

PESQUISA DE *Salmonella* sp., *Listeria* sp. E MICRORGANISMOS INDICADORES HIGIÊNICO-SANITÁRIOS EM QUEIJOS PRODUZIDOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE¹

Terezinha FEITOSA², Maria de Fátima BORGES^{3,*}, Renata Tieko NASSU²,

Érika Hardy Franco de AZEVEDO², Celli Rodrigues MUNIZ²

RESUMO

O objetivo do trabalho foi verificar a qualidade higiênico-sanitária de amostras de queijo de coalho (11 amostras) e de queijo de manteiga (13 amostras) produzidas no Estado do Rio Grande do Norte. Todas as amostras de queijo de coalho apresentaram coliformes totais, das quais 36,4% continham coliformes fecais, entre 3 a 7NMP/g, com confirmação de *Escherichia coli*. Em relação ao queijo de manteiga, 84,6% das amostras também apresentaram coliformes totais, 15,4%, coliformes fecais, com confirmação de *E. coli* em 7,7%. A contagem de bolores e leveduras variou de $1,9 \times 10^4$ a $4,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de queijo de coalho e de $1,5 \times 10^4$ a $2,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de queijo de manteiga. Estafilococos coagulase positiva foi observado em 72,7% das amostras de queijo de coalho e 84,7% das amostras de queijo de manteiga, com contagens variando de $7,0 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^8$ UFC/g e $2,4 \times 10^2$ a $8,6 \times 10^6$ UFC/g, respectivamente. *Salmonella* foi detectada em 9% das amostras de queijo de coalho e em 15% das de queijo de manteiga. *Listeria* sp. foi constatada em 9% e 15% das amostras de queijos coalho e manteiga, respectivamente. A elevada população de bolores e leveduras observada em ambos os queijos indicou deficiência nos procedimentos de higiene e sanitização e os caracterizam como produto em condições higiênicas insatisfatórias. Os queijos de coalho e de manteiga oriundos das seis microrregiões do Rio Grande do Norte envolvidas no estudo não apresentaram segurança alimentar, visto que a maioria continha estafilococos coagulase positiva. A presença de *Salmonella* classificou os produtos como sendo impróprios ao consumo humano.

Palavras-chave: microbiologia; patógenos; laticínios; qualidade.

SUMMARY

Salmonella sp., *Listeria* sp. AND HYGIENIC SANITARY INDICATOR MICROORGANISMS IN CHEESES FROM RIO GRANDE DO NORTE STATE. The hygienic-sanitary quality of 24 "coalho" cheese (11 samples) and "manteiga" cheese (13 samples) samples produced in the state of Rio Grande do Norte was evaluated. All of "coalho" cheese samples presented total coliforms and 36.4% of them were positive for faecal coliforms and *Escherichia coli*, with values ranging from 3 to 7MPN/g. A total of 84.6% of the "manteiga" cheese samples showed total coliforms; 15.4%, faecal coliforms and 7.7%, *E. coli*. The population of yeasts and molds ranged from 1.9×10^4 to 4.8×10^8 CFU/g in the "coalho" cheese samples and from 1.5×10^4 to 2.8×10^8 CFU/g in the "manteiga" cheese samples. Positive coagulase staphylococci were observed in 72.7% of the "coalho" cheese samples and in 84.7% of the "manteiga" cheese samples, with counting ranging from 7.0×10^4 to 1.3×10^8 CFU/g and 2.4×10^2 to 8.6×10^6 CFU/g, respectively. *Salmonella* sp. was detected in 9% of the "coalho" cheese samples and in 15% of the bread cheese samples. *Listeria* sp. was confirmed in 9% and 15% of the "coalho" cheese and "manteiga" cheese samples, respectively. The high population of yeasts and molds observed in both kinds of cheese indicated deficiency in the hygiene and sanitation procedures becoming characterised as "product at unsatisfactory hygienic conditions". Cheeses originated from the six micro regions of the Rio Grande do Norte State involved in this study did not present food safety, mainly because of the elevated countings of positive coagulase staphylococci. The presence of *Salmonella* sp. and *Listeria* sp. characterized these cheeses as "inappropriate to the human consumption".

Keywords: cheese microbiology; pathogens; quality.

1 - INTRODUÇÃO

Dentre os produtos derivados do leite, o queijo é considerado um veículo freqüente de patógenos de origem alimentar e, em especial, os queijos frescos artesanais por serem, na maioria das vezes, elaborados a partir de leite cru e não sofrerem processo de maturação. 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.

Queijos artesanais como o de coalho e o de manteiga são típicos da região Nordeste e muito difundidos

no Estado do Rio Grande do Norte. O queijo de coalho, por ser elaborado, em quantidade considerável, a partir de leite cru e sem os devidos cuidados de higiene, em pequenas propriedades rurais ou em pequenas indústrias que não adotam as Boas Práticas de Fabricação, não apresenta segurança microbiológica e padronização da qualidade. O queijo de manteiga, mesmo sendo submetido a tratamento térmico durante a elaboração, também apresenta problemas de contaminação, devido à manipulação inadequada após o processamento.

Vários estudos [2, 16, 17, 20] sobre a qualidade microbiológica de queijo de coalho relataram ocorrência de microrganismos patogênicos e contagens de microrganismos deterioradores em números que excedem, as vezes, os limites estabelecidos pela legislação [4, 5]. Dentre as bactérias patogênicas detectadas, destacam-se, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

A contaminação do queijo de coalho, produzido em vários Estados do Nordeste (CE, PB, RN e PE), por *S. aureus* variou entre 10^3 e 10^6 UFC/g [9, 14, 16, 17]. Es-

¹ Recebido para publicação em 18/07/2002. Aceito para publicação em 27/08/2003 (000944).

² Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical - EMBRAPA - Rua Dra. Sara Mesquita, 2270 - Pici - Fortaleza-CE, CEP 60511-110. Tel.: 85-299-1883. E-mail: fatima@cnpat.embrapa.br

³ R. Jasmim, 850 ap. 214, Ch. Primavera, CEP 13087-520, Campinas-SP

* A quem a correspondência deve ser enviada.

ses valores são preocupantes, pois situam-se acima dos limites estabelecidos pelos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Saúde, cujo máximo permitido é 10^3 UFC/g [4, 5].

A presença de *Salmonella* em queijo de coalho e queijo de manteiga tem sido relatada em algumas pesquisas [9, 16, 18]. Sabe-se, também que *Salmonella* mantém-se viável em queijo contaminado por longo período de tempo [3, 15], o que ressalta a importância do controle de qualidade microbiológica do produto, visto que a Legislação Brasileira [4, 5] estabelece ausência desta bactéria em alimentos.

Apesar da importância da ocorrência de *L. monocytogenes* em produtos lácteos [19], existem poucos estudos sobre sua incidência em queijos produzidos no Brasil. SOUSA [23] detectou baixa incidência (1,4%) de *L. monocytogenes* em 70 amostras de queijo de coalho artesanal comercializado em Fortaleza-CE, enquanto SILVA, HOFER & TIBANA [21] constataram alta incidência (41,17%) de *L. monocytogenes* em queijo Minas Frescal artesanal.

Contagens elevadas de bolores e leveduras e bactérias do grupo coliformes também têm sido constatadas em queijos de coalho e manteiga [9, 16], indicando que os mesmos foram produzidos sob condições de higiene insatisfatórias. Esses microrganismos são considerados os principais responsáveis pela deterioração de queijos.

O trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica de queijo de coalho e manteiga produzidos artesanalmente, em diferentes microrregiões no Estado do Rio Grande do Norte.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 24 amostras indicativas (n=1) de queijos, sendo 11 de queijo de coalho e 13 de queijo de manteiga, produzidos em 17 municípios das microrregiões Seridó Ocidental, Seridó Oriental, Macaíba, Borborema Potiguar, Agreste Potiguar e Litoral Nordeste, do Estado do Rio Grande do Norte.

As amostras foram coletadas aleatoriamente no local de produção e transportadas, em caixas isotérmicas contendo gelo, até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da EMBRAPA Agroindústria Tropical. Em seguida, foram avaliadas quanto ao número mais provável de coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*, pesquisa de *Salmonella* contagens de estafilococos coagulase positiva e de bolores e leveduras, segundo metodologias descritas no "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" da Associação Americana de Saúde Pública [6] e no Manual de Métodos de Análises Microbiológica de Alimentos [22]. A pesquisa de *Listeria sp.* foi realizada através de teste ELISA, na configuração "sandwich" pelo método "TECRA *Listeria* Visual Imunoassay", com enriquecimento prévio em caldo de enriquecimento para *Listeria* e caldo Fraser [13]. As culturas positivas foram avaliadas pelo método convencional [7] para confirmação da presença de *L. monocytogenes*.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras de queijo de coalho apresentaram coliformes totais, das quais 36,4% continham coliformes fecais, entre 3 e 7NMP/g, com confirmação de *Escherichia coli* (Tabela 1). Em relação ao queijo de manteiga, 84,6% das amostras também apresentaram coliformes totais, 15,4%, coliformes fecais, com confirmação de *E. coli* em 7,7% (Tabela 2). Vale ressaltar que o número de coliformes fecais presente em ambos os tipos de queijos encontravam-se dentro dos limites estabelecidos pela legislação [4, 5]. A reduzida população desses microrganismos indica baixo nível de contaminação fecal, o que pode ser atribuído à qualidade da matéria-prima ou às condições de processamento dos queijos. Por outro lado, tem sido relatada a ocorrência de altos níveis de coliformes fecais em queijos coalho. PAIVA & CARDONHA [17] constataram que 60% das amostras de queijos coalho artesanal comercializados no Rio Grande do Norte apresentavam coliformes fecais em níveis superiores aos permitidos pela legislação [4, 5], enquanto que FEITOSA [8], GERMANO e GERMANO [11] e FLORENTINO & MARTINS [9] também constataram elevadas contagens de coliformes fecais em queijo de coalho artesanal em outros Estados do Nordeste.

A contagem de bolores e leveduras variou de $1,9 \times 10^4$ a $4,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de queijo de coalho e de $1,5 \times 10^4$ a $2,8 \times 10^8$ UFC/g nas amostras de queijo de manteiga (Tabelas 1 e 2). Esse número elevado sugere que ambos os queijos foram processados sob condições higiênicas insatisfatórias, comprometendo a qualidade e a vida-de-prateleira do produto, uma vez que bolores e leveduras são potenciais deterioradores de produtos lácteos. FEITOSA [8] relatou contagens de bolores e leveduras em amostras de queijo de coalho em valores que variaram de $8,6 \times 10^3$ a $3,2 \times 10^6$ UFC/g, enquanto que FLORENTINO & MARTINS [9] observaram em queijo de manteiga contagens desses microrganismos entre $2,0 \times 10^2$ a $1,1 \times 10^3$ UFC/g.

TABELA 1. Avaliação microbiológica de queijo de coalho do Estado do Rio Grande do Norte.

Microorganismos	Contagens	N ^o de amostras	%
Coliformes totais (NMP/g)	< 3	0	0
	11 a 100	3	27,3
	100 a ≥ 2400	8	72,7
Coliformes fecais (NMP/g)	< 3	7	63,6
	3 a 7	4	36,4
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	< 3	7	63,6
	3 a 7	4	36,4
Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	< 10	3	27,3
	$7,0 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^8$	8	72,7
<i>Salmonella sp.</i> (em 25g)	Ausência	10	90,9
	Presença	1	9,1
<i>Listeria</i> (em 25g)	Ausência	10	91%
	Presença	1	9%
<i>L. monocytogenes</i> (em 25g)	Ausência	11	100
	Presença	0	0
Bolores e leveduras (UFC/g)	$1,9 \times 10^4$ a $4,8 \times 10^8$	11	100

A ocorrência de *S. aureus* foi observada em 72,7% das amostras de queijo de coalho (Tabela 1) e 84,7%

das amostras de queijo de manteiga (Tabela 2), com contagens variando de $7,0 \times 10^4$ a $1,3 \times 10^8$ UFC/g e $2,4 \times 10^2$ a $8,6 \times 10^6$ UFC/g, respectivamente. Esses valores são considerados altos e acima do limite permitido pela legislação (5×10^3 UFC/g). Nestas condições, ambos tipos de queijos foram classificados como produto em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. A prevalência de *S. aureus* como agente etiológico da mastite bovina, sua ubiquidade na natureza e o baixo nível sócio-econômico dos ordenhadores, muitas vezes portadores assintomáticos e possuidores de maus hábitos higiênicos são fatores que favorecem a contaminação dos queijos [1, 12]. Além disso, concentrações superiores a 10^5 células/g podem propiciar a produção de enterotoxinas [10], tornando esse alimento um risco potencial à saúde do consumidor. PAIVA & CARDONHA [17] constataram a presença de estafilococos coagulase positiva em 80% das amostras estudadas de queijo de coalho artesanal, produzidos no Rio Grande do Norte, com identificação de *S. aureus* em 30% das mesmas. A ocorrência desse patógeno também foi relatada em queijo de coalho produzido nos Estados de Pernambuco [14], Paraíba [9] e Ceará [8].

TABELA 2. Avaliação microbiológica de queijo de manteiga do Estado do Rio Grande do Norte.

Microrganismos	Contagens	N ^o de amostras	%
Coliformes totais (UFC/g)	< 3	2	15,4
	7 a 100	5	38,8
	100 a ≥ 2400	6	45,8
Coliformes fecais (UFC/g)	< 3	11	84,6
	4	2	15,4
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	< 3	12	92,3
	4	1	7,7
Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	< 10	2	15,3
	$1,0 \times 10^2$	1	7,7
	$5,6 \times 10^2$ a $8,6 \times 10^6$	10	77,0
<i>Salmonella</i> sp. (em 25g)	Ausência	11	84,6
	Presença	2	15,4
<i>Listeria</i> (em 25g)	Ausência	11	85%
	Presença	2	15%
<i>L. monocytogenes</i> (em 25g)	Ausência	13	100
	Presença	0	0
Bolores e leveduras (UFC/g)	$1,5 \times 10^4$ a $2,8 \times 10^8$	13	100

Salmonella foi detectada em 9% das amostras de queijo de coalho (Tabela 1), e em 15% das de queijo de manteiga (Tabela 2). Por ser potencialmente capaz de provocar infecção alimentar, a presença dessa bactéria classifica ambos os queijos como produtos impróprios para consumo. A Legislação Brasileira estabelece ausência de *Salmonella* sp. em alimentos. Em estudo realizado por PAIVA & CARDONHA [17] esse patógeno não foi detectado em queijo de coalho produzido no Rio Grande do Norte. FLORENTINO & MARTINS [9] detectaram *Salmonella* em 30% das amostras de queijo de coalho artesanal produzidos em várias regiões do Estado da Paraíba. MENDES et al. [14] avaliaram queijo de coalho comercializado em Recife, oriundos de 15 municípios de Pernambuco e observaram a presença de *Salmonella* em queijos produzidos em 73,3% dos mesmos.

Listeria sp. foi detectada em 9% e 15% das amostras de queijos coalho e manteiga (Tabelas 1 e 2), respectivamente, quando foi utilizado o teste ELISA, mas a presença de *L. monocytogenes* não foi confirmada pelo método convencional. SOUSA [23] também, observou *Listeria* sp. em 17,1% das amostras de queijo de coalho artesanal comercializados em Fortaleza-CE, com incidência de 1,4% de *L. monocytogenes*. Por outro lado, SILVA, HOFER & TIBANA [21] constataram alta incidência (41,17 %) de *L. monocytogenes* em queijo Minas Frescal artesanal.

4 - CONCLUSÕES

Os queijos de coalho e de manteiga, oriundos das seis microrregiões do Rio Grande do Norte envolvidas no estudo, não apresentam segurança alimentar, visto que cerca de 70% das amostras apresentaram estafilococos coagulase positiva e, aproximadamente 12%, a presença de *Salmonella*. Além disso, a elevada população de bolores e leveduras detectada indica deficiência nos procedimentos de higiene durante o processamento. Nestas condições, ambos os queijos são classificados como sendo impróprios para o consumo humano, com base nos padrões microbiológicos vigentes na Legislação Brasileira.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADAMS, M.R.; MOSS, Y.M.O. **Food microbiology**. 2. Cambridge: the Royal Society of Chemistry, 2000. p. 258-263
- [2] BASTOS, M. do S.R.; NASSU, R.T.; BORGES, M. de F.; SILVA, J.B. Inspeção em uma indústria produtora de queijo tipo coalho no estado do Ceará, visando a implantação das boas práticas de fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, p.130-136, 2001.
- [3] BORGES, M. de F.; BRANDÃO, S.C.C.; PINHEIRO, A.J.R. Sobrevivência de *Salmonella* em queijo Minas Padronizado durante a maturação. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 276-281, 1990.
- [4] BRASIL. Ministério da Agricultura. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. Portaria nº 146, de 07/03/1996. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 11/03/1996. p.3977-3978.
- [5] BRASIL. 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**, Brasília, 02/01/2001. p.1-54.
- [6] DOWNES, F.P.; ITO, H. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.
- [7] FABER, J.M.; DALEY, E. **Health protection branch Ottawa: enumeration of *Listeria monocytogenes* in food**. Ottawa: Polyscience, 1995. 13p.
- [8] FEITOSA, T. **Estudos tecnológicos, físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do queijo de coalho do estado do Ceará, Fortaleza**. 1985. 96 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará (UFCE).

- [9] FLORENTINO, E.S.; MARTINS, R.S. Características microbiológicas do "queijo de coalho" produzido no estado da Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 59, p. 43-48, 1999.
- [10] FORSYTHE, S.J. **The microbiology of safe food**. London: Blackwell Science, 2000. p. 155-201
- [11] GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M.I.S. Higiene do leite: aspectos gerais das mastites. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 9, n. 36, p. 12-16, 1995.
- [12] GOMES, H. de A.; GALLO, G. R. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e produção de enterotoxinas por linhagens isoladas a partir de leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo minas frescal comercializados em Piracicaba - SP. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 158-161, 1995.
- [13] KNIGHT, M.T.; NEWMAN, M.C.; BENZINGER Jr, M.J.; AGIN, J.R.; ASH, M.; SIMS, P.; HUCHES, D. Tecra *Listeria* visual immunoassay (TLVIA) for detection of *Listeria* in foods; collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 79, n 5, p. 1083-1094, 1996.
- [14] MENDES, E.S.; LIMA, E.C.; NUMERIANO, A.K.M.; COELHO, M.I.S. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* e coliformes em queijos de "coalho" comercializadas em Recife. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66/67, p. 122-126, 1999.
- [15] MODI, R.; HIRVI, Y.; HILL, A.; GRIFFITHS, M.W. Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. **Journal Food Protection**, Ames, v.64, n. 7, p. 927-933, 2001.
- [16] NASSU, R.T; MOREIRA, C.G.; ROCHA, R.G. de A.; FEITOSA, T.; BORGES, M. de F.; MACEDO, A.A.M. Diagnóstico das condições de processamento e qualidade microbiológica de produtos regionais derivados do leite produzidos no estado do Rio Grande do Norte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, p. 121-126, 2000.
- [17] 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, p.33.
- [18] PINTO, P. S. A.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Queijo minas: problema emergente de Saúde Pública. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 22-27, 1996.
- [19] RUDOLF, M.; SCHERER, S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 63, p. 91-98, 2001.
- [20] SANTOS, F. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; CUNHA, G. M. A., Aspectos microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em Fortaleza - Ceará. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 13, n. 1, p. 31-361, 1995.
- [21] SILVA, M.C.D.; HOFER, E.; TIBANA, A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Food Protection**, Ames, v. 61, n. 3, p. 354-356, 1998.
- [22] SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 229p.
- [23] SOUZA, R.A. **Incidência de *L. monocytogenes* em queijo tipo coalho artesanal comercializado à temperatura ambiente em Fortaleza - CE**. Fortaleza, 2002. 78F. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará (UFCE).

6 - AGRADECIMENTOS

Ao Banco Mundial/PRODETAB pelo financiamento do projeto.