

Isolamento e identificação de coliformes no queijo Minas comercializado na região metropolitana de Salvador/Bahia.

Isolation and identification of coliforms in the "Minas" cheese commercialized in metropolitan area of Salvador-Bahia

ARAÚJO, W.N. ; SILVA, M.N.; MARTINEZ, T.C.; SILVEIRA, V.F.; BARROS, S.L.B.; SILVA, AV.A.F.

Departamento de Medicina Veterinária.Preventiva da EMV-UFBA

RESUMO: A estreita relação entre o consumo de leite e seus derivados e a melhoria da qualidade de vida é sistematicamente defendida por pesquisadores de todo mundo. O queijo é um importante derivado do leite, apreciado tanto pelo seu valor nutritivo como pelo seu sabor, que atende aos mais exigentes paladares. No entanto, as condições de processamento, armazenamento e comercialização podem comprometer suas características organolépticas, bem como torná-lo impróprio para o consumo, em virtude da contaminação por microrganismos responsáveis por toxinfecções alimentares. Foram realizadas seis coletas, perfazendo 24 (75%) amostras de queijo minas frescal analisadas de sete diferentes marcas, sendo oito (33,33 %) representando a marca B, cinco (20,83 %) a marca C, quatro (16,66 %) a marca D, três (12,50 %) a marca E, dois (8,33 %) a marca F, uma (4,16 %) a marca G e uma (4,16 %) a marca H, enquanto foram coletadas e analisadas seis (25 %) amostras de queijo minas padrão, em três diferentes marcas perfazendo três (50 %) amostras da marca A1, duas (33,33 %) da marca A2 e uma (16,66%) da marca A3. De acordo com os resultados da análise de variância houve efeito significativo o que demonstra a baixa qualidade do queijo minas frescal comercializado na região metropolitana de Salvador.

PALAVRAS CHAVE:: Queijo, qualidade, coliformes

Rev. Bras. Saúde Prod. An. 2(2):37-42, 2001.
Publicação Online da EMV da UFBA

INTRODUÇÃO

A estreita relação entre o consumo de leite e seus derivados e a melhoria da qualidade de vida é sistematicamente defendida por pesquisadores em todo o mundo. População com alta expectativa de vida consomem, produtos lácteos em larga escala, já que o leite é uma fonte de proteínas, vitaminas, minerais e calorias necessárias e indispensáveis ao ser humano (AFONSO NETO 1984). E no que diz respeito a tendência na produção, observa-se um decréscimo de manteiga e de leite em pó

SUMMARY: The proximal relation between the milk and derivatives consume and advance of the live quality is defended by experts in worldwide. Cheese is na important derivative of the milk, appreciated for nutritive value and for your flavour, which attend at many palates exigent. However, conditions of manufactures, storage and commercialization can compromise your characteristics, caused for microorganisms responsible for contamination and toxin-infection alimentary. Six collect were accomplished, and total of 24 (75%) samples of " minas frescal" cheese analyzed of seven differents marks, eight (33,33%) of the mark B, five (20,83%) of the mark C, four (16,66%) of the mark D, three (12,50%) of the mark E, two (8.33%) of the mark F, one (4,16%) of the mark G and one (4,16%) of the mark H, While were acomplished and analyzed six (25%) samples of " minas padrão" cheese, of three differents marks and total three (50%) samples of the mark A₁, two (33,33%) of the mark A₂ and one (16,66%) of the mark A₃. According results of the analysis there were significant effects a which showed a low quality of " minas frescal" cheese commercialized in metropolitan area of Salvador /BA.

KEYWORDS: Cheese,quality, coliformes

desnatado, embora haja uma previsão de aumento de queijos, leite em pó integral e produtos lácteos frescos (GEMPERLE & KRUGER 1994).

Conhecendo-se os padrões alimentares dos brasileiros MONDINI & MONTEIRO(1994) relatam mudanças sensíveis, onde estas transições seriam vistas principalmente nas regiões nordeste e sudeste do país, sendo demonstrado o aumento no consumo relativo de

leite e derivados, assim como o de ovos. A indústria de laticínios processa em torno de 60% do total de leite produzido no Brasil, sendo o restante consumido diretamente pelo mercado informal sem qualquer processamento industrial e sem qualquer fiscalização higiênico-físico ou sanitária, onde do total processado 20% são comercializados em forma de queijos (PANORAMA DO LEITE NO BRASIL (1997).

O processo de produção de queijo depende do tipo considerado, mas todo tem em comum o fato de se originarem do leite coalhado, resultante da ação de alguma bactéria (STOECKER 1996). O queijo é um importante derivado do leite, apreciado tanto pelo seu valor nutritivo como pelo seu sabor, que atende aos mais exigentes paladares. No entanto, as condições de processamento, armazenamento e comercialização podem comprometer suas características organolépticas, bem como torná-lo impróprio para o consumo, em virtude da contaminação por microrganismos responsáveis por toxinfecções alimentares RAIMUNDO et al.(1992). O queijo minas frescal é um queijo de origem brasileira, embora muito semelhante ao “Queso Blanco”, fabricado em outros países da América Latina. Geralmente este produto é consumido nos primeiros 7 (sete) dias que seguem a fabricação (ALBUQUERQUE et al.1994).

FRANCO & ALMEIDA (1992), realizando avaliação microbiológica do queijo ralado, tipo parmesão, comercializado em Niterói/RJ, constataram em uma das amostras um número médio de 239 coliformes fecais (*Escherichia coli*) por grama de amostra.

THOMA et al. (1996) realizando análise microbiológica de queijo parmesão brasileiro, uruguaio e argentino constataram a presença de *E.coli* , *Streptococcus spp.* do grupo D e *Staphylococcus spp.* fora dos padrões estabelecidos para 40% das amostras de queijo brasileiro, 80% de amostras de queijo uruguaio e 60% das amostras de queijo argentino, sendo também verificado a presença de *Salmonella*

spp. em 10% das amostras de queijo uruguaio e *Shigella spp.* 10% das amostras de queijo brasileiro e argentino.

COVENEY et al. (1994) realizando estudos de condições microbiológicas em 96 amostras de queijo Irish produzidos em fazendas, com ênfase aos microrganismos patogênicos e deteriorantes, encontraram altos níveis de contaminação por bactérias de origem fecal (variando de 10^5 - 10^8 UFC/g), principalmente *Streptococcus spp.* (onde houve variação de 10^4 - 10^7 UFC/g, chegando até acima de 10^8 em algumas amostras) e os *Staphylococcus aureus* prevaleceram em altas proporções nos queijos, *estafilococcus* patogênicos foram isolados em 50% dos queijos, com 77.8 % produzidos em leite pasteurizados, apesar de não ter sido encontrado *Salmonellas spp.*, *Shigellas spp.* e os fungos e leveduras foram encontrados em variedades cruas, especialmente na categoria de queijos moles variando de 10^2 - 10^7 UFC/g.

ABBAR & KADDAR (1991) realizaram estudos bacteriológicos, no período de quatro meses, em produtos derivados de leite comercializados na cidade de Mosul, Iraque, perfazendo inclusive um total de 200 amostras de queijos com 10^4 - 10^5 , 10^5 - 10^6 e $> 10^6$ de coliformes fecais em 58, 24 e 42 destas, respectivamente, tendo 16 (19,75%) amostras contaminadas com de *E.coli* enteropatogênica (EPEC), que apresentavam resistência a antibióticos como tetraciclina, ampicilina e penicilina e eritromicina com respectivamente 30,4%, 71,1%, 94,9%e 79,0% nos produtos analisados.

As grandes empresas de laticínios, não vêm demonstrando bons desempenhos quanto a viabilidade dos seus produtos e mesmo assim o empresariado continua a investir em usinas e microusinas de leite que enfrentam hoje problemas quanto a possibilidade quanto a possibilidade de efetuar a necessária qualidade higiênico-sanitária do leite, seja para consumo direto, ou para produção dos seus derivados, já que o processo de pasteurização do leite nem é adequado (PLANETA 1992).

Esse trabalho tem como objetivo isolar e identificar os coliformes das amostras positivas segundo a técnica de Número Mais Provável (NMP) determinando as condições higiênico-sanitária do queijo minas comercializado na Região Metropolitana de Salvador, como também, levantar importantes informações que permitam aos órgãos responsáveis, melhor avaliação da qualidade deste tipo de queijo, servido a população da Região Metropolitana de Salvador.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas 30 amostras de queijo minas frescal e padrão, em diversos estabelecimentos comerciais localizados na região metropolitana de Salvador, em um número mínimo de duas unidades do produto de três variadas marcas, as quais foram transportadas em caixa de isopor com gelo ao laboratório de Inspeção e tecnologia de leite e derivados do departamento de Medicina Veterinária preventiva da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (EMEV/UFBA), onde foram realizadas a primeira etapa das análises abaixo descritas, sendo posteriormente enviadas as amostras positivas para o laboratório de Bacterioses do mesmo Departamento, onde foi realizada uma segunda etapa com isolamento e identificação de coliformes.

Análise das amostras: Diluições:As amostras foram preparadas sob diluições de 10^{-1} à 10^{-8} , utilizando-se como diluente solução salina de peptona a 0,1% e coletando-se a parte profunda dos queijos em análise (APHA 1984).

Contagem dos coliformes totais (primeira etapa): A pesquisa de coliformes totais foi realizada após a semeadura de 1,0ml de cada amostra diluída, em triplicatas, em tubos de ensaio contendo lactose-bile-verde brilhante e tubos de Durham. A leitura foi executada após a incubação em estufa de cultura a 37C por 24-48 horas, sendo a prova considerada positiva, quando ocorria turbidez e evidente produção de

gás identificada no tubo de Durham (LANARA 1992).

Identificação de coliformes (Segunda etapa):De cada amostra positiva para coliformes totais, era recolhida o tubo de maior diluição e realizadas semeaduras em ágar eosina azul de metileno (EMB) e ágar sangue (ágar simples enriquecido com 5-10% de sangue citratado de ovino). As placas eram incubadas a 37C por 18-24 horas e após este período examinados para verificação de crescimento bacteriano (OSBALDISTON 1973).

As colônias lactose positivas e negativas que desenvolveram no BEM, foram isoladas para ágar tríplice açúcar (TSI) incubada a 37 C por 18-24 horas e identificadas presuntivamente de acordo com suas características de crescimento. Em seguida eram submetidas às provas bioquímicas complementares para identificação final (EDWARDS & EWING 1967).

O crescimento bacteriano nas placas de ágar sangue, era submetido à verificação da presença ou não de halo de hemólise, morfologia e cor das colônias, esfregaço e cor das colônias. Caso ocorresse o desenvolvimento de cocos gram positivos (+), eram realizadas as provas de catalase e coagulase para caracterização de *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Micrococcus* (CARTER 1969, 1988 ; OSBALDISTON 1973).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram realizadas um total de seis coletas, perfazendo 24 (75%) amostras de queijo minas frescal analisadas de sete diferentes marcas, sendo oito (33,33%) representando a marca B, cinco (20,83%) a marca C, quatro (16,66%) a marca D, três (12,50%) a marca E, duas (8,33%) a marca F, uma (4,16%) a marca G e uma (4,16 %) a marca H, enquanto foram coletadas e analisadas seis (25%) amostras de queijo minas padrão, em três diferentes marcas perfazendo três (50%) amostras da marca A₁, duas (33,33%) da marca A₂ e uma (16,66%) da marca A₃ (gráficos 01 e 02, em anexo).

De acordo com os resultados da análise de variância (Quadro 01) houve efeito significativo o que demonstra a baixa qualidade do queijo minas frescal comercializado na Região Metropolitana de

Salvador/ BA, resultados estes atribuídos ao processamento e/ou armazenamento inadequado, bem como a acidez e umidade relativa

Quadro 01: Análise de variância de médias log de coliformes totais de queijo minas frescal comercializados na região metropolitana de salvador/ba

Fonte de Variação	DF	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F
Grau liberdade	4	96.28935631	24.07233908	7.34
Resíduo	16	52.44036750	3.27752297	
Total	20	148.72972382		

Das seis amostras de queijo minas padrão analisadas 100% delas estavam com níveis baixos de coliformes totais, ou seja, menos de 30 bactérias por grama do analisado, segundo a técnica de NMP. Das 24 amostras de queijo minas frescal de sete diferentes marcas

pesquisadas apresentaram-se, em média, com níveis de coliformes (NMP) igual e/ou acima de 10^2 , atualmente reconhece-se a inexistência de padrão normativo na legislação vigente para o presente produto estudado (BRASIL 1997) (QUADRO 02).

Quadro 02: situação do grau de contaminação por coliformes totais (nmp) nas amostras analisadas de queijo minas frescal, sendo expressados os valores médios por cada diluição encontrada.

SITUAÇÃO (m média)	N de Amostras	%
1,875 x 10 ⁸	04	16,66
2,300 x 10 ⁷	03	12,50
1,400 x 10 ⁶	01	4,14
2,050 x 10 ⁵	06	25,00
2,000 x 10 ⁴	01	4,14
1,550 x 10 ³	02	8,33
4,000 x 10 ²	01	4,14
< 30	06	25,00

Foram isoladas nas amostras positivas para coliformes totais as seguintes bactérias: *Escherichia coli*, *Proteus rettgeri*, *Enterobacter spp.* e *Enterobacter aerogenes*, estes microrganismos são relatados por ACHA, SZYFRES 1986 em compilação da OPS, como capazes de causar infecções e/ou intoxicações alimentares podendo causar febre, calafrios, cefaléia, mialgia, cólica abdominal, diarréia aquosa profunda, vômito, desidratação e

choque, inclusive revelam que geralmente a *Escherichia coli* necessita mais de 10^6 /UFC para desencadear a enfermidade, justamente as concentrações que nas duas amostras foram isoladas as colônias este agente, sendo de alta relevância os melhores cuidados higiênico-sanitários com o produto estudado. Foram ainda isolados *Micrococcus spp.* e *Staphylococcus epidermidis* de menor ou nenhuma importância epidemiológica. (Quadro 03).

Quadro 03: microrganismos isolados das amostras analisadas positivas para coliformes totais, com suas respectivas concentrações e a freqüência das marcas:

Microrganismo Isolado	Concentração (10³)	Marca
<i>Enterobacter spp.</i>	2	F
<i>Syaphylococcus epidemidis e Enterobacter spp.</i>	3	B
<i>Enterobacter spp.</i>	1	B
<i>Enterobacter spp.</i>	3	D
<i>Enterobacter spp. e Proteus rettgeri</i>	3	C
<i>Enterobacter spp.</i>	3	B
<i>Enterobacter spp. e micrococcus spp.</i>	1	B
<i>Enterobacter spp.</i>	5	C
<i>Enterobacter spp.</i>	3	G
<i>Proteus rettgeri</i>	5	D
<i>Enterobacter spp</i>	6	C
<i>Enterobacter spp</i>	6	D
Negativo	5	F
<i>Enterobacter spp.</i>	2	B
<i>Escherichia coli</i>	6	C
<i>Escherichia coli</i>	6	C
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	D
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	H

CARVALHO et al. (1995) analisando queijos comercializados em Fortaleza no Ceará, das trinta e duas amostras analisadas, seis foram identificadas como *Staphylococcus aureus*, isto é, 19% dos queijos tem essa bactéria, que pode causar uma intoxicação alimenta

TORNADIJO et al. (1993) pesquisando a contaminação microbiológica por enterobacteriáceas na produção e maturação de queijo de cabra, demonstraram que quanto mais úmido, maior é o número de bactérias, e com o passar do tempo, no processo de maturação esses contaminantes diminuem devido vários fatores, como: ph, teor de Na Cl e umidade, dentre outras, mas bactérias como *Escherichia coli* com a maturação continuam a

CONCLUSÕES

Nas amostras analisadas provenientes do comércio da região metropolitana de Salvador foram encontrados exemplares de queijo minas em condições impróprias para o consumo, já que os níveis de coliformes totais foram

ser encontradas, enquanto que a *Klebsiella oxytoca* tem durante o processo de coagulação a sua maior concentração.

MONGE et al. (1994) estudaram a incidência de microrganismos capazes de causar toxinfecções em 20 amostras de queijos suave comercializados em san José, Costa Rica, de maneira que identificaram em 45% e em 100% das amostras a presença de *Listeria monocytogenes* e *Escherichia coli*, respectivamente, em níveis superiores a 1100/g, evidenciando a alta contaminação inclusive com material fecal.

significativos e comuns, sendo estes indicadores de qualidade do produto, podendo então, vir a provocar problemas de saúde pública, sendo um risco à saúde humana.

As bactérias isoladas são sabidamente capazes de causar toxinfecções alimentares, evidenciando a necessidade de maior aperfeiçoamento dos cuidados na fabricação da matéria prima, e da engenharia de processo de produtos alimentícios aqui estudados, tão como, uma inspeção mais eficaz destes produtos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAR, F.; KADDAR, H. Kh. Bacteriological studies on Iraqi Milk products. **Journal of Applied Bacteriology**, v.71, p.497-500, 1991.
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes el hombre y a los animales**. 2. Ed. Washington, OPS, 1986. 989p. p.917-928.
- AFONSO NETO, M.J. Um lugar à mesa para os produtos lácteos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.10, n.115, p.1, jul., 1984
- ALBUQUERQUE, L.C. et al. O queijo no Brasil origem e descrição (2ª parte). **Revista Leite & Derivados**, v. 3, n. 16, p.34-41, mai/jun, 1994.
- APHA (American Public Health Association). Technical Committee on microbiological methods for foods. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 2. ed. Washington, 1984. p.462-483.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regulamento da Inspeção Industrial e sanitária de produtos de origem animal**. Brasília, 1997. 166p.
- BRASIL. - Ministério da Agricultura. Portaria N 352 de 04 de outubro de 1997 do Ministério da Agricultura e do abastecimento. **Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de leite e produtos lácteos**. Brasília, 1997. 178 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria N 451 de 22 de setembro de 1997. Divisão Nacional de Vigilância Sanitária. **Princípios gerais para o estabelecimento de critérios e padrões microbiológicos para os alimentos: V- Leite e produtos de laticínios**. Brasília, 1997.
- CARTER, G. R. **Procedimentos de diagnóstico em bacteriologia y micologia veterinária**. Zaragoza, Acribia, 1969. 331p.
- CARTER, G. R. **Fundamento de bacteriologia e micologia veterinária**. São Paulo: Roca, 1988. 249p. p. 107-117, 144-147.
- CARVALHO. P. G. et al. Pesquisa de Staphylococcus aureus em queijos comercializados na cidade de Fortaleza- Ceará. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 18, 1995, São Paulo. **Anais**. . . São Paulo: Soc. Bras. de Microbiologia, 1995. 268p. p.34.
- COVENEY, H. M. et al. A study of the microbiological status of Irish farmhouse cheese white emphasis on selected pathogenic and spoilage micro-organisms. **Journal of Applied Bacteriology**. v. 77, p.621-30, 1994.
- EDWARDS. O. R.; EWING, W. H. **Identificacion of enterobacteriaceae**. Atlanta, Burgess Publishing Company, 1967. 174p.
- FRANCO, R. M. ; ALMEIDA, L.E.F. Avaliação microbiológica de queijo ralado, tipo parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Higiene Alimentar**, v.6, n.21. p. 33-36, mar., 1992.
- GEMPERLE, R. ; KRUGER, A. Produção de leite e produtos lácteos. Tendências e estratégias no mundo. **Revista leite e derivados**, v.3, n.14. p.06, jan/fev., 1994.
- LANARA, Ministério da Agricultura. **Métodos de análise microbiológica para alimentos**. Brasília, 1991/92. 135p.
- MONDINI, L. ; MONTEIRO, C.A. Mudanças de padrão de alimentação da população urbana brasileira (1962-1988). **R ev. _Saúde Pública**, v.28, n.6, p.433-439, 1994.
- MONGE, R. et al. Incidence of listeria monocytogenes in pasteurized ice cream and soft cheese in Costa Rica, 1992. **Rev. Biol. Trop.**, v.42, n.1/2, p.327-328. 1994.
- OSBALDISTON, G. W. **Laboratory Procedures in Clinical Veterinary Bacteriology**. Baltimore: University Park Press, 1973. 166p.
- PANETTA, J. C. A polêmica em torno das "Microsinas" de leite. **Higiene Alimentar**, v.6, n.23, p.3, 1992.
- PANORAMA DO LEITE NO BRASIL. **Rev. dos Criadores**. v.66, n.799/800, p.20-24, dez.96/jan.97.
- RAIMUNDO, S.M.C. et al. Qualidade microbiológica do queijo Minas frescal no comércio do Rio de Janeiro. **Rev. Inst. Latic. Cândido Tostes**, v.47. n.279/281, p.169-173, 1992. 1992.
- STOECKER, W. F. Refrigeração industrial. **Revista Leite & Derivados**, v.5, n.43. p.43, 1996.
- THOMA, A. S. et al. Análise microbiológica de queijo parmesão: Brasileiro, Uruguaio e Argentino. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS DE ALIMENTOS, 15, 1996, Poços de Caldas MG. **Anais**. . . Poços de Caldas/MG, 1996. P.58.
- TORNADIJO, E. A. et al. Study of Enterobacteriaceae throughout the manufacturing and ripening of hards goats cheese. **Journal of Applied Bacteriology**, v.75, p.240-248, 1993.