonella* pode também ser encontrada na água, principalmente as que estão poluídas. Quando a água poluída e alimentos são consumidos pelas pessoas e animais, esses microrganismos são novamente excretados no material fecal, reiniciando o ciclo (JAY, 2005).

Os alimentos envolvidos são todos aqueles com alto teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como produtos lácteos (leite e queijos cremosos), ovos (pudins, gemadas, licores de ovos, maioneses), carnes (de bovinos, suínos e aves) e seus derivados.

As *Salmonellas* multiplicam-se em temperaturas entre 7 e 49,5°C, sendo 37°C a temperatura ótima para desenvolvimento. Em 4 horas, o alimento contaminado transforma-se em alimento infectante. A atividade de água afeta diretamente o desenvolvimento da bactéria.

O controle é feito com tratamento dos efluentes e dejetos de origem animal, higiene do abate, pasteurização do leite, manipulação adequada de alimentos, conservação e cocção em temperaturas corretas, tratamento dos animais enfermos, e prescrição cuidadosa de antibióticos nos casos humanos (e animais) a fim de diminuir a ocorrência de cepas resistentes (GERMANO; GERMANO, 2008).

3.5.3 Coliformes fecais (45°C)

A presença de coliformes nos alimentos é de extrema importância para a indicação de contaminação durante o processo de fabricação ou, até mesmo, pós-processamento (GEUS; LIMA, 2008).

A classificação dos coliformes segundo Silva (1997), apresenta o grupo de Coliformes totais que incluem as bactérias na forma de bastonetes Gram-negativos, não esporogênicos, aeróbios ou aeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com

produção de gás, em 24 a 48 horas a 35°C. Apresenta-se cerca de 20 espécies, dentre as quais se encontram tanto bactérias originárias do trato intestinal de humanos e outros animais de sangue quente.

A maioria dos coliformes é encontrada no meio ambiente, e essas bactérias possuem limitada relevância higiênica. Devido ao fato de os coliformes serem destruídos com certa facilidade pelo calor, sua contagem pode ser útil em testes de contaminações pós-processamento. (FORSYTHE, 2002).

As bactérias do grupo coliformes fecais são encontradas no trato intestinal do homem e de mamíferos, não sendo capazes de durar, por muito tempo, em outros ambientes que não sejam as fezes (ICMSF *apud* PEREIRA et al., 1999).

Os coliformes fecais são capazes de fermentar a lactose com produção de gás, em 24 horas a 44,5-45,5°C. Esse grupo inclui três gêneros, *Escherichia*, *Enterobacter* e *Klebsiella*, sendo a cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. Por isso que *E. coli* é a mais conhecida, sendo seu habitat o trato gastrintestinal (SILVA, 1997).

Indicadores microbiológicos são empregados com mais frequência para avaliar a segurança e sanificação do que a qualidade do alimento (JAY, 2005).

Os microorganismos indicadores são grupos ou espécies que, quando presentes em um alimento, podem fornecer informações sobre a ocorrência de contaminação fecal, sobre a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial de um alimento, além de poder indicar condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento (FRANCO; LANDGRAF, 2005, p. 27).

Para confirmação de coliformes fecais, utiliza-se o caldo EC (*Escherichia coli*), por eles serem definidos como coliformes capazes de fermentar a lactose, com produção de gás, no período de 48 horas, a 45,5°C (FORSYTHE, 2002).

4 METODOLOGIA

4.1 TIPO DE ESTUDO

O estudo do presente trabalho é do tipo descritivo laboratorial, em que são descritos os procedimentos, as análises, as coletas, assim como se tem a verificação da qualidade microbiológica do produto .

4.2 MATERIAL

O material utilizado consta de queijos de coalho comercializados em estabelecimentos na cidade de Natal-RN, além de meios de cultura, vidrarias e equipamentos e utensílios disponíveis no laboratório de Microbiologia de Alimentos da FARN.

4.2.1 Amostragem

Foram analisadas 20 amostras de queijo de coalho, colhidas em diversos estabelecimentos, como supermercados, padarias, mercadinhos e mercearias, estando todas as amostras armazenadas sob refrigeração. As amostras foram adquiridas na qualidade de consumidor e, após a aquisição, as amostras foram colocadas em um recipiente térmico (isopor) para que ficassem devidamente acondicionadas e, em seguida, foram levadas ao local das análises. Tais análises foram realizadas no período de 21 de setembro a 25 de novembro. O fluxograma da coleta das amostras é mostrado na figura 1.

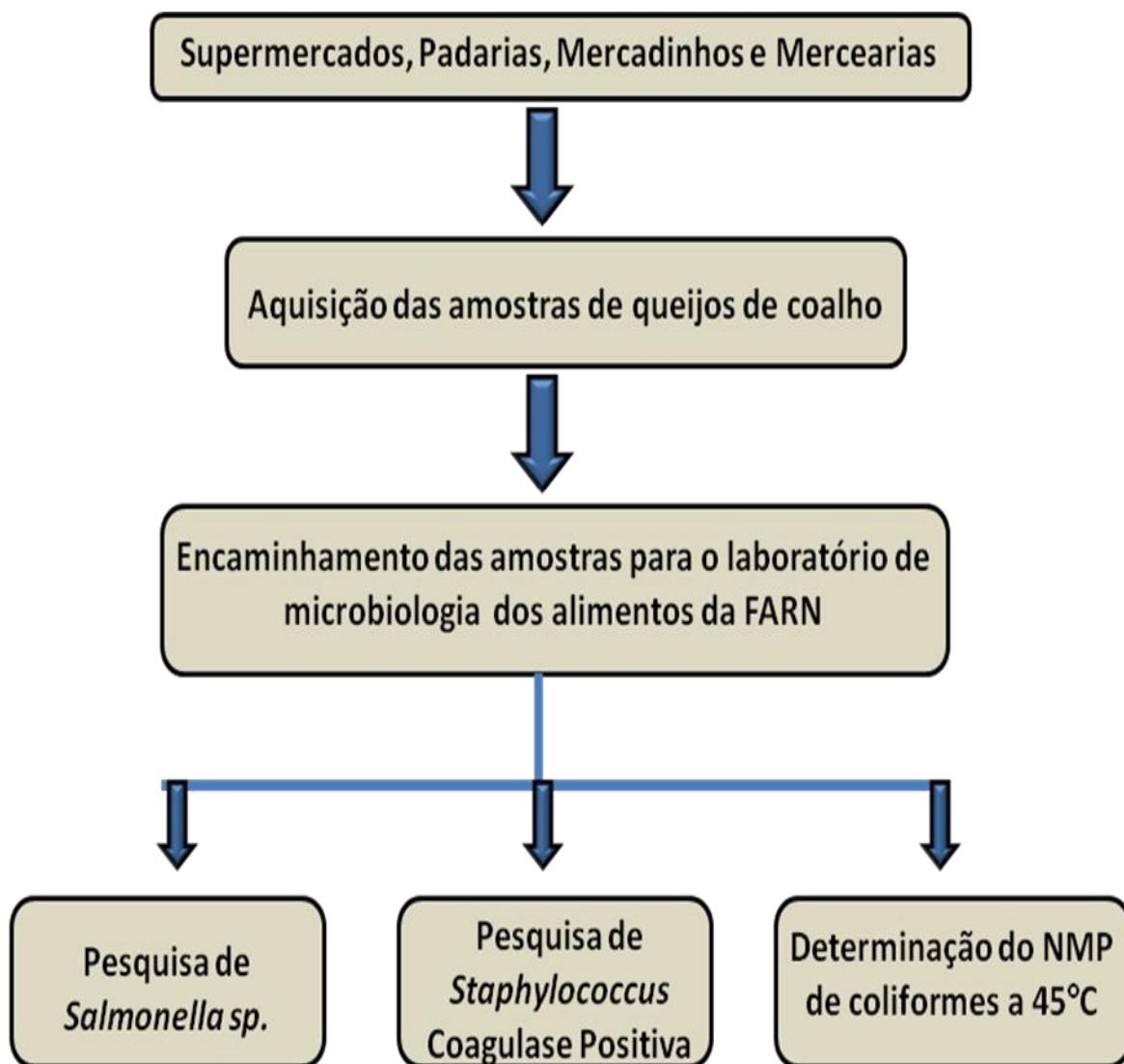


Figura 1: Fluxograma da coleta das amostras para as análises microbiológicas em queijos de coalho.

Fonte: Elaborado pelo autor (2009).

4.3 MÉTODOS

4.3.1 Preparação das Amostras

As amostras foram preparadas de acordo com as normas do International Commission on Microbiological Specification (ICMSF, 1978), no qual 25 g do queijo de coalho foram adicionados em 225 mL de água peptonada 0,1%, em foi homogeneizado por 2 minutos. Partindo-se desta emulsão de concentração 10^{-1} , foi preparada uma série de diluições decimais consecutivas de 10^{-1} a 10^{-3} , usando 9 ml de água peptonada 0,1% como diluente.

4.4 ANÁLISES REALIZADAS

4.4.1 Determinação de Coliformes à 45°C (ICMSF, 1978)

➤ Prova presuntiva

De cada diluição decimal da amostra, foram tomadas três porções de 1,0 mL e transferidas para tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril com tubos de Durham invertidos. Após completa homogeneização, os tubos foram colocados na estufa à 35°C por 24 a 48 horas.

➤ Prova confirmatória

A partir dos tubos positivos da prova presuntiva (que apresentaram turvação e produção de gás) foi semeada uma alíquota de cada cultura, com uma alça de platina, para tubos contendo 10 mL de Caldo E.C. com tubos de Durham invertidos e incubados em banho-maria à 45°C por 24 horas.

A técnica usada para determinação de coliformes a 45°C foi a dos tubos múltiplos, em que tal técnica consiste na inoculação de volumes decrescentes de amostras (diluições), em série de tubos, em meio de cultura adequado ao crescimento

dos microrganismos pesquisados, no caso, coliformes. O fluxograma da determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C é mostrado na figura 2.

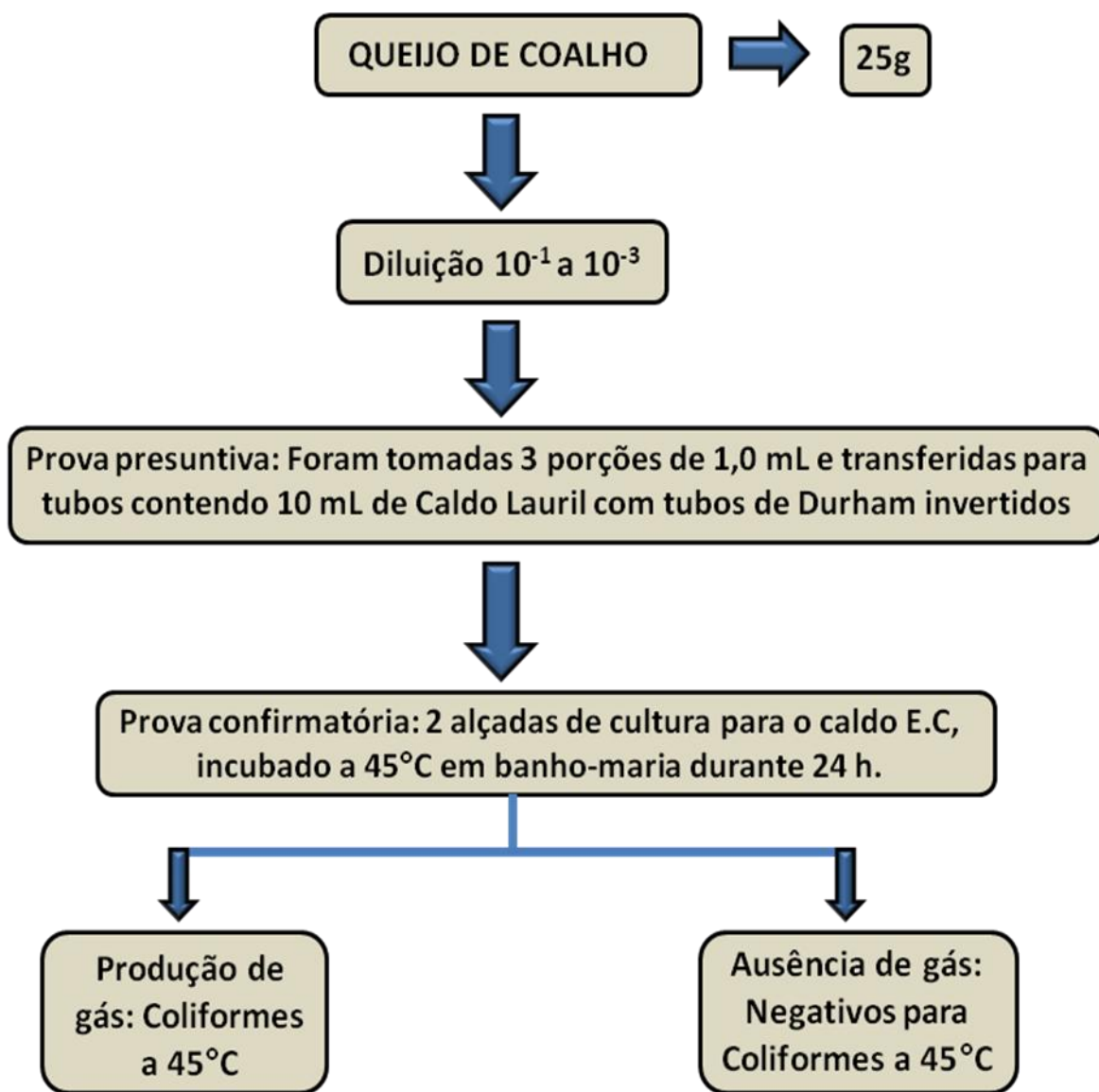


Figura 2: Fluxograma da determinação do NMP de coliformes a 45°C em amostras de queijos de coalho.

Fonte: Elaborado pelo autor (2009).

4.4.2 Contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (ICMSF, 1978)

➤ Semeadura inicial

Inicialmente, foi semeado, em placas com Ágar Baird-Parker, 0,1 mL de cada diluição da amostra, na superfície do meio, que foram espalhados com um Drigalsk estéril. Em seguida, as placas foram levadas à estufa e incubadas a 35°C por 24 a 48 horas.

➤ Contagem e isolamento de colônias típicas

Após o período de incubação, foram realizadas as contagens das colônias típicas de *Staphylococcus aureus*, caracterizadas pela cor negra brilhante, com zona de precipitação branca rodeada por um halo claro transparente. Após a contagem, foram isoladas e semeadas no Caldo Infusão de Cérebro e Coração (BHI) e levadas para a estufa à 35°C por 24 horas.

➤ Identificação das cepas isoladas

Para a identificação das cepas foi realizada a Prova da coagulase (ICMSF, 1978).

O fluxograma da pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva encontra-se na figura 3.

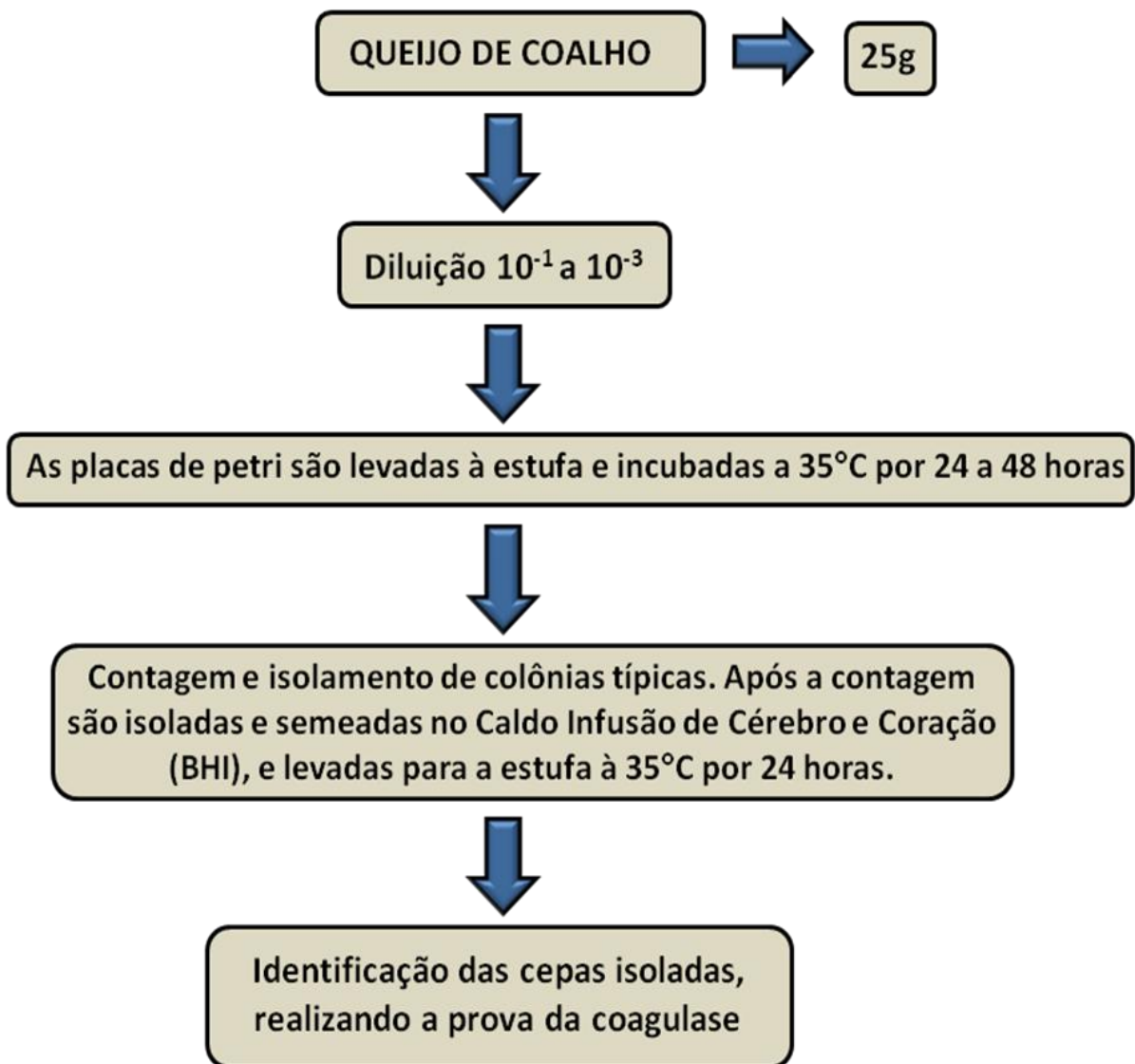


Figura 3: Fluxograma da pesquisa de *Staphylococcus coagulase* positiva em amostras de queijos de coalho.

Fonte: Elaborado pelo autor (2009).

4.4.3 Pesquisa de *Salmonella* sp. (ICMSF, 1978)

Foram pesadas 25g da amostra e depois transferidas para um Erlenmeyer estéril contendo 225 mL de caldo Lactosado e incubados por 24 horas à 35°C.

Posteriormente, foi semeado 1 mL de caldo lactosado em um tubo contendo 10 mL de caldo Selenito - Cistina e mais 1 mL em um tubo com 10 mL de caldo Tetrationato. Logo após, os tubos foram incubados a 43 °C por 24 horas.

Com uma alça de níquel-cromo, os caldos foram semeados em placas de Ágar-Verde Brilhante (VB) e Ágar-Bismuto Sulfito (BS), que foram incubadas a 35°C por 24 horas.

As colônias suspeitas no VB que se apresentaram com coloração rosa ou avermelhadas e no BS que se mostraram incolores, com centro negro ou não, foram submetidos aos testes bioquímicos.

Destas placas, as colônias foram isoladas e semeadas em Agar TSI (Triple Sugar Iron) e Agar LIA (Lysine Iron Agar), à 35°C por 24 horas.

A prova foi considerada positiva para *Salmonella* quando no TSI foi percebido o ápice alcalino (vermelho) e a base ácida (amarela), com ou sem produção de H₂S e, no LIA, tanto o ápice como a base alcalina (púrpura).

As cepas que se revelaram positivas no TSI e LIA foram submetidas a testes bioquímicos recomendados pelo FDA (1984), como a prova de hidrólise da uréia, a degradação do malonato, o teste do Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) e o teste do Citrato. O fluxograma da pesquisa de *Salmonella* sp. em amostras de queijos de coalho é mostrado na figura 4.

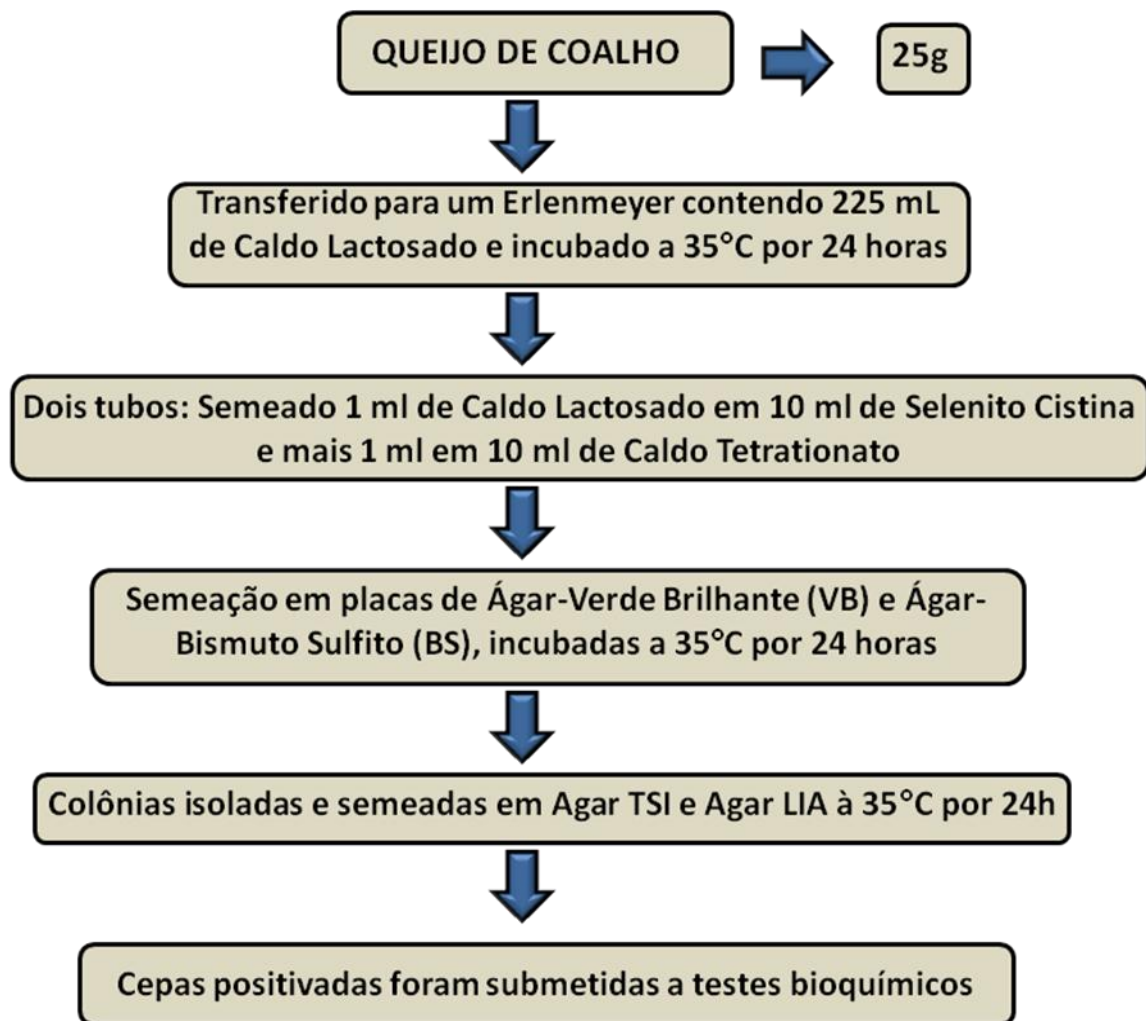


Figura 4: Fluxograma da pesquisa de *Salmonella sp.* em amostras de queijos de coalho.

Fonte: Elaborado pelo autor (2009).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi verificada contaminação por coliformes a 45°C nas amostras de queijo de coalho analisadas, como mostra a Tabela 1. Porém, das 20 amostras analisadas, somente 6 apresentaram um NMP de coliformes a 45°C >2400, número acima do permitido pela legislação (Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001), já que o preconizado para queijo de coalho por tal legislação é de no máximo 500 NMP.

Tabela 1: Número Mais Provável (NMP) de coliformes a 45°C em amostras de queijos de coalho comercializados em Natal-RN

AMOSTRA	NMP DE COLIFORMES A 45°C
1	> 2400*
2	> 2400*
3	210
4	> 2400*
5	> 2400*
6	210
7	> 2400*
8	> 2400*
9	11
10	21
11	20
12	20
13	< 3
14	23
15	150
16	< 3
17	< 3
18	43
19	20
20	< 3

*Amostras com NMP acima do permitido pela RDC nº 12, 02 de janeiro de 2001.

Fonte: Dados da Pesquisa (2009).

Transformando tais resultados em percentual, obtém-se que 30% das amostras analisadas estão contaminadas por coliformes a 45°C, como mostra o gráfico 1.

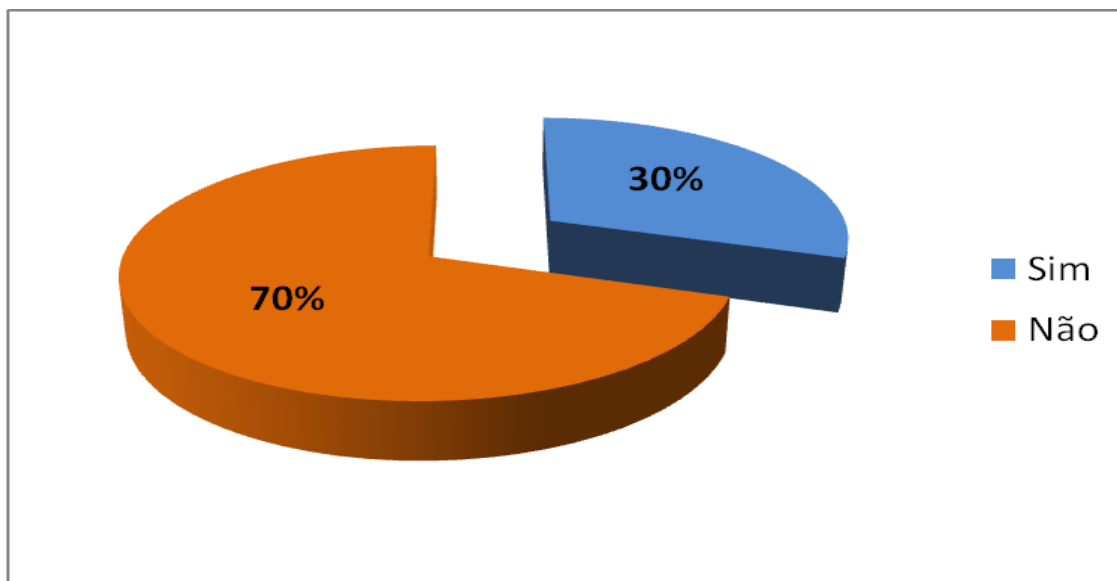


Gráfico 1: Percentual de contaminação por coliformes a 45°C em queijos de coalho comercializados em Natal-RN.

A presença de coliformes fecais em alimentos indica possivelmente contato direto ou indireto do alimento com material fecal, pois de acordo com Forsythe (2005) estão sempre associados a microrganismos de origem intestinal e a detecção de elevado número de bactérias do grupo dos coliformes fecais em alimentos é interpretada como indicativo da presença de patógenos intestinais (PARDI et al., 1993), causando transmissão de doenças à comunidade.

Em estudos, como o de Paiva; Cardonha (1999), foi identificado que 60% das amostras de queijos de coalho que foram coletadas no Rio Grande do Norte, estavam contaminadas por coliformes a 45°C. Já Borges et al., (2003) fez um estudo no Ceará, em que encontrou 74,4% de contaminação por coliformes a 45°C em queijos de coalhos artesanais e Duarte et al., (2005) fez o mesmo estudo em Pernambuco, aonde foram encontrados 44% de contaminação.

Ide; Benedet (2001), com estudo feito no estado de Santa Catarina, identificou que 90% das amostras de queijos de coalho estavam contaminadas por coliformes a 45°C, todas acima do permitido pela legislação, sendo tais queijos considerados

impróprios para o consumo, devido ao alto índice de contaminação. O mesmo acontece com o estudo de Rossi et al., (2008), em que foram analisados coliformes a 45°C em 32 amostras de queijos de coalho, representando 91,43% de contaminação, ultrapassando os valores permitidos pela legislação.

Os estudos citados anteriormente se mostraram com os percentuais muito acima do resultado obtido na presente pesquisa (30%), porém Feitosa et al., (2003), analisando queijo coalho no Rio Grande do Norte, encontrou a presença de coliformes a 45°C em 36% das amostras dos queijos produzidos em diferentes microrregiões do Estado, sendo este estudo se mostrando o mais semelhante com a presente pesquisa.

Para *Staphylococcus* coagulase positiva, das 20 amostras analisadas, apenas 3 se encontraram com a presença desta bactéria, com contagens de 10×10^1 UFC/g, $5,1 \times 10^1$ UFC/g e $1,7 \times 10^2$ UFC/g. Porém tais amostras estavam dentro do padrão permitido pela legislação, que preconiza o limite máximo de $5,0 \times 10^2$ UFC/g.

Segundo Borges et al., (2003), *Staphylococcus* coagulase positiva estão relacionados com a forma de elaboração do queijo, quase sempre são elaborados de forma artesanal e normalmente a partir de leite cru, sem os devidos cuidados de higiene ou em pequenas indústrias que não adotam Boas Práticas de Fabricação. A ocorrência de *Staphylococcus* tem sido relatada nos estados do Nordeste em vários estudos sobre a qualidade microbiológica do queijo de coalho (FEITOSA et al., 2003; BORGES et al., 2003; MENDES et al., 1999; FLORENTINO; MARTINS, 1999). A presença de *S. aureus* em um alimento pode ser interpretada como indicadora de contaminação a partir de fossas nasais, boca e pele de manipuladores (IARIA, 1981).

Os estudos, como o de Cabral (1993), em análise de 50 amostras de queijo coalho na cidade de João Pessoa, PB, os resultados demonstraram que 37 amostras foram positivas para *S. aureus*, com contagem média de $1,2 \times 10^5$ UFC/g. Já Sabioni et al., (1998), em levantamento realizado com 30 amostras de queijo de minas frescal na cidade Ouro Preto, MG, encontraram resultados positivos para *S. aureus*, com contagem de até 108 UFC/g. E Assumpção et al., (2003), ao estudarem as fontes de contaminação por *S. aureus* no processo produtivo de queijo prato, verificaram que a presença desses microrganismos nas mãos e antebraço dos manipuladores foi a responsável pela recontaminação do queijo, pois ocorreu em etapas posteriores à

inativação dos microrganismos por pasteurização. Essa observação pode ser utilizada para explicar a alta incidência de *S. aureus* nas amostras de queijo coalho estudadas.

No estudo de Mendes et al., (1999), os resultados obtidos demonstraram que a maioria dos queijos comercializados em Recife não se encontra aptos para o consumo, sendo contaminados com aproximadamente 90% por *Staphylococcus aureus*, se apresentando fora do padrão.

Feitosa et al., (2003), em seu estudo, observou a ocorrência de *S. aureus* em 72,7% das amostras de queijo de coalho, com contagens variando de $7,0 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^8$ UFC/g. Esses valores são considerados altos e acima do limite permitido pela legislação (5×10^2 UFC/g), e concentrações superiores a 10^5 células/g podem propiciar a produção de enterotoxinas, tornando esse alimento um risco potencial à saúde do consumidor. Já Paiva; Cardonha (1999) constataram a presença de estafilococos coagulase positiva em 80% das amostras estudadas de queijo de coalho artesanal, produzidos no Rio Grande do Norte. A ocorrência desse patógeno também foi relatada em queijo de coalho produzido nos Estados de Pernambuco, Paraíba e Ceará.

Resultados encontrados por Wendrap; Rosa (1993), mostrou que em 5 amostras coletadas em Cuiabá-MT, obtiveram 80% das amostras acima do limite; Garcia-Cruz et al., (1994), em 11 amostras fabricadas artesanalmente e industrialmente comercializadas na cidade de São José do Rio Preto-SP, encontraram 54,5% com valores acima de 10^3 por grama, e Araújo et al., (1998), que em 29 amostras obtidas no comércio do Rio de Janeiro-RJ encontraram 62% das amostras acima do limite de 10^3 por grama.

Todos estes estudos apresentaram contagens de *Staphylococcus* acima do permitido pela legislação, o que não aconteceu nesta presente pesquisa. Porém, é importante ressaltar que a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em qualquer quantidade no alimento é reconhecida como um risco potencial para a saúde pública, uma vez que poderá vir a se multiplicar causando intoxicação alimentar (BARROS et al., 2004).

Com relação à *Salmonella sp.*, das 20 amostras analisadas, uma positivou, representando 5% de contaminação, como mostra o gráfico 2.

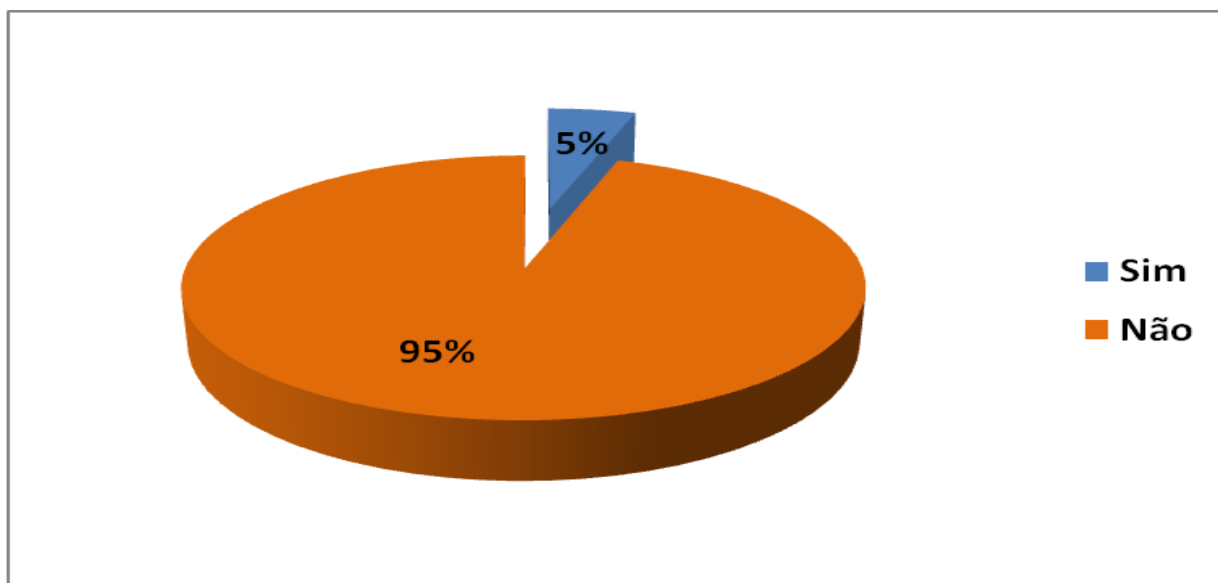


Gráfico 2: Percentual de contaminação por *Salmonella sp.* em queijos de coalho comercializados em Natal-RN.

A detecção de *Salmonella* em 5% das amostras analisadas demonstra que o consumo deste tipo de queijo pode representar risco a saúde da população nordestina, já que este é um alimento típico e acessível à maioria das classes sociais, além de serem classificados como queijos impróprios para consumo, pois a legislação estabelece ausência para *Salmonella sp.* em alimentos.

No que se refere à pesquisa de *Salmonella*, feita por Duarte et al., (2005), das 127 amostras de queijo de coalho analisadas, sete amostras (5,5%) se encontravam contaminadas por estes microrganismos, corroborando com os resultados obtidos por Sena et al., (1999), Duarte et al., (2001) e Feitosa et al., (2003), que obtiveram presença de *Salmonella* em 8,4% (9/107), 4,7% (7/148) e 9,1% (1/11) das amostras testadas, respectivamente. Estes estudos estão compatíveis com a presente pesquisa.

Em percentuais maiores, no estudo de Florentino; Martins (1999), detectou *Salmonella* em 30% das amostras de queijo de coalho artesanal produzidos em várias regiões do Estado da Paraíba. E Mendes et al., (1999) avaliaram queijo de coalho comercializado em Recife e observaram a presença de *Salmonella* em 73,3% das amostras.

No entanto, apesar dos estudos acima citados se mostrarem com altos percentuais de contaminação, outros estudos mostram o contrário, como o de Moraes

(1995), em Pernambuco, que avaliou amostras de queijo de coalho durante todas as etapas tecnológicas e não obteve nenhuma amostra positiva, o que também foi observado por Travassos (1998), na Paraíba, ao avaliar amostras de queijo de coalho artesanal elaborado com leite pasteurizado. No estudo de Paiva; Cardonha (1999), no Rio Grande do Norte, também foi verificado em todas as amostras a ausência de *Salmonella*.

A ausência de *Salmonella* nestes estudos pode ser admitida, possivelmente, em função de sua discreta incidência no leite, uma vez que é necessário que o rebanho esteja doente ou que o manipulador do leite na fábrica seja portador deste microorganismo ou ainda que se utilize água contaminada no processamento (DUARTE et al., 2005).

Diante do exposto, é importante evidenciar a necessidade de maiores cuidados na manipulação do queijo de coalho, desde a sua fabricação artesanal até a distribuição final do produto, para que diminua a possibilidade de se adquirir um produto contaminado.

6 CONCLUSÃO

- ⇒ Houve uma contaminação de 30% das amostras de queijos de coalho para coliformes a 45°C, indicando possível presença de outros microrganismos patogênicos e possibilidade de contaminação fecal.
- ⇒ Para *Salmonella sp.*, foi encontrado um percentual de 5% de contaminação, representando risco à população, visto que causa infecção alimentar que pode ser bastante grave se já houver quadro de algumas patologias pré-existentes ou se forem em crianças e idosos.
- ⇒ Apesar de ter sido encontrado 3 amostras com a presença de *Staphylococcus coagulase positiva*, nenhuma das amostras apresentam-se fora dos padrões permitidos pela legislação.
- ⇒ Necessita-se então, um treinamento dos manipuladores de alimentos, com capacitação periódica e reciclagem destes manipuladores, com finalidade de qualificá-los e orientá-los, para assegurar o processo produtivo com qualidade e segurança alimentar, implantando também boas práticas na produção de produtos derivados de laticínios.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, V. S. de. et al. Análise bacteriológica do queijo Minas Frescal comercializado na cidade do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS, nº AL-084, 1998. **Anais...**Rio de Janeiro, 1998.

ASSUMPÇÃO, E. G. et al. Fontes de contaminação por *Staphylococcus aureus* na linha de processamento de queijo prato. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.55, p.366-370, 2003.

BARROS, P. C. O. G. et al. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Higiene Alimentar**, v. 18, n. 122, p. 60, 2004.

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

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de manteiga da terra ou manteiga de garrafa, queijo de coalho e queijo de manteiga. Instrução Normativa nº30, de 26/06/ 2001. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 jul.2001, p.13-15.

CABRAL, T.M.A. **Coliformes totais e fecais, e *Staphylococcus aureus* enteropatogênico em queijo de "coalho" comercializado no município de João Pessoa, PB.** 88f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 1993.

CAVALCANTE, J. F. M. et al. Processamento do queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciência Tecnologia Alimentar**, Campinas, v.27, n.1, jan./mar. 2007.

DUARTE, D. A. M. et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arquivo do Instituto de Biologia**, v. 72, n. 3, p. 297-302, 2005.

DUARTE, D. A. M. et al. Ocorrência de *Salmonella* sp. *Staphylococcus aureus* e coliformes em queijo de coalho no Estado de Pernambuco, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 21., 2001. Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu: SBM, 2001. p.382.

ESCOBAR, C. A. M. et al. Avaliação dos pontos críticos na produção de queijo de coalho em Pernambuco. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 56, n. 321, p. 248-256, 2001.

FANKHAUSER, D. B. **Fankhauser's Cheese Page**. 2007. Disponível em: <<http://biology.clc.uc.edu/fankhauser/Cheese/CHEESE.HTML>>. Acesso em: 20 out. 2008.

FERREIRA, C. L. L. F. **Produtos lácteos fermentados - Aspectos bioquímicos e tecnológicos**, 2. ed. Viçosa, MG: Editora UFV (Cadernos Didáticos, 43).

FEITOSA, T. et al. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Supl, 23, p. 162-165, Campinas, Dec. 2003.

FLORENTINO, E. R; MARTINS, R. S. Características microbiológicas do “queijo de coalho” produzido no Estado da Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, v.13, n. 59, p. 43-48, 1999.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2005.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Trad. Maria carolina Minardi Guimarães e Cristina Leonhardt – Porto Alegre: Artmed, 2002.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. M. T. D. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF, M. M. T. D. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 1996.

FUZHARA, T. O. et al. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v. 63, n.12, p.1749-1753, 2000.

GARCIA-CRUZ, C. H. et al. Estudo microbiológico de queijo tipo Minas Frescal de produção artesanal, comercializado na cidade de São José do Rio Preto-SP. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.54, n. 2, p.78-82, 1994.

GERMANO, P. M. L; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 3 ed. Barueri, São Paulo: Manole, 2008.

GEUS, J. A. M; LIMA, I. A. **Análise de coliformes totais e fecais: um Comparativo entre técnicas oficiais VRBA e Petrifilm EC aplicados em uma indústria de carnes**. II Encontro de Engenharia e Tecnologia dos Campos Gerais, 14 a 15 de agosto de 2008.

IARIA, Sebastião Timo. *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico em doces cremosos vendidos em padaria e confeitaria do município de São Paulo, Brasil. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 321-337, jun, 1981.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. ***Microorganisms in foods. 1: their significance and methods of enumerations***. 2nd ed. Toronto: University of Toronto Press, 1978.

IDE, L.P.A.; BENEDET, H.D. Contribuição ao conhecimento do queijo colonial produzido na região serrana do estado de Santa Catarina, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.25, p.1351-1358, 2001.

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

LEITE, C. C. et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli* em queijo do tipo “coalho” comercializado em Salvador (BA) - Importância para a saúde pública. **Revista Analytica**, n. 2, nov. 2002.

LINDER, C. E. ***Salmonella spp.* em sistema intensivo de criação de peixes tropicais de água doce**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, 2002.

MENDES, E. S. et al. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* e coliformes em queijos de "coalho" comercializados em Recife. **Revista Higiene Alimentar**, v.13, n.66/67, p.122-126, nov/dez. 1999.

MORAIS, C.M. **Processamento artesanal do queijo-coalho de Pernambuco, uma análise de perigo**. 91f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1995.

NASCIMENTO, M. G. F; NASCIMENTO, E. R. **Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000.

NASSU, R. T. et al. Avaliação das boas práticas agropecuárias e qualidade do leite para processamento de queijo de coalho. **Revista Higiene Alimentar**, v. 21, n.154, set, 2007.

NUTRIÇÃO E SAÚDE. 2005. **Benefícios nutricionais dos queijos**. Disponível em: <http://www.abiq.com.br/queijos/nutricao_07.htm>. Acesso em: 14 out. 2008.

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

PARDI, M. C. et al. **Ciência, higiene e tecnologia da carne: tecnologia da sua obtenção e transformação**. Goiânia: Universidade de Goiás, v. 1, 1993.

PEREIRA, M. L. et al. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella sp.* em queijo Minas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, Belo Horizonte, v.51, n.5, out. 1999.

RADDI, M. S.G. et al. *Staphylococcus aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Rev. Saúde Pública**, São Paulo, v.22, n.1, fev. 1988.

ROSSI, E. M. et al. Contagem de coliformes fecais a 45°C e *Staphylococcus aureus* e pesquisa de *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes* em queijos coloniais comercializados em feiras livres de São Miguel do Oeste, SC. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo: Metha, v. 22, n. 166-167, p. 112-116, nov/dez. 2008.

SABIONI, J. G. et al. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v. 22, n. 5, p. 458-461, out, 1998.

SALINAS, R. D. **Alimentos e Nutrição: Introdução à Bromatologia**. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.

SANT'ANA, A. S; ARAÚJO, I. O. Irradiação e a segurança e qualidade microbiológica dos alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.21, n. 151, p. 37-51, maio, 2007.

SENA, M. J. et al. Salmonelas isoladas de queijo tipo “coalho” caracterização sorológica e resistência a agentes antimicrobianos-Recife (PE). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.58. n.1, p.13-17, 1999.

SILVA et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Varela, 2007.

SILVA , Neusely da. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Valéria Christina Amstalden. São Paulo : Livraria Varela,1997.

SOUZA, Luis Henrique Lenke de. A manipulação inadequada dos alimentos: fator de contaminação. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 146, p. 32-39, nov, 2006.

TIROLI, I. C. C; COSTA, C. A. Ocorrência de *Salmonella* spp. em carcaças de frangos recém abatidos em feiras e mercados da cidade de Manaus-AM. **Acta Amaz**, Manaus, v.36, n.2, 2006.

TRAVASSOS, A.E.R. Indicadores de contaminação e bactérias lácticas em queijo de coalho processado com coalho extraído do estômago de bovinos adultos. In: CONGRESSO LATINO AMERICANO DE MICROBIOLOGIA E HIGIENE DE ALIMENTOS, 1998, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: SBM, 1998.

TROLLER, J. A. Effect of water activity on enterotoxin production and growth of *Staphylococcus aureus*. **Appl. Microbiol.**, v. 21, p.435-439, 1971.

VALE DO LIMA. **Distribuição de produtos regionais**. 2005. Disponível em <http://www2.spi.pt/lima/Limacria_produtos%20regionais.pdf>. Acesso em: 19 out. 2008.

VIA INTEGRAL. **Queijos tipo Parmesão, Provolone e Ricota**. Disponível em: <<http://www.viaintegral.com/via2007/paginas/queijos.htm>>. Acesso em: 14 out. 2008.

WENDRAP, L. L.; ROSA, O. O. Presença de *Staphylococcus aureus* em queijos Minas consumido no município de Cuiabá-MT. **Higiene Alimentar**, v. 7, n. 27, p. 23-29, 1993.

WIKIPEDIA. **Queijos**. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Queijo>>. Acesso em: 19 out. 2008.

ZAFFARI, C. B. *et al.* Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.3, p.863, mai/jun, 2007.