

## Queijo manteiga - contaminação microbiológica e risco à saúde do consumidor\*

Allana Patrícia Santo Alexandre<sup>1+</sup>, Alana Bezerra de Aquino<sup>2</sup>,  
Daniele Gomes de Lyra<sup>3</sup> e Angela Froehlich<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Alexandre A.P.A., de Aquino A.B., de Lyra D.G. & Froehlich A. [**Butter cheese - microbiological contamination risk to health consumer.**] Queijo manteiga - contaminação microbiológica e risco à saúde do consumidor. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 38(2):121-124, 2016. Curso de Tecnologia em Laticínios, Campus Satuba, Instituto Federal de Alagoas, Rua 17 de Agosto, s/n, Satuba, AL 57120-000, Brasil. E-mail: angela.ifal@gmail.com

This study aimed to verify the microbiological quality of butter cheese by means of coliforms at 35°C, 45°C with confirmation of *Escherichia coli*, coagulase positive *Staphylococcus*, *Salmonella* sp., Filamentous fungi and yeasts and mesophilic aerobic bacteria. 40 samples from the retail market of Maceió, Alagoas and metropolitan area were evaluated. According parameters as required by law, 37.5% of the samples were out of range for *Salmonella* sp., 17,5% for *Staphylococcus* positive coagulase, 42.5% for coliforms at 45°C of which 41.7% were *Escherichia coli* coliform 37.5% at 35°C, 40% filamentous fungi, yeasts and 82.5% mesophilic aerobic bacteria. Once the cheese butter is a food ready-to-eat, even the low incidence of contamination by pathogens may pose a risk to consumer health, so it is essential to ensure that food safety standards are met, since the cheese that is sold at room temperature and without labeling.

KEY WORDS. Pathogens, food safety, dairy, cheese.

**RESUMO.** Esta pesquisa teve por objetivo verificar a qualidade microbiológica do queijo de manteiga por meio das contagens de coliformes a 35°C, 45°C com confirmação para *Escherichia coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* sp., fungos filamentosos e leveduras e bactérias aeróbias mesófilas. Foram avaliadas 40 amostras provenientes do mercado varejista de Maceió, Alagoas e região metropolitana. De acordo com os parâmetros exigidos pela legislação, 37,5% das amostras estavam fora do limite para *Salmonella* sp., 17,5% para *Staphylococcus* coagulase positiva, 42,5% para coliformes a 45°C das quais 41,7% apresentaram *Escherichia coli*, 37,5% coliformes a 35°C, 40% fungos filamentosos e leve-

das e 82,5% bactérias aeróbias mesófilas. Uma vez que o queijo de manteiga é um alimento pronto-para-comer, até mesmo a baixa incidência da contaminação por patógenos pode representar um risco à saúde do consumidor, portanto é essencial assegurar que as normas de segurança alimentar sejam cumpridas, uma vez que esse queijo é comercializado a temperatura ambiente e sem rotulagem.

PALAVRAS-CHAVE. Patógenos, segurança alimentar, laticínios, queijo.

### INTRODUÇÃO

Muitos dos produtos alimentares ainda são produzidos de acordo com antigas práticas (Cokal et al.

\* Recebido em 14 de setembro de 2015.

Aceito para publicação em 7 de janeiro de 2016.

<sup>1</sup> Tecnóloga em Laticínios, MSc, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Universidade de São Paulo (ESALQ/USP), Av. Pádua Dias, 11, Cx. Postal 9, Piracicaba, SP 13418-900. +Autora para correspondência, E-mail: allana\_patricia@ibest.com.br

<sup>2</sup> Nutricionista, MSc, Faculdade Maurício de Nassau, Rua José de Alencar, s/n, Farol, Maceió, AL 57051-565. E-mail: alananut@hotmail.com

<sup>3</sup> Nutricionista, MSc, Curso de Tecnologia em Laticínios, Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, Campus Satuba, Rua 17 de Agosto, s/n, Centro, Satuba, AL 57120-000. E-mail: daniele.ifal@gmail.com

<sup>4</sup> Engenheira Agrônoma, DSc. Curso de Tecnologia em Laticínios, Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia de Alagoas, Campus Satuba, Rua 17 de Agosto, s/n, Centro, Satuba, AL 57120-000. E-mail: angela.ifal@gmail.com

2012), um desses alimentos é o queijo, um derivado lácteo muito apreciado. O queijo de manteiga está entre os queijos mais produzidos e consumidos do Nordeste brasileiro. Apesar da sua popularidade, há uma diversificação na sua fabricação (Guerra & Guerra 2003, Nassu et al. 2003, Cavalcante & Costa, 2005), quando fabricado de modo empírico, esse queijo é produzido como forma de aproveitamento do leite coagulado espontaneamente pela ação da microbiota láctica natural (Van Dender et al. 2006). Em um estudo realizado por Nassu et al. (2003), em queijo de manteiga fabricado no Rio Grande do Norte, foi observado que os queijos eram estocados em temperatura ambiente.

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 aos consumidores (Zaffari et al. 2007). O consumo de queijo contaminado por patógenos pode levar a sérios problemas de saúde que ocasionalmente pode ser fatal para os consumidores. Nos últimos anos, vários surtos têm sido relatados devido ao consumo de derivados lácteos contaminados (Colak et al. 2007), segundo o Ministério da Saúde (2013), entre os anos de 2000 a 2013 foram notificados 337 casos de surtos veiculados por esse tipo de alimento. Além de riscos a saúde do consumidor, essa contaminação resulta em prejuízos para a indústria, ocasionando perdas econômicas (Feitosa et al. 2003).

Este cenário trata de situação indesejável, pois na região Nordeste, a fabricação e comercialização do queijo de manteiga são atividades importantes para a economia regional (Nassu et al. 2003).

Por ser um produto regional, existem poucos estudos que discorrem sobre a qualidade higiênico-sanitária do queijo de manteiga. Assim, esta pesquisa objetivou avaliar a qualidade microbiológica do queijo manteiga comercializado no mercado varejista de Maceió, Alagoas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 40 amostras de queijo de manteiga coletadas aleatoriamente no comércio varejista da grande Maceió, Alagoas. Os queijos não possuíam embalagens e eram comercializados à temperatura ambiente. As amostras foram fracionadas, identificadas e pesadas na embalagem comercial originária do próprio local de comercialização, acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas até o Laboratório de Microbiologia do Instituto Federal de Alagoas, *Campus Satuba*.

Na quantificação de coliformes a 35°C, a 45°C e *Escherichia coli*, foram utilizadas alíquotas de 25±0,2g diluídas em solução salina 0,85% até a obtenção de diluições

até 10<sup>-3</sup>. O teste presuntivo foi realizado em série de três tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), incubados em estufa a 35°C por 24 horas. Dos tubos suspeitos (produção de gás e turvação do meio) uma alçada foi semeada em Caldo Brillhante Bile 2% (VB) e em Caldo *E. coli* (EC) incubados a 35°C por 24-48 horas e em banho-maria a 44,5°C por 24 horas, respectivamente. Dos tubos de EC positivos suspeitos da presença de *E. coli*, uma alçada de cada tubo foi então estriada em Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB) e incubado a 35°C por 24 horas, para confirmação. Quando houve o desenvolvimento de colônias típicas (nucleadas com centro preto, com ou sem brilho metálico) foram realizadas provas bioquímicas de indol, vermelho de metila e citrato (IMViC) (Indole, Methyl-Red, Citrate).

Para a detecção de *Salmonella* sp., uma alíquota 25±0,2g foi diluída em Caldo Lactosado e incubado a 35-37°C por 24 horas (pré-enriquecimento). Posteriormente, volumes de 0,1 mL do caldo de pré-enriquecimento para tubos contendo 10 mL de Caldo Rappaport-Vassilidis (RV) e 1 mL para tubos contendo 10 mL de Caldo Tetrationato (TT). Incubando o RV a 42°C por 24 horas (banho-maria) e o TT a 35°C por 24 horas (enriquecimento seletivo). Decorrido o período de incubação foram estriados uma alçada do caldo TT em placas de Ágar Entérico de Hektoen (HE) e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), repetindo o procedimento com Caldo RV, incubados 35°C por 24 horas. Após a incubação foi verificado o desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella* (HE: colônias verdes azuladas com ou sem centro negro, sendo que muitas culturas apresentam-se totalmente negras; XLD: colônias cor de rosa, com ou sem centro preto ou mesmo inteiramente pretas) foram selecionados no mínimo duas colônias típicas e reisoladas em tubo inclinado de Ágar Lisina Ferro (LIA), incubados a 35° por 24 horas. Os micro-organismos isolados foram submetidos à identificação bioquímica: teste da motilidade com o Sulfato Indol Motilidade (SIM) e o teste da urease.

Para detecção de *Staphylococcus* coagulase positiva, foi utilizada alíquota 25±0,2g diluída em solução salina 0,85%. De cada diluição transferiu-se 0,1 mL de cada diluição na superfície de Ágar Baird-Parker (BP) previamente preparada (enriquecidas com solução gema de ovo e telurito de potássio 1%) e incubada a 35-37°C por 48 horas. Após o período de incubação foram selecionadas colônias típicas (circulares, pretas, lisas, convexas com bordas perfeitas, massa de célula esbranquiçada nas bordas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente se estendendo para além da zona opaca) sendo então transferida para tubos contendo Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e uma alçada de cada tubo de BHI repicada para tubos contendo Ágar Tripticase de Soja (TSA) inclinados, incubados a 35-37°C por 24 horas. Os micro-organismos isolados foram submetidos ao teste de coagulase e catalase.

Para a detecção de fungos filamentosos e leveduras foi utilizada alíquota 25±0,2g diluída em solução salina 0,85%. De cada diluição transferiu-se 0,1mL de cada diluição na superfície de Ágar Dicloran Rosa de Bengala Colanfenicol (DRBC) incubadas a ± 25°C por 5 dias.

Para a quantificação de micro-organismos aeróbios mesófilos foi utilizada alíquota 25±0,2g diluída em solução salina 0,85%. De cada diluição transferiu-se 1 mL para placas e em seguida adicionado Ágar Padrão para Contagem (PCA), homogeneizando e incubando a 35°C por 24-48 horas.

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com American Public Health Association (2001), Food and Drug Administration (2006) dispostos no Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos (2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para determinar a qualidade microbiológica do queijo, a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige a pesquisa de *Salmonella* sp., *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes a 45°C. Realizados os testes para a confirmação de *Escherichia coli*, contagem de fungos filamentosos e leveduras e bactérias aeróbias mesófilas, os resultados encontram-se disposto na Tabela 1.

*Salmonella* é potencialmente capaz de causar infecção alimentar, e a presença dessa bactéria classifica os queijos como produtos impróprios para consumo (Sousa et al. 2014). Das amostras analisadas 37,5% (n=15) estavam impróprias ao consumo. Costa et al. (2008) avaliou queijos de manteiga oriundos de quatro produtores da região de Santa Bárbara, Bahia, em pelo menos uma amostra de cada produtor foi detectada a presença desse micro-organismo. Já Feitosa et al. (2003) detectaram *Salmonella* em 15% das amostras de queijo de manteiga produzido no Rio Grande do Norte. A legisla-

ção brasileira recomenda ausência de *Salmonella* sp. em alimentos para venda e consumo.

As vias de contaminação dos queijos podem ser o leite, o manipulador e o ambiente de processamento. No leite cru, a principal fonte de contaminação provém da mastite bovina, na qual *Staphylococcus* coagulase positiva é o principal agente etiológico (Sousa et al. 2014). Contaminação a partir de 5 log UFC/g podem propiciar a produção de enterotoxinas, tornando esse alimento um risco potencial à saúde do consumidor (Feitosa et al. 2003, Kousta et al. 2010, Colak et al. 2012).

Para ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva o limite permitido pela legislação é até 10<sup>3</sup> UFC/g, nesta pesquisa 17,5% (n=7) das amostras analisadas estavam acima do limite permitido, classificando-o como impróprio ao consumo. Santana et al. (2008) analisaram queijo de coalho provenientes do Mercado Central de Aracaju, 46,7% das amostras estavam contaminadas por *Staphylococcus* coagulase positiva. Nos queijos de manteiga analisados por Feitosa et al. (2003) 84,7% das amostras encontravam-se acima do limite permitido pela legislação. Práticas de higiene devem ser rigorosamente respeitadas a fim de prevenir a contaminação do produto, sendo que, os manipuladores portadores de *Staphylococcus* coagulase positiva e a matéria-prima representam as principais fontes de contaminação do alimento (Melo et al. 2013).

A presença de *E. coli* em um alimento pode ser avaliada sob dois significados. Inicialmente, *E. coli* por ser uma enterobactéria que indica contaminação microbiana de origem fecal e, portanto, o alimento está em condições higiênicas insatisfatórias. O outro aspecto a ser considerado é que diversas linhagens de *E. coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e animais (Loguercio & Aleixo 2001). A legislação estabelece o limite para coliformes a 45°C que não deve ser superior a 5×10<sup>3</sup> UFC/g, com base neste limite, verificou-se que 42,5% (n=17) estavam acima desse limite, destas 41,7% (n=14) estavam contaminadas por *Escherichia coli*, não estando apto ao consumo. Dos valores encontrados para coliformes a 35°C, 37,5% (n=15) apresentaram contagens de 3 a 100 NMP/g e 62,5% (n=25) apresentaram >100 a 1,100 NMP/g. Altas contagens desses micro-organismos comprometem a qualidade e a vida útil do produto (Costa et al. 2008).

Devido às suas características intrínsecas, o queijo de manteiga é sujeito ao crescimento de fungos filamentosos e leveduras em sua superfície (Lima et al. 2004). Dentre as amostras analisadas,

Tabela 1. Resultados das contagens a 35°C e a 45°C em queijo de manteiga comercializado no mercado varejista de Maceió, Alagoas.

Micro-organismo	Contagens	Número de amostras	%
<i>Salmonella</i> sp.	Ausência	25	62,5
	Presença	15	37,5
<i>Staphylococcus coagulase</i> positiva (UFC/g)	< 100	33	82,5
	9,9×10 <sup>3</sup> a 9,8×10 <sup>5</sup>	7	17,5
Coliformes a 45°C	< 3,0	6	15
	3 a 100	10	25
	100 a < 1000	7	17,5
	1000 a > 1,100	17	42,5
<i>Escherichia coli</i>	---	141	41,7
	< 3,0	3	7,5
Coliformes a 35°C (NMP/g)	3 a 100	12	30
	>100 a 1,100	25	62,5
	<10 a <100	7	17,5
Fungos filamentosos e leveduras (UFC/g)	2,7×10 <sup>2</sup> a 8,8×10 <sup>3</sup>	17	42,5
	7×10 <sup>4</sup> a >2,5×10 <sup>5</sup>	16	40
	< 10	1	2,5
Aeróbios mesófilos	1,6×10 <sup>4</sup> a 9,2×10 <sup>4</sup>	6	15
	1,03×10 <sup>5</sup> a >2,5×10 <sup>6</sup>	33	82,5

<sup>1</sup> Número de amostras positivas.

40% (n=16) apresentaram contagens de  $7 \times 10^4$  a  $> 2,5 \times 10^5$  UFC/g, embora a legislação não exija limites para as contagens desses micro-organismos, estudos demonstram que contagens a partir de  $10^4$  UFC/g indicam provável deficiência de higienização e provável presença de micotoxinas. Esses micro-organismos também foram pesquisados por Feitosa et al. (2003) onde 100% das amostras estavam contaminadas, Costa et al. (2008) também avaliaram queijo de manteiga de quatro produtores de Santa Bárbara, Bahia, 80% das amostras analisadas de um produtor, e em 40% de outro encontravam-se impróprias para o consumo.

Um indicador da condição higiênica do produto, matéria-prima e beneficiamento é a contagem de bactérias aeróbias mesófilas, neste estudo 82,5% (n=33) das amostras apresentaram contagens entre  $1,03 \times 10^5$  a  $> 2,5 \times 10^6$  UFC/g. Contagens a partir de  $10^5$  UFC/g indicam processamento insatisfatório dando margens à proliferação de patógenos. A análise de mesófilos apenas evidencia a contagem total de micro-organismos presentes no alimento.

O queijo de manteiga é um alimento pronto-para-comer, até mesmo uma baixa incidência de contaminação por patógenos pode representar um risco à saúde do consumidor (Colak et al. 2007). É essencial que as normas de segurança alimentar sejam cumpridas, e as mesmas não foram verificadas, pois os queijos analisados estavam sendo comercializados à temperatura ambiente e sem rotulagem não permitindo, portanto, obter informações sobre a data de fabricação e o seu prazo de validade, fatores que podem ter favorecido os altos índices de contaminação encontrados durante a pesquisada.

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados no trabalho, conclui-se que a utilização de leite cru na fabricação e a manipulação inadequada associada à comercialização a temperatura ambiente tornou o queijo de manteiga mais susceptível a alta contaminação microbiana, tornando-o um alimento potencialmente nocivo à saúde do consumidor com 42,5% das amostras impróprias para consumo de acordo com a RDC nº 12 de 2001. Portanto, trabalhos relacionados à conscientização dos produtores, comerciantes e consumidores quanto às boas práticas de fabricação, manipulação e armazenamento do queijo devem ser realizados para sanar esses gargalos.

## REFERÊNCIAS

- 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.
- Cavalcante A.B.D. & Costa J.M.C. Padronização da tecnologia de fabricação do queijo manteiga. *Revista de Ciências Agrônômicas*, 36:215-220, 2005.
- Cokal Y., Dagdelen A., Cenet O. & Gunsen U. Presence of *L. monocytogenes* and some bacterial pathogens in two Turkish traditional foods, Mihalic cheese and Hosmerim dessert. *Food Control*, 26:337-340, 2012.
- Colak H., Hampikyan H., Bingol E.B. & Ulusoy B. Prevalence of *L. monocytogenes* and *Salmonella* spp. in Tulum cheese. *Food Control*, 18:576-579, 2008.
- Downes F.P. & Ito K. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 4<sup>th</sup> Ed. American Public Health association, Washington, D.C., 2001.
- FDA - Food and Drug Administration. *Bacteriological Manual*, Washington, D.C., 2006.
- Feitosa T., Borges M.F., Nassu R.T., Azevedo E.H.F. & Muniz C.R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. *Revista de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 23:162-165, 2003.
- Guerra T.M.M. & Guerra N.B. Influência do sorbato de potássio e do tipo de embalagem sobre a vida útil do queijo de manteiga (requeijão do Norte). *Brazilian Journal of Food Technology*, 6:259-265, 2003.
- Kousta M., Mataragas M., Skandamis P. & Drosinos E.H. Prevalence and source of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control*, 21:805-815, 2010.
- Lima J.R., Nassu R.T. & Borges M.F. Vida-de-prateleira de queijo de manteiga tradicional e adicionado de sorbato de potássio. *Revista Higiene Alimentar*, 18:32-35, 2004.
- Loguercio A.P. & Aleixo J.A.G. Microbiologia de queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. *Ciência Rural*, 31:1063-1067, 2001.
- Melo F.D., Dalmina K.A., Pereira M.N., Ramella M.V., Thaler Neto A., Vaz E.K. & Ferraz S.M. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. *Acta Scientiae Veterinariae*, 41:1-7, 2013.
- Nassu R.T., Araújo R.S., Guedes C.G.M. & Rocha R.G.A. Diagnóstico das condições de processamento e caracterização físico-química de queijos regionais e manteiga do Rio Grande do Norte. *Boletim de pesquisa e desenvolvimento*, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, 2003. 24p.
- Santana R.F., Santos, D.M., Martinez A.C.C. & Lima A.S. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 60:1517-1522, 2008.
- Sousa A.Z.B., Abrantes M.R., Sakamoto S.M., Silva J.B.A., Lima P.O., Lima R.N., Rocha M.O.C. & Passos Y.D.B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em Estados do Nordeste do Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, 81:30-35, 2014.
- Van Dender A.G.F., Moreno I., Snow J.G.M. & Spadoti L.M. *Análises de Controle. "Requeijão Cremoso e outros Queijos Fundidos: Tecnologia de Fabricação, Controle de Processo e Aspectos de Mercado"*, 1ª ed., Fonte Comunicações e Editora Ltda, São Paulo, 2006.
- Zaffari C.B., Mello J.F. & Costa M. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 37:862-867, 2007.