

TERMO DE APROVAÇÃO

Carolina Rubini

LEVANTAMENTO DA PRESENÇA DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO
BACTERIANA EM QUEIJOS PRODUZIDOS PELOS ESTABELECIMENTOS
INDUSTRIAIS DE LEITE E DERIVADOS REGISTRADOS NO SERVIÇO DE
INSPEÇÃO DO PARANÁ

Monografia aprovada como requisito parcial para obtenção do Certificado de Especialização no Curso de Especialização Gestão em Defesa Agropecuária: com ênfase em **Inspeção de Produtos de Origem Animal**, Universidade Federal do Paraná – UFPR, pela seguinte banca examinadora:

Orientador(a): Ms Elza de Moraes

Membros:

Prof. José Francisco Warth

Prof. Renato Silva de Sousa

Prof. Antonio Waldir Cunha da Silva

Curitiba, 31/08/2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAROLINA RUBINI

LEVANTAMENTO DA PRESENÇA DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO
BACTERIANA EM QUEIJOS PRODUZIDOS PELOS ESTABELECIMENTOS
INDUSTRIAIS DE LEITE E DERIVADOS REGISTRADOS NO SERVIÇO DE
INSPEÇÃO DO PARANÁ

CURITIBA
2011

CAROLINA RUBINI

LEVANTAMENTO DA PRESENÇA DE INDICADORES DE CONTAMINAÇÃO
BACTERIANA EM QUEIJOS PRODUZIDOS PELOS ESTABELECIMENTOS
INDUSTRIAIS DE LEITE E DERIVADOS REGISTRADOS NO SERVIÇO DE
INSPEÇÃO DO PARANÁ

Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Especialista, no Curso de Especialização em Defesa Agropecuária – Inspeção de Produtos de Origem Animal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Ms Elza de Moraes

CURITIBA
2011

SUMÁRIO

RESUMO	iii
ABSTRACT	iv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 LEGISLAÇÃO	3
2.2 QUEIJOS	4
2.3 PRINCIPAIS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS NO QUEIJO	6
2.3.1 Coliformes	6
2.3.2 <i>Staphylococcus sp.</i>	8
2.3.3 <i>Salmonella sp.</i>	9
2.3.4 <i>Listeria sp.</i>	11
3 METODOLOGIA	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	14
5 CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS	19

RESUMO

A produção de queijo consome cerca de 30% da produção de leite nacional, sendo um produto de grande aceitação pela população. Porém por ser um meio de cultura para microorganismos, os cuidados durante sua produção devem ser rigorosos, abrangendo desde a obtenção de uma matéria prima de qualidade até os cuidados com o armazenamento nos pontos de venda. Cabe aos Serviços Oficiais de Inspeção, no âmbito de suas instâncias, a fiscalização das indústrias de produtos de origem animal. O Serviço de Inspeção do Estado do Paraná (SIP/POA) nos anos de 2009 e 2010 coletou, respectivamente, 74 e 114 amostras de queijo de vários tipos para realização de análises microbiológicas. Os resultados demonstraram que 10,8% (2009) e 11,4% (2010) das amostras estavam em desacordo com a Resolução RDC n.12 de 2 de janeiro de 2001, sendo que em 2009 todas as amostras estavam em desacordo para coliformes a 45°C e em 2010 valores acima do estabelecido para coliformes a 45°C ocorreram em 9,65% das amostras coletadas e em 1,75% detectou-se *Listeria monocytogenes*.

Palavras-chave: queijo, contaminação microbiológica, Serviço de Inspeção.

ABSTRACT

Cheese production consumes about 30% of national milk production, being a product of great acceptance among the population. But been a breeding ground for microorganisms, care during their production should be strict, ranging from obtaining a high quality raw material to the care of storage at point of sale. It is up to Inspection Official Services, within each instance, the supervision of animal products industry. The Inspection Service of the State of Paraná (SIP / POA) for the years 2009 and 2010 collected, respectively, 74 and 114 samples of various types of cheese to perform microbiological analysis. The results showed that 10.8% (2009) and 11.4% (2010) of the samples were in disagreement with the RDC n.12 of January 2, 2001. In 2009 all samples were at odds for coliforms 45°C and in 2010 up values set for coliforms at 45 ° C occurred in 9.65% of the samples and in 1.75% were detected *Listeria monocytogenes*

Keywords: cheese, microbiological contamination, Inspection Service.

1 Introdução

Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado obtido por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial, ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade aceitável para o uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1952 e PARANÁ, 2005). Aproximadamente 25% do leite produzido no Brasil é destinado a produção de queijo, o qual é um alimento de grande valor nutricional e grande consumo por parte da população (Fernandes *et al*, 2006). Segundo Oliveira. (2008), avaliando-se o destino do leite nos estabelecimentos sob Inspeção Federal, conclui-se que 30% deste é destinado a fabricação de queijos.

Por ser o leite e seus derivados excelentes meios de cultura, condições higiênicas sanitárias deficientes e falha nas boas práticas dos manipuladores, podem levar a contaminação destes produtos, acarretando graves problemas de saúde pública (Raimundo *et al*, 2005). A higiene do leite e derivados lácteos tem como objetivo básico assegurar a inocuidade dos produtos e saúde dos consumidores. A presença de certos microrganismos e suas toxinas constitui as causas mais freqüentes de problemas sanitários relacionados aos produtos lácteos (Mieller, 2008).

A todo produto de origem animal é obrigatória a prévia inspeção sanitária e industrial (BRASIL, 1950). Para a execução desta atividade em 1989 foi sancionada a Lei Federal nº 7889 que dispõe sobre as instâncias de inspeção. A partir daí o Serviço de Inspeção Federal (SIF) passou a atuar sobre as empresas que fazem o comércio interestadual e internacional, o Serviço de Inspeção Estadual (SIE) sobre o comércio entre os municípios de um mesmo estado e o Serviço de Inspeção Municipal (SIM) sobre o comércio dentro de seu município (BRASIL, 1989).

O Serviço de Inspeção do Paraná/Produtos de Origem Animal – SIP/POA foi criado através da Lei Estadual nº 10.799 de 24 de maio de 1994, a mesma que tornou obrigatória o registro de todo estabelecimento que produzam matéria prima, manipulem, beneficiem, transformem, industrializem, preparem, acondicionem,

embalem produtos de origem animal, adicionados ou não de produtos vegetais e os comercializem no âmbito do estado (Paraná, 1994).

Assim, este trabalho teve por objetivo realizar um levantamento de bactérias patogênicas nos vários tipos de queijos produzidos pelos laticínios registrados no Serviço de Inspeção do Paraná/Produtos de Origem Animal (SIP/POA), coletados durante o ano de 2009 e 2010.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 LEGISLAÇÃO

Em 1952 a Lei nº 1283 é regulamentada através do Decreto nº 30.691 (RIISPOA), onde são estabelecidas normas que regulam a inspeção industrial e sanitária de todos os produtos de origem animal. Tal regulamento estabeleceu padrões físico-químicos e microbiológicos para o leite destinado tanto ao consumo como para industrialização. Porém para os queijos estabeleceu somente suas denominações, deixando para os regulamentos técnicos de identidade e qualidade suas especificações (BRASIL, 1952).

Em 1996, através da Portaria nº 146, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, aprovou os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade (RTIQ's) dos Produtos Lácteos, a qual inclui o RTIQ dos queijos e o RTIQ de requisitos Microbiológicos de queijos (BRASIL, 1996). Posteriormente em 2002, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA, aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos (Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001), a qual inclui o padrão microbiológico de qualidade de queijo (BRASIL, 2001). O objetivo de ambas as legislações é o de garantir a qualidade e segurança microbiológica do queijo comercializados no âmbito nacional e internacional, adequando as exigências do Mercosul (PINTO *et al*, 2008).

No estado do Paraná o Decreto nº 3005 de 20 de dezembro de 2000 regulamentou as atividades de normatização, fiscalização e execução da inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, as quais são coordenadas pela Secretaria de Estado da Agricultura, Pecuária e do abastecimento – SEAB, Departamento de fiscalização – DEFIS, através do SIP/POA (PARANÁ, 2000). O SIP/POA tem como objetivo promover, manter e preservar a qualidade higiênico sanitária na obtenção da matéria prima, manipulação, industrialização, embalagem, transporte, conservação e comercialização dos produtos de origem animal, através das ações de orientação ao produtor, análise de projeto e fluxo de produção,

vistorias de estabelecimentos, registro de estabelecimentos e produtos, fiscalização, coleta de amostras para análise no laboratório oficial, apreensões, suspensões, interdições e educação sanitária.

Segundo Oliveira (2008), cabe, portanto, as autoridades responsáveis pelos serviços de inspeção dos produtos de origem animal no âmbito das esferas federal, estadual e municipal fiscalizarem as atividades das indústrias e as vigilâncias sanitárias, no âmbito dos municípios, fiscalizarem o comércio varejista, no intuito de verificar o cumprimento da legislação.

A fim de nortear os estabelecimentos quanto aos procedimentos de higiene e de boas práticas na elaboração de alimentos, tanto a ANVISA quanto o MAPA estabeleceram requisitos para implantação de Boas Práticas de Fabricação e de Procedimentos Padrões de Higiene Operacional, através da Portaria M.S. nº 1428/93, Resolução RDC nº 275/02 e Portaria nº 368/97. Posteriormente em 2005, o MAPA publicou as Circulares nº 175 e 176 que trata da implantação dos autocontroles nas indústrias.

2.2 QUEIJOS

A possibilidade de produção de queijo através do leite foi descoberta por acidente quando se colocou leite em um recipiente feito a partir do estômago de bezerras, onde o leite coagulou pela ação da renina (HAMMER & BABEL, 1957). O queijo se caracteriza por ser um alimento preparado com leite acrescido de materiais biológicos (coalho e microrganismos) e outros ingredientes (SPREER¹, 1991 *apud* FERNANDES *et al* 2006). Portanto, para o preparo de derivados como o queijo, a matéria-prima deve ser obtida em condições higiênico-sanitárias ideais e ser resfriado logo após sua obtenção, pois os elementos contidos no leite formam um excelente substrato para o crescimento de microrganismos, afetando a qualidade do produto final (ALBUQUERQUE & RODRIGUES, 2008). Ainda conforme Hammer & Babel (1957), apesar do leite destinado para fabricação de queijos ser manipulado de forma menos rígida do que o leite destinado ao consumo direto, a qualidade deste é de suma importância, visto que o queijo será de inferior qualidade se

¹SPREER, E. **Lactologia industrial**. 2ª ed. Zaragoza: Scribia, p. 617, 1991.

produzido a partir de uma matéria prima com presença de uma grande número de microorganismos e com outros defeitos.

De acordo com legislação, a pasteurização do leite é obrigatória para produção de todos os tipos de queijos, com exceção daqueles que sofrem processo de maturação superior a 60 dias (PARANÁ, 2005). Porém o tratamento térmico do leite destinado a produção de queijos é um tema polêmico. A pasteurização do leite garante a destruição de microorganismos patogênicos como *Campylobacter* e *Salmonella* e favorece o crescimento das bactérias fermentativas por redução da carga microbiana original do leite. O tratamento térmico também provoca um pequeno aumento do rendimento devido ao calor induzido por interações que ocorrem entre a caseína e proteínas do soro. Entretanto, alguns produtores e consumidores são contra a pasteurização porque consideram que ocorre perda na qualidade organoléptica do produto (VARNAM & SUTHERLAND, 1995).

Segundo Hayes (1993), existem aproximadamente 400 variedades de queijos; sendo que a maioria dos queijos é fabricada utilizando o mesmo processo básico, variando somente os microorganismos, as enzimas, a quantidade de sal adicionada, a temperatura na produção e o tempo de maturação. O queijo fresco é aquele pronto para o consumo logo após a sua fabricação. Já o queijo maturado sofre trocas bioquímicas e físicas próprias às características do seu tipo e variedade (PARANÁ, 2005). Com relação aos tratamentos aplicados a massa, obtida por coagulação do leite, os queijos podem ser classificados em diversos tipos: massa crua, semi cozida ou cozidas (minas frescal, prato e parmesão respectivamente), massa filada (mussarela), de coagulação ácida (cottage), massa fundida (requeijão e queijo pasteurizado) e massa obtida com proteínas do soro (ricota) (OLIVEIRA², 1966 *apud* FERNANDES *et al*, 2006).

A flora microbiana presente nos diversos tipos de queijo é variável, de acordo com uma série de fatores, sobretudo a qualidade microbiológica da matéria prima (leite), a intensidade do tratamento térmico, o tipo de cultivo lácteo empregado e as condições de higiene durante o processo (JAY, 2000). Para Pinto *et al* (2008) além de mastite e condições inadequadas de ordenha, o processo de fabricação em

² OLIVEIRA, J.S. Queijos: fundamentos tecnológicos (v.9). São Paulo: Governo do Estado de São Paulo, 1986.

instalações deficientes e sem higiene, o armazenamento e transporte inadequados e a exposição a grandes variações de temperaturas, desde a produção até o consumidor, contribuem para a má qualidade dos queijos comercializados.

2.3 PRINCIPAIS BACTÉRIAS PATOGÊNICAS NO QUEIJO

Em termos gerais, dentro do campo da microbiologia de alimentos, sem dúvida as contaminações microbianas dos alimentos são indesejáveis e inclusive nocivas. Este aspecto é encarado com tal rigor que para se conhecer a existência de possíveis deficiências higiênicas, as quais implicariam em contaminações alimentares, voltam-se as atenções para grupos de microrganismos, desde aqueles considerados indicadores, como também para os patogênicos que encontram no alimento um meio propício para o desenvolvimento e até mesmo a liberação de substâncias tóxicas (FRANCO & ALMEIDA³, 1992 *apud* SALOTTI *et al*, 2006).

2.3.1 Coliformes

Os coliformes são bastante difundidos e encontrados em muitos alimentos, mas não indicam necessariamente uma contaminação fecal (MILLER, 2008). Antigamente os coliformes fecais eram definidos como aqueles capazes de fermentar a lactose com produção de gás em 48h a 45°C, porém não só a *Escherichia coli* como algumas cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* podem apresentar essa característica, sendo que somente a *Escherichia coli* tem como habitat primário o intestino humano e de animais. Frente a isso, o Ministério da Saúde adotou a denominação de coliformes a 45°C tanto para “coliformes de origem fecal” como para “coliformes termotolerantes” (SILVA, 2006).

Estes microrganismos são subdivididos em dois grupos: os coliformes totais (coliformes a 35°C, oriundos do trato gastrointestinal e do ambiente, usados como indicadores da qualidade higiênica dos alimentos) e os coliformes a 45°C (provenientes de contaminação fecal e usados como indicadores da qualidade

³ FRANCO, R.M. & ALMEIDA, L.E.F. Avaliação microbiológica de queijo ralado, tipo parmesão, comercializado em Niterói, RJ. **Rev. Hig. Alimentar**, v.6, n.21, p.33-36, 1992.

sanitária dos alimentos) (FRANCO & LANDGRAF, c2008). O grupo de Coliformes totais 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 à 48 hora 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. 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 as cepas de *Enterobacter* e *Klebsiella* de origem não fecal. A *E. coli* é a mais conhecida, sendo seu habitat o trato gastrintestinal ela é a indicadora de contaminação fecal em alimentos processados (SILVA⁴, 1997 *apud* GEUS, 2008).

O CO₂ produzido pelos coliformes nos primeiros dias da maturação adquire importância por ser responsável pela formação de grande número de pequenos buracos na massa, porém se a contaminação por coliformes for excessiva ocorrerá o que se chama de inchamento precoce do queijo, pela formação de grande quantidade do gás. Com o avanço do período de maturação (2 a 3 meses), o pH da massa desce a valores suficientes para deter o crescimento dos coliformes, chegando a não detecção destes microorganismos ou a detecção de valores muito baixos (ORDÓÑEZ *et al*, 2005).

Do ponto de vista de saúde pública, a identificação de *E. coli* é de suma importância por serem estas responsáveis por surtos de toxinfecções alimentares (ALMEIDA & FRANCO, 2003). A *E. coli* é uma enterobactéria Gram-negativa, catalase positiva e oxidase negativa, não esporogênica, capaz de se desenvolver a temperaturas de 7 a 46°C, sendo a temperatura ótima 37°C. Não é termorresistente, podendo ser destruída a 60°C, mas resiste à temperatura de 4°C. O pH ótimo de crescimento é próximo ao neutro e a atividade da água (*a_w*) é de 0,95. Os Sorotipos são definidos com base nos antígenos: somático (O), flagelares (H) e capsulares (K). As doses infectantes variam com a cepa, idade do indivíduo exposto e seu estado imune, sendo que nas infecções enterohemorrágicas e enteroinvasivas a dose infectante é de apenas 10 células. A infecção enteropatogênica tem período médio

⁴SILVA, N. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. Valéria Christina Amstalden - São Paulo:Livraria Varela,1997, p31.

de incubação de 36 horas e duração de 6 horas a 3 dias, caracteriza-se por diarreia aquosa e com muco, náuseas, dores abdominais, vômitos, cefaléia, febre e arrepios. Já as cepas enterotoxigênicas têm período de incubação de 8 a 44 horas e duração de 3 a 19 dias. Os sintomas observados são diarreia aquosa, febrícula, cólicas, mal-estar e náuseas. Nas infecções enterohemorrágicas os primeiros sintomas ocorrem em média 4 dias após a ingestão e o quadro clínico é bem mais severo, passando por diarreia profusa hemorrágica, dor abdominal intensa e vômitos evoluindo para nefropatia aguda, convulsões, coma e morte. As infecções enteroinvasivas ocorrem em 8 a 24 horas e podem durar até algumas semanas, os sintomas principais são diarreia profusa, cólicas abdominais, arrepios, febre, cefaléia e mialgia (GERMANO & GERMANO, 2008).

Na produção de queijos até o sétimo dia de maturação pode ocorrer triplicação destas bactérias, sendo que posteriormente ocorre decréscimo. Tanto no Brasil quanto no exterior ainda não houve confirmação da ocorrência da *E. coli* enterohemorrágica sorotipo O157:H7 (PINTO, 2008). Entretanto Ramsaran *et al*⁵ (1998, citado por Fernandes *et al*, 2006) observaram em queijos com período de maturação de 65 a 75 dias a 2°C que o sorotipo O157:H7 não somente sobreviveu ao processamento, como estava presente em maior quantidade ao final do armazenamento que no inóculo inicial.

2.3.2 *Staphylococcus sp.*

A intoxicação alimentar estafilocócica foi estudada pela primeira vez em 1894, em uma intoxicação provocada pelo consumo de leite contaminado com *Staphylococcus aureus*. A gastroenterite estafilocócica é causada pela ingestão de alimento que contenha uma ou mais enterotoxinas, as quais são produzidas somente por algumas espécies de estafilococos. Existem mais de 30 espécies de bactérias deste gênero e cerca de 18 são de real e potencial interesse em alimentos. No geral este gênero de bactéria é encontrado, pelo menos em pequena quantidade, em todo produto de origem animal, ou naqueles que são manipulados diretamente

⁵ RAMSARAN, H. *et al.* Survival of bioluminescent *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in soft cheeses. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.1810-1817, 1998.

pelo homem, e que não sofreram nenhum tipo de processo térmico que possa eliminá-lo (JAY, 2000).

O *Staphylococcus aureus* é o agente mais comum nas toxinfecções causadas por este gênero (FRANCO & LANDGRAF, c2008). O *S. aureus* é um coco Gram-positivo, anaeróbico facultativo, coagulase-positivo, catalase-positivo e oxidase-negativo. A toxina produzida por algumas cepas é termestável e classificada em A, B, C₁, C₂, D e E, sendo que as mais comuns são a A e D. A dose tóxica é inferior a um mg ocorrendo em contaminação superior a $1,0 \times 10^5$ UFC/g de *S. aureus* (GERMANO & GERMANO, 2008). A temperatura ótima de crescimento é de 37°C (7 a 47,8°C), já as toxinas são produzidas entre 10 a 46°C, sendo temperatura ótima de 40 a 45°C. O pH de crescimento varia de 4 a 9,8 e a A_w mínima é 0,86 (JAY, 2000). É importante ressaltar a tolerância do *S. aureus* ao sal e à A_w reduzida, onde esta bactéria se multiplica com facilidade (GERMANO & GERMANO, 2008). Pinto *et al* (2008), afirma que nessas condições a produção de enterotoxina é inibida.

Os seres humanos são considerados reservatório natural de *S. aureus*. Estima-se que 20 a 60% da população sejam portadora assintomática, tornando um grande risco quando da manipulação de alimento durante as diferentes fases do preparo. A contaminação pode ocorrer pelas mãos e secreções oronasais. Os animais, particularmente os bovinos, também podem ser portadores de cepas humanas. Estas podem ser passadas através da manipulação, como no caso do gado leiteiro, onde ocorre mastite por *S. aureus*, transmitidas durante a ordenha. O período de incubação médio é de 2 a 4 horas (30 minutos a 8 horas), sendo que os sintomas mais freqüentes são náusea, vômito, cólicas abdominais e diarreia, a recuperação ocorre em 24 a 48 hora, com exceção do lactentes, idosos e enfermos, os quais inspiram maiores cuidados (GERMANO & GERMANO, 2008). Nos queijos o *S. aureus* triplicam nas primeiras 24 horas após a fabricação, contudo não se multiplicam durante a fase de maturação (PINTO *et al*, 2008).

2.3.3 *Salmonella* sp.

As salmonelas são pequenos bacilos, gram-negativos e não esporulados. Estão amplamente difundidas na natureza, sendo que o homem e os animais são

reservatórios naturais. O principal habitat é o trato intestinal, mas podem ser encontradas em outras partes do corpo (JAY, 2000). Também são consideradas anaeróbias facultativas, catalase-positivas, oxidase-negativas e redutoras de nitrito e nitrato. Multiplicam-se em temperaturas entre 7 e 49,5°C, sendo a ótima 37°C. Quatro horas após contaminação o alimento pode se tornar infectante. A A_w afeta diretamente o crescimento da bactéria; embora o limite mínimo seja 0,94, em baixa A_w podem sobreviver por até 1 ano. O pH mínimo de crescimento é 3,8 (GERMANO & GERMANO, 2008).

Vários alimentos estão relacionados com a transmissão de *Salmonella spp*, a maioria deles de origem animal. Presume-se que todas as espécies e cepas de salmonelas são patogênicas para o homem e os sintomas clínicos são dores abdominais, diarreia, febre e vômito (SIQUEIRA⁶, 1995 *apud* FREO, 2006). As salmonelas agem na luz intestinal, provocando inflamação ao penetrar o epitélio do intestino delgado. Há evidências de que uma enterotoxina possa ser produzida no interior dos enterócitos. A doença ocorre entre 12 e 36 horas e o quadro clínico pode persistir por 1 a 3 dias, dependendo da dose infectante, do sorovar e das condições do hospedeiro (GERMANO & GERMANO, 2008). Para que ocorra um quadro de salmonelose, é necessária quantidade de células bacterianas na ordem de 10^7 a 10^9 UFC/g (JAY, 2000).

Os alimentos mais comumente envolvidos em surtos de salmonelose são aqueles com alto teor de umidade e alta porcentagem de proteína, como produtos lácteos (leite e queijos cremosos), ovos, carnes e seus derivados. (GERMANO & GERMANO, 2008). A *Salmonella* quando inicialmente presente em grande número no leite cru, pode sobreviver por longos períodos no queijo maturado. Nos queijos filados (mussarela) e cozidos (cottage) observou-se a destruição da bactéria quando submetidas a temperaturas de 60 e 51,7°C respectivamente (EL-GAZZAR & MARTH⁷, 1992 *apud* FERNANDES, 2006). Para Pinto *et al* (2008) há possibilidade do ácido láctico exercer efeito adverso sobre a salmonela, tanto que já foi verificado a inibição de *Salmonella spp* e *Listeria monocitogenes* por bactérias lácticas naturalmente presentes no leite cru. Citam trabalhos que mostram a baixa

⁶ SIQUEIRA, R.S. de Manual de Microbiologia de Alimentos. Rio de Janeiro: EMBRAPA – Centro Nacional de Pesq. de Tec. Agroindustrial de Alimentos, 1995.

⁷ EL-GAZZAR, F.E.; MARTH, E.H. Salmonellae, salmonellosis and dairy foods: A review. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p.2327-2343, 1992.

freqüência de isolamento de *Salmonella spp* em queijos, provavelmente devido ao pH, que varia entre 4 e 6,5, e da presença de bactérias competidoras. Durante a fase de produção pode ocorrer multiplicação bacteriana, já na fase de maturação há redução do número de bactérias. Essa redução varia conforme a temperatura de maturação, sendo que em temperaturas baixas é mais lenta.

2.3.4 *Listeria sp.*

A rapidez com que a *Listeria monocytogenes* surgiu como agente etiológico de doenças de origem alimentar é inigualável (JAY, 2000). Foi primeiramente reconhecido como entidade patogênica nos animais e somente na década de 80 que se tornou risco de saúde pública quando foi reconhecida a importância dos alimentos na cadeia de transmissão da infecção ao homem. Em 1988, a Organização Mundial de Saúde (OMS) considerou a *L. monocytogenes* uma bactéria de difícil controle e eliminação nos alimentos, por se tratar de um agente de ampla distribuição ambiental e que pode estar presente em todas as etapas da cadeia de produção de alimentos (GERMANO & GERMANO, 2008).

A *L. monocytogenes* é um bacilo gram-positivo, anaeróbico facultativo, catalase-positivo e não ácido-resistente, capaz de crescer em A_w inferior a 0,93 e cujo crescimento ocorre em temperaturas que variam de 4 a 35°C dependendo do pH, que também varia de 3,8 a 9,6 (JAY, 2000). São seis espécies distintas de *Listeria*, a *L. monocytogenes* (mais patogênica para o homem), a *L. innocua* e *L. Gray* (não patogênicas), a *L. welshimeri*, *L. seeligeri* e *L. ivanovii* (raramente acometem o homem). A dose infectante não está determinada, no leite sabe-se que é necessária quantidade superior a 10^3 UFC para que haja invasão do epitélio gastrointestinal. O período de incubação é variável (um dia a três semanas), podendo desde sinais similares a gripe, passando por quadro gastroentérico e até meningite, encefalite e septicemia. Em gestantes pode ocorrer aborto, morte neonatal ou nascimento de crianças gravemente doentes (GERMANO & GERMANO, 2008).

Em relação à listeriose, encontra-se na literatura o relato de muitos casos em que a fonte da contaminação era o queijo macio, nos quais se observou ocorrência de *Listeria spp* também na superfície. O isolamento da *L. monocytogenes* em

queijos fabricados com leite cru é mais freqüente que naqueles fabricados com leite pasteurizado. Este patógeno pode sobreviver durante todas as fases do processamento, maturação e estocagem dos queijos. Atentar ao risco de contaminação cruzada, uma vez que a bactéria pode ser multiplicar mesmo sobre refrigeração (PINTO *et al*, 2008). Farber & Peterkin⁸ (1991, citado por Fernandes *et al*, 2006) citam que a *L. monocytogenes* não é totalmente inibida pelas bactérias produtoras de ácido láctico durante a fabricação e que a mesma é mais encontrada na massa do queijo.

Alguns trabalhos recentes demonstraram que a *L. monocytogenes* não é destruída pela pasteurização, acredita-se que isso ocorra devido à maior termorresistência da bactéria quando localizada no interior das células (leucócitos polimorfonucleares). Porém outros trabalhos afirmam que à temperatura mínima de pasteurização estabelecida (71,5°C por 15 segundos-FDA), ocorre destruição eficaz da *L. monocytogenes*. Existem ainda citações sobre a detecção de *L. monocytogenes* em leite pasteurizado mantido sobre refrigeração por tempo prolongado, não se sabe ao certo a causa (revitalização de bactérias lesadas ou crescimento de bactérias sobreviventes), o que esta claro é que a *L. monocytogenes* cresce a temperaturas de refrigeração (ORDÓNEZ e colaboradores, 2005).

Levando em consideração os riscos inerentes à contaminação de alimentos por *L. monocytogenes*, em 2009 o MAPA resolve instituir, através da Instrução Normativa nº 9, de 8 de abril, os Procedimentos de Controle da *L. monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo. O objetivo é monitorar e assegurar a inocuidade destes produtos em relação a este patógeno nos estabelecimentos que fabricam produtos de origem animal que apresentem as seguintes características físico-químicas: pH > 4.4 (superior a quatro ponto quatro) ou Atividade de Água > 0.92 (superior a zero ponto noventa e dois) ou concentração de cloreto de sódio < 10 % (inferior a dez por cento), respeitadas as características de seus processos de produção (BRASIL, 2009).

⁸ FARBER, J.M.; PETERKIN, P.I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiological Reviews**, v.55, p.476-511, 1991.

3 METODOLOGIA

As coletas das amostras foram realizadas pelos médicos veterinários fiscais do SIP/POA lotados nos núcleos regionais da SEAB, conforme cronograma de coleta de amostra para derivados lácteos elaborado pela chefia de leite e derivados. Para elaboração do cronograma levou-se em consideração o número de empresas produtoras de derivados lácteos registradas junto ao SIP/POA e a capacidade de análise do laboratório oficial “Centro Diagnóstico Marcos Enrietti - CDME”. A escolha da amostra a ser coletado cabe ao fiscal, o qual escolherá um produto aleatoriamente dentro daqueles produzidos pela indústria. As amostras são coletadas durante fiscalização de rotina, colocadas em sacolas lacre, específicas para este fim, e armazenadas em caixa de isopor com gelo reciclável, sendo enviadas imediatamente ao CDME.

As análises microbiológicas realizadas foram: coliforme a 45°C, estafilococcus coagulase positiva, presença de *Salmonella sp* e *L. monocytogenes*. Importante salientar que a análise de *L. monocytogenes* somente foi implantada apartir de 2010. A referência utilizada é o padrão microbiológico para queijos da Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Os resultados das análises de queijos realizadas nos anos de 2009 e 2010 foram compilados e avaliados levando em consideração se a amostra estava em acordo com a legislação, em desacordo com legislação ou imprópria para análise (amostras que chegam ao laboratório com temperatura alta, sacola lacre rompida, ou embalagem avariada) e os tipos de queijos analisados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No ano de 2009 foi realizado um total de 74 análises, sendo que 60 (81,1%) estavam de acordo com os padrões microbiológicos exigidos pela legislação, 8 (10,8%) estavam em desacordo e 6 (8,1%) amostras impróprias para análise. Já em 2010 o número de amostras analisadas foi de 114, sendo 97 (85,1%) em acordo, 13 (11,4%) em desacordo e 4 (3,5%) impróprias.

	Análises realizadas	de acordo	Desacordo	Impróprias
2009	74	60	8	6
2010	114	97	13	4

TABELA 1: análises realizadas nos anos de 2009 e 2010. Fonte: SEAB-SIP/POA

Como observado, a quantidade de amostras em desacordo é baixa quando comparada ao trabalho apresentado por Brant *et al* (2007), onde 37 (92,5%) das 40 amostras analisadas estavam em desacordo. Estudo similar realizado por Salotti *et al* (2006) demonstrou que das 30 análises realizadas com queijo inspecionado 20 (66,7%) estavam em desacordo. Em levantamento realizado pelo Serviço de Vigilância Sanitária da Prefeitura de Ribeirão Preto entre 1989 e 1990, 12 (92,3%) das 13 amostras apreendidas analisadas, estavam em desacordo para os parâmetros microbiológicos estabelecidos (PINTO *et al*, 2008).

Das amostras em desacordo, no ano de 2009, todas elas apresentaram contagem para coliformes a 45°C acima do estabelecido pela Resolução RDC nº 12/2001.

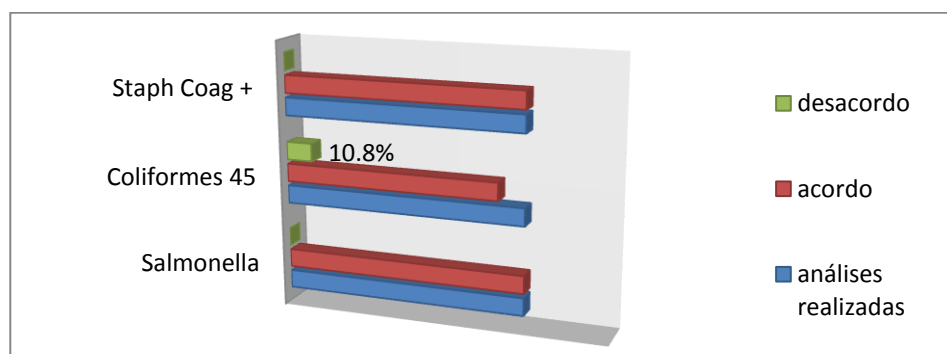


GRÁFICO 1: análises realizadas em 2009. Fonte: SEAB-SIP/POA

Já em 2010, 11 amostras obtiverem valores superiores a legislação para coliformes a 45°C e 2 amostras apresentaram presença de *L. monocytogenes*.

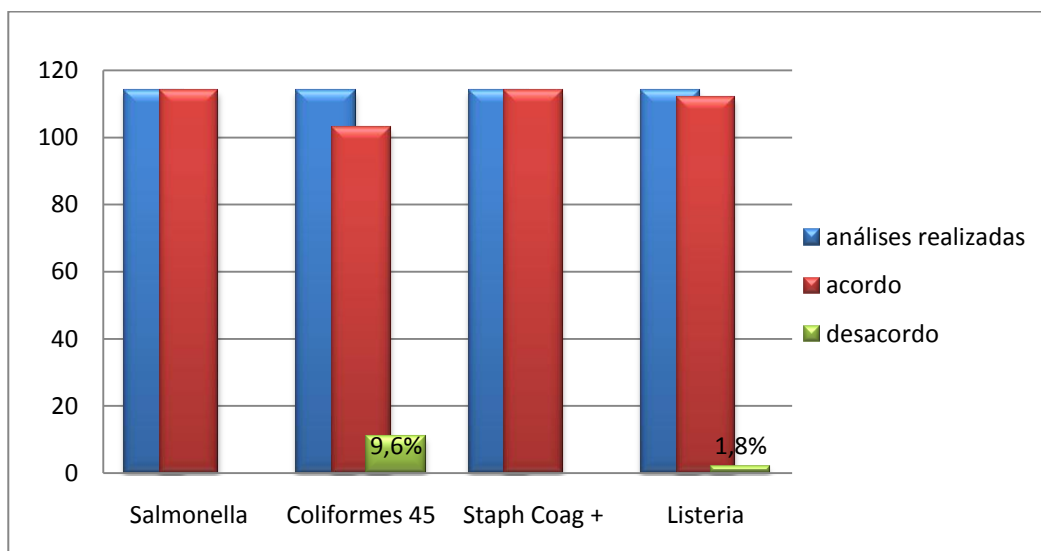


GRÁFICO 2: análises realizadas em 2010. Fonte: SEAB-SIP/POA

Também foram analisados os tipos de queijos coletados e os resultados das análises obtidos para cada um deles. Os gráfico 3 e 4 mostram estes resultados:

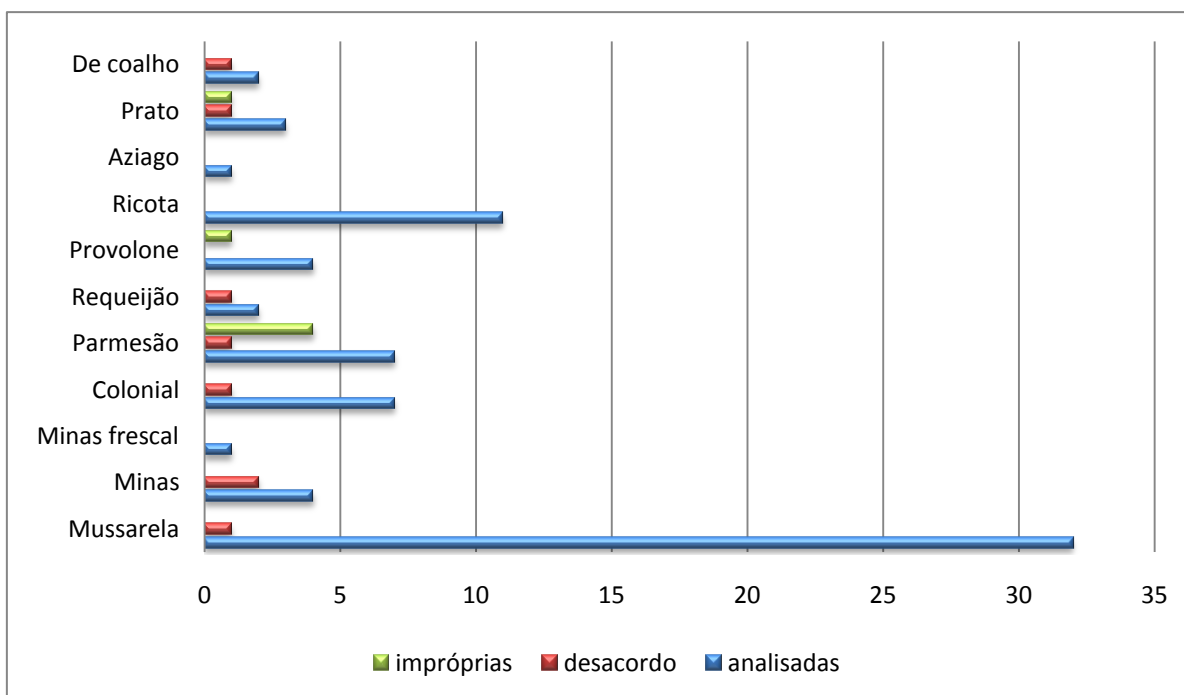


GRÁFICO 3: tipos de queijos analisados e resultados observados – 2009. Fonte: SEAB-SIP/POA

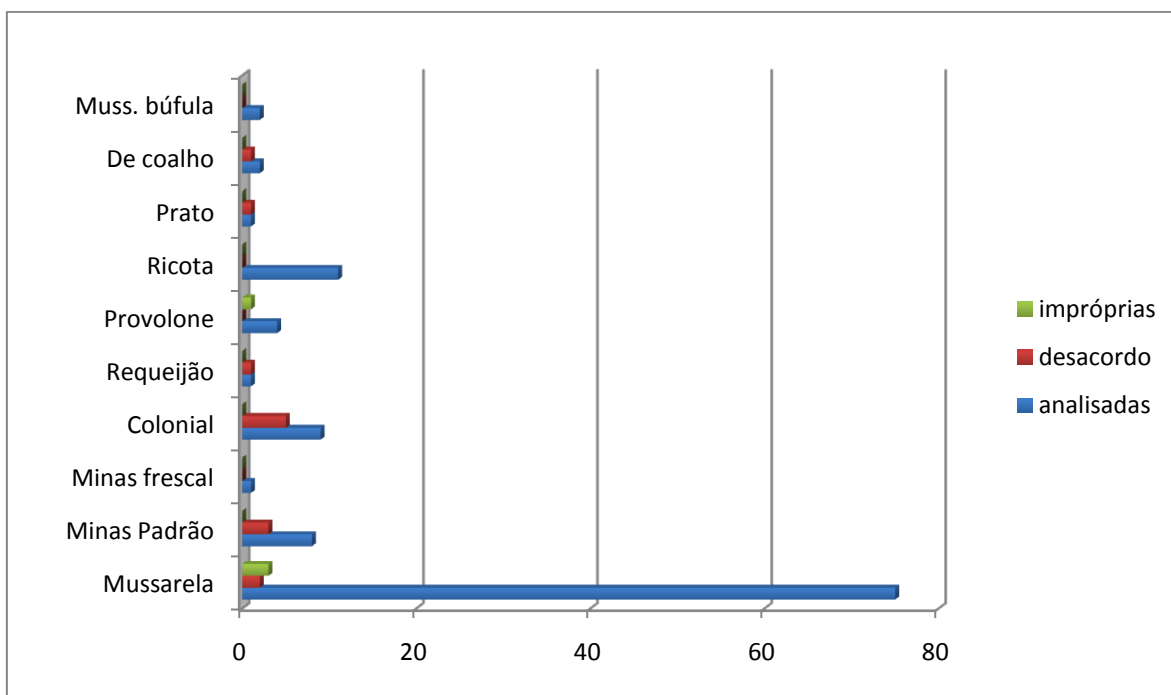


GRÁFICO 4: tipos de queijos analisados e resultados observados - 2010. Fonte: SEAB-SIP/POA

Em 2009 das amostras em desacordo para coliforme 45°C os tipos de queijos que tiveram este resultado foram: mussarela (1), minas padrão (2), queijo colonial (1), parmesão (1), requeijão (1), queijo prato (1) e queijo de coalho (1). No ano de 2010, as amostras em desacordo para coliforme 45°C foram: mussarela (1), minas padrão (3), queijo colonial (5), requeijão (1), queijo prato (1). Já para *L. monocytogenes* obtivemos 1 amostra para mussarela e 1 amostra para queijo de coalho.

Em trabalho realizado por Freo & Reolon (2006), onde analisaram queijo frescal e ricota, a contagem para coliforme 45°C também foi elevada, o que foi justificado pela provável contaminação excessiva da matéria prima, manipulação em condições precárias, temperaturas de armazenamento inadequadas e higiene deficiente dos manipuladores. Também não obtiveram análises positivas para *Salmonella sp.* Pereira *et al*⁹ (1999, citado por Fernandes *et al*, 2006) demonstrou que das 168 amostras dos vários tipos de queijo minas coletadas pelo Serviço de Inspeção Federal em Belo Horizonte, todas estavam ausentes para *Salmonella sp.*

A legislação estabelece ausência de *L. monocytogenes* em 25 g de queijo (Brasil, 2001). Esse patógeno tem sido detectado em proporções que variam de 2 a

⁹ PEREIRA, M.L. *et al.* Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella sp.* Em queijo minas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.51, p.427-431, 1999.

2,5%. Em queijos não inspecionados coletados no comércio de Belo Horizonte foi observado presença de *L. monocytogenes* em 10% das amostras (PINTO *et al*, 2008). Duarte *et al* (2005) analisou queijos de coalho comercializados no estado do Pernambuco e obteve 5,5% (7/127) das amostras com presença de *L. monocytogenes*, valor acima do observado neste estudo onde 1,8% (2/114) das amostras estavam em desacordo, sendo um queijo de coalho e uma mussarela.

No presente trabalho também não foram observados desacordos para estafilococos coagulase positiva, porém conforme Pinto *et al* (2008), esse grupo de bactéria foi diagnosticada como responsável por vários surtos de intoxicação alimentar envolvendo queijos. Em Fernandes *et al* (2006), os levantamentos analisados indicaram que o agente vinculado com maior frequência em queijos foi o *Staphylococcus aureus*, sendo que o minas frescal foi o principal vinculador.

5 CONCLUSÃO

Através do presente trabalho observou-se que a ocorrência de bactérias patogênicas em queijos produzidos nos estabelecimentos sobre inspeção estadual é de 11,16%, sendo observada maior ocorrência de coliformes a 45°C (10,1%), seguido pela presença de *Listeria monocitogenes* (1,06%). Apesar das ações da fiscalização, no intuito de fazer cumprir a legislação, e de programas que visam a prevenção de contaminação dos alimentos, como as Boas Práticas de Fabricação, os Procedimentos Padrões de Higiene Operacional, os Auto Controle, entre outros, ainda observa-se contaminação microbiológica dos alimentos acima dos limites de tolerância estabelecidos pela legislação. Portanto, cabe aos responsáveis pela cadeia produtiva um maior comprometimento na garantia da qualidade dos produtos por ela processados, através da efetiva implantação dos métodos de controle de qualidade abrangendo desde a obtenção das matérias primas, passando pelo processamento industrial até a comercialização.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, I.P.S. & RODRIGUES, M.A.M. Qualidade microbiológica do queijo tipo mussarela artesanal comercializado em Uberlândia, MG. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**, v. 22, n. 162, p. 101-105, jun., 2008.

ALMEIDA, P.M.P.; FRANCO, R.M. Avaliação bacteriológica de queijo tipo Minas Frescal com pesquisa de patógenos importantes à saúde pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp* e Coliformes Fecais. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**. v.17, n.111, ago, 2003.

BRANT;L.M.F.; FONSECA,L.M; SILVA, M.C.C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.59, n.6, p.1570-1574, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abmvz/v59n6/33.pdf>> Acesso em: 11/04/2011.

BRASIL. Decreto n. 30.691, de 29 de março de 1952. Disponível em: <<http://www.agais.com/normas/riispoa/decreto30691.pdf>>. Acesso em: 20/05/2011.

BRASIL. Lei n. 1.283, de 18 de dezembro de 1950. Disponível em: <<http://www.agais.com/normas/riispoa/lei1238.pdf>>. Acesso em: 20/05/2011.

BRASIL. Lei n. 7.889, de 23 de novembro de 1989. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=192>>. Acesso em: 20/05/2011.

BRASIL. Portaria n. 146, de 07 de março de 1996. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1218>>. Acesso em: 20/05/2011.

BRASIL. Resolução RDC n. 12, de 02 de janeiro de 2001. Disponível em: <[HTTP://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm)>. Acesso em: 10/04/01.

BRASIL. Instrução Normativa n. 9, de 8 de abril de 2009. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, n. 68, 9 de abril de 2009. Seção 1, p. 9. Disponível em: <http://www.agrolink.com.br/downloads/dou_2009-04-17_1.pdf>. Acesso em: 10/06/2011.

DUARTE, D.A.M. *et al.* Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. São Paulo: **Arq. Inst. Biologia**, v.72, n.3, p.297-302, jul./set., 2005. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V72_3/duarte.PDF>. Acesso em: 05/06/2011.

FERNANDES, A.M; ANDREATTA, E.; OLIVEIRA, C.A.F. Ocorrência de bactérias patogênicas em queijos no Brasil: Questão de saúde Pública. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**, v. 20, n. 144, p. 49-57, set., 2006.

FRANCO, B. D. G. M; LANDGRAF,M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, c2008.

FREO, J.D.; REOLON,J. Qualidade dos produtos derivados de carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Frederico Westphalen, RS. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**, v. 21, n. 140, p. 53-60, abr., 2006.

GEOS,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**. Disponível em: <www.aeapg.org.br/encontro/anais/artigos/eng_tec_alimentos/12_ANALISE_DE_COLIFORMES_TOT_FECA_UM_COMPAR_TEC_OFIC_VRBA_PE.pdf>. Acesso em: 30/05/2011.

GERMANO, P.M. & GERMANO, M.I.S. Agentes bacterianos de toxinfecções. In: _____. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2008. p. p. 277-356.

HAMMER, B.W.; BABEL, F.J. **Dairy Bacteriology**. 4 th edition. John Wiley & Sons inc.1957.

LEITE, M.M.D.; LIMA, M.G.; REIS, R.B. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo Minas tipo Frescal. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**, v. 19, n.132, p. 89-93, jun. 2005.

MILLER, N. B. **Perfil do consumo de leite e derivados no município de Colantina ES**. 83 f. Monografia (Especialização Latu Sensu em Defesa e Vigilância Sanitária Animal). Instituto Brasileiro de Pós-Graduação QUALITTAS, Vitória, 2008. Disponível em: <<http://www.qualittas.com.br/documentos/Perfil%20do%20Consumo%20de%20Leite%20e%20Derivados%20Lacteos%20%20Nubia%20Broeto%20Miller.PDF>>. Acesso em: 11/04/2011.

OKURA,M.H. **Avaliação microbiológica de queijos tipo minas frescal comercializados na região do triângulo mineiro**. 146 f. Tese (Doutorado em Microbiologia), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2010. Disponível em: <<http://www.fcav.unesp.br/download/pgtrabs/micro/d/1385.pdf>>. Acesso em: 21/04/2011.

OLIVEIRA,C.A.F. Qualidade do leite no processamento de derivados. In: GERMANO, P.M. & GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2008. p. p. 115-130.

ORDÓÑEZ, J.A. & Colaboradores. **Tecnologia de alimentos - vol II: alimentos de origem animal**. São Paulo:Artmed, 2005.

PARANÁ. Decreto n. 3005, de 20 de novembro de 2000. **Diário Oficial do Estado do Paraná**, Curitiba, PR, 20 nov. 2000.

PARANÁ. Lei n. 10.799, de 24 de maio de 1994. **Diário Oficial do Estado do Paraná**, Curitiba, PR, 24 maio 1994.

PARANÁ. Resolução n. 065, de 01 de agosto de 2005. **Diário Oficial do Estado do Paraná**, Curitiba, PR, 20 set. 2005.

PIETROWSKI, G.A.M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo tipo mussarela comercializado na cidade de Ponta Grossa, Paraná. **Rev. Bras. de Tecnologia Agroindustrial**, Ponta Grossa, v. 02, n. 2: p. 25-31, 2008. Disponível em: <<http://www.pg.utfpr.edu.br/depog/periodicos/index.php/rbta/article/viewFile/280/24>>. Acesso em: 11/04/2011.

PINTO, P.S.A. et al. Qualidade do Queijo. In: GERMANO, P.M. & GERMANO, M.I.S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 3 ed. São Paulo: Manole, 2008. p. p. 140-160.

RAIMUNDO, I.C.; FIORINI, J.E.; PICCOLI, R.H. Avaliação microbiológica de amostras de ricota comercializadas no município de Alfenas. São Paulo: **Rev. Hig. Alimentar**, v. 10, n. 137, p. 54-56, nov./dez., 2005.

SALOTTI, B.M. *et al.* Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arq. Inst. Biol**, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, abr./jun., 2006. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V73_2/salotti.PDF>. Acesso em: 11/04/2011.

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J.P. **Leche y Productos Lácteos**. Editorial Acribia S.A: Zaragoza (Espanha), 1995.