



Utilização de coliformes termotolerantes como indicadores higiênico-sanitários de queijo Prato comercializado em supermercados e feiras livres de Recife – PE, Brasil

(Use of thermotolerant coliforms as hygienic-sanitary indicator in Prato cheese sold in supermarkets and free fairs of Recife - PE, Brazil)

"Artigo Científico / Scientific Article"

JFQ Silva^A, LRS Filizola^B, MMD Maia^{C(*)}, MJ Sena^D

^ADiscente do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

^BLaboratório de Microbiologia de Água e Alimentos de Pernambuco (LACEN-PE).

^CLaboratório de Bioquímica e Seqüenciamento de DNA do Departamento de Biologia da UFRPE. Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171 - 900 Recife-PE/Brasil.

^DLaboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

Resumo

Ojetivou-se avaliar amostras de queijo Prato fatiado, comercializado em supermercados e quiosques de feiras livres do bairro de Casa Amarela, na Cidade do Recife – PE, através de análises de coliformes termotolerantes. As amostras foram colhidas semanalmente de cinco supermercados e cinco feiras livres durante três meses. A presença de coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* (*E. coli*) foram avaliadas pela técnica do Número Mais Provável (NMP). Das 40 amostras avaliadas, 30 (75,0%) apresentaram valores menores que 1000 NMP/g, caracterizadas como produtos em condições higiênicas satisfatórias, e 10 (25,0%) encontravam-se fora dos padrões legais exigidos para o consumo humano. Foi detectada *E. coli* em 21 (52,5%) das amostras analisadas. Os resultados evidenciam que uma elevada porcentagem de queijo Prato fatiado é comercializada em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias para consumo, representando risco à saúde do consumidor.

Palavras-chave: microbiologia, enterobactérias, queijo Prato.

Abstract

The aim was to evaluated samples of sliced Prato cheese commercialized in supermarkets and free fairs from Casa Amarela, in Recife (Pernambuco State, Brazil), considering the analysis of thermotolerant coliforms. The samples were weekly collected in five supermarkets and five free fairs within a period of three months. The presence of thermotolerant coliforms and *E. coli* were evaluated by technical of the enumeration of thermotolerant coliforms (MPN) method. From 40 samples 30 (75.0%) showed values smaller than 1000 MPN/g, characterizing them as products of satisfactory hygienic conditions and 10 samples (25.0%) presented results in disagreement to the official standard levels, thus these cheeses were characterized as inappropriate to the human consumption. *E. coli* was detected in 21 (52.5%) of the samples. The results showed that a high percentage of sliced Prato cheese is commercialized in inappropriate conditions for human consumption risks towards consumer's health.

Key-words: microbiology, enterobacter, Prato cheese.

(*) Autor para correspondência/Corresponding author (mascenadiniz@hotmail.com).

Introdução

O queijo é um alimento comum na dieta humana, abrangendo, em geral, todas as classes sociais (SALVADOR et al., 2001). Dentre os queijos fabricados no Brasil, o Prato é um dos mais consumidos (TEIXEIRA, 1992). Um queijo Prato típico apresenta cerca de 40% de umidade, 26% de proteínas e sais minerais, além de 34% de gordura (LEANDRO, 1987). Devido a sua rica composição em nutrientes, pode apresentar contaminações por microrganismos, inclusive patogênicos (SALVADOR et al., 2001).

Dentre as bactérias que podem se desenvolver em queijos destacam-se principalmente, os coliformes totais e os termotolerantes, sendo o número e a presença destes microrganismos, indicadores da qualidade do produto (SALVADOR et al., 2001).

O leite para a fabricação industrial do queijo deve ser pasteurizado com o objetivo de eliminar os microrganismos patogênicos em atendimento a legislação vigente (BRASIL, 1997). Por outro lado, falhas no processo de obtenção da matéria-prima, na fabricação, no envase, na conservação ou na distribuição podem acarretar contaminação do produto (MENEZES et al., 2003), com possibilidade de ocasionar toxinfecções de origem alimentar (GERMANO e GERMANO, 2003). Queijos em condições inadequadas para consumo podem apresentar graves conseqüências para a população, sendo um problema de saúde pública (SILVA e LEITÃO, 1980; LOGUERCIO e ALEIXO, 2001).

Os coliformes em geral, *Escherichia coli* (*E. coli*) e os enterococos, são os microrganismos mais representativos da qualidade higiênico-sanitária de um produto alimentício (SHARF, 1972). A presença de coliformes termotolerantes (*E. coli* enteropatogênica) em queijo tipo Camembert foi demonstrada por Frank et al. (1977). Loguercio e Aleixo (2001) constataram a presença de coliformes termotolerantes acima dos padrões legais permitidos em queijo tipo Minas Frescal. A *E. coli* enterotoxigênica é o

agente etiológico da diarreia de viajante (SANTOS et al., 1995), podendo algumas cepas, quando ingeridas com alimentos, produzirem toxinas que determinam hipermotilidade intestinal e diarreia.

Em geral, o queijo Prato é fatiado e vendido em supermercados, padarias e quiosques de feiras livres, representando uma das principais fontes de contaminação pelo processo de manipulação. A higiene dos alimentos representa um conjunto de medidas necessárias para garantir a inocuidade do mesmo em todos os estágios, desde sua produção até o consumo (PINTO, 1996). Sendo assim, justifica-se a identificação de fatores críticos envolvidos no processamento e na comercialização dos alimentos.

Objetivou-se avaliar amostras do queijo Prato fatiado comercializado em supermercados e quiosques de feira livre do bairro de Casa Amarela da Cidade do Recife – PE, através da quantificação de bactérias do grupo coliforme termotolerantes.

Material e Métodos

Durante o período de julho a setembro de 2006 foram semanalmente adquiridas 20 amostras de queijo Prato fatiado em supermercados e quiosques de feira livre do bairro de Casa Amarela da Cidade do Recife – PE, totalizando 40 amostras. Estas eram transportadas imediatamente para o Laboratório de Microbiologia de Água/Alimentos (LACEN - PE) em caixa isotérmica contendo cubos de gelo, sendo mantidas sob refrigeração até o momento das análises. De cada amostra foram assepticamente pesadas 25 gramas do produto e misturados com 225 mL de água peptonada tamponada 0,1%, (p/v) em um liquidificador. Foram usadas três diluições, 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} .

Para presunção do Número Mais Provável (NMP) de coliformes foram utilizados tubos múltiplos contendo 10 mL do Caldo Lauril Sulfato Triptose – LST, adicionando-se 1 mL de cada diluição e posterior incubação entre 35 e 37 °C durante 24 a 48 horas. A prova foi considerada positiva para coliformes somente quando foi

verificada turvação do meio e produção de gás nos tubos de Durham num período máximo de incubação de 48 horas. Em seguida, uma alíquota de cada cultura foi transferida dos tubos positivos do Caldo LST para tubos contendo Caldo *Escherichia coli* (Caldo EC) contendo tubos de Durham invertidos, os quais foram colocados em banho-maria na temperatura de 45,5 °C para determinação de coliformes termotolerantes. Após 48 horas de incubação foi realizada a leitura e os tubos que apresentavam turvação do meio e produção de gás foram considerados positivos e utilizados para a quantificação através da tabela de McCrady, conforme recomendação de Vanderzant e Splittstoesser (1992), determinando assim, o NMP de bactérias coliformes termotolerantes por grama de queijo analisado.

Amostras dos tubos positivos em Caldo EC foram semeadas em placas contendo meio Ágar Eosina Azul de Metileno para pesquisa de *E. coli*. As placas foram incubadas por 24 horas a 35 °C. A partir das colônias típicas foram realizadas as provas bioquímicas de IMVIC (indol, vermelho de metila/Voges-Proskauer e citrato), de acordo com a técnica descrita por Vanderzant e Splittstoesser (1992).

Resultados e Discussão

Os resultados dos exames microbiológicos de queijos Prato estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

O NMP de coliformes termotolerantes foi maior do que 1000/g em cinco (25%) amostras obtidas em supermercados (Tabela 1). Esse resultado pode ser devido à manipulação inadequada do produto durante o seu fracionamento, uma vez que foram observadas práticas não higiênicas realizadas pelos comerciantes dos queijos. Segundo Forsythe (2002), a presença de coliformes termotolerantes em alimentos revela informações sobre as condições higiênicas do produto, bem como dos utensílios que entram em contato direto com o mesmo. A incidência de microorganismos desse grupo pode indicar a presença de outros patógenos de origem

entérica, por isso são denominados de indicadores. Ao analisarem 10 amostras de queijo Prato fatiado, Salvador et al. (2001) observaram que 40% das amostras apresentaram contagem de coliformes termotolerantes acima do permitido.

Analisando os dados apresentados na Tabela 1, verifica-se que 12 amostras (60%) apresentaram contagens superiores ao limite legal aceitável para *E. coli*. Entretanto, apenas a presença de *E. coli* em alimentos indica contaminação fecal por ser encontrada em grande quantidade no trato gastrointestinal do homem e animais de sangue quente.

Tabela 1 - Coliformes termotolerantes e *E. coli* em 20 amostras de queijo Prato fatiado coletado em supermercados do bairro de Casa Amarela da Cidade do Recife - PE.

Supermercados	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	Condição
A	7,4	3,6	Satisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
	3,6	<3,6	Satisfatória
B	240	9,2	Satisfatória
	43	15	Satisfatória
	240	<3,6	Satisfatória
	> 1100	>1100	Insatisfatória
C	>1100	150	Insatisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
	>1100	28	Insatisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
D	>1100	290	Insatisfatória
	460	150	Satisfatória
	240	240	Satisfatória
	43	43	Satisfatória
E	3,6	<3,6	Satisfatória
	150	43	Satisfatória
	>1100	<3,6	Insatisfatória
	150	460	Satisfatória

Amostras com NMP de coliformes acima do limite estabelecido pela ANVISA (BRASIL, 2001).

Em relação às amostras coletadas em quiosques de feiras livres (Tabela 2), observou-se que nove (45%) amostras

apresentaram contaminação por *E. coli*, superior ao permitido pela ANVISA e o NMP para coliformes termotolerantes foi maior que $10^3/g$ em 25% das amostras. A presença destes microrganismos nestes produtos pode ser devido ao tratamento ineficiente do leite no processo de fabricação ou pode ser devido à ocorrência de contaminação do produto durante a manipulação ou contato com superfícies não sanitizadas após a fabricação.

Tabela 2 - Coliformes termotolerantes e *E. coli* em 20 amostras de queijo Prato fatiado coletado em quiosques de feiras livres do bairro de Casa Amarela da Cidade do Recife – PE.

Quiosques de feiras livres	Coliformes termotolerantes (NMP/g)	<i>E. coli</i> (NMP/g)	Condição
A	43	<3,6	Satisfatória
	28	3,6	Satisfatória
	>1100	>1100	Insatisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
B	3,6	<3,6	Satisfatória
	15	<3,6	Satisfatória
	>1100	75	Insatisfatória
	460	<3,6	Satisfatória
C	>1100	290	Insatisfatória
	240	<3,6	Satisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
	3,6	<3,6	Satisfatória
D	240	9,2	Satisfatória
	<3,6	<3,6	Satisfatória
	9,2	<3,6	Satisfatória
	>1100	>1100	Insatisfatória
E	>1100	3,6	Insatisfatória
	43	15	Satisfatória
	38	3,6	Satisfatória
	23	<3,6	Satisfatória

Amostras com NMP de coliformes acima do limite estabelecido pela ANVISA (BRASIL) (2001): 1000/g

Em ambos os pontos comerciais, 25% das amostras de queijo tipo Prato analisadas apresentaram crescimento bacteriano do gênero *Escherichia*, representado pela *E. coli*, sendo consideradas impróprias para o consumo humano por serem potencialmente capazes de causar toxinfecção alimentar.

A incidência de bactérias do grupo coliforme nos produtos lácteos comercializados na cidade de Fortaleza - CE foi verificada por Brito et al. (1995). Além de condenarem 43,1% das amostras dos queijos examinados pela presença de coliformes termotolerantes devido o alto percentual de microrganismos nesses alimentos, concluíram que poderia comprometer a saúde dos consumidores.

Parte do queijo tipo Prato fatiado comercializado em supermercados e em quiosques de feira livre do bairro de Casa Amarela da Cidade do Recife – PE é imprópria para o consumo humano por ser contaminada, direta ou indiretamente, com material fecal. Essa ocorrência deve servir de alerta para as autoridades sanitárias, uma vez que a presença de *E. coli* representa riscos à saúde humana.

Referências

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Aprova o **Regulamento Técnico para fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Prato**. Portaria nº 358 de 04 de setembro de 1997. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 08 SET. Seção 1, p. 19690, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos**. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 10 jan. Seção 1, p. 45-53, 2001.

BRITO, E.C. et al. Avaliação da incidência de coliformes totais e fecais nos produtos lácteos – leite, queijo, sorvete e doce de leite – comercializados em Fortaleza - CE. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, I, Campinas. **Anais...** Campinas: Associação Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1995.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da Segurança Alimentar**. Porto Alegre: ARTMED, 2002. 424 p.

FRANK, J.P. et al. Survival of enteropathogenic and nonpathogenic *Escherichia coli* during the manufacture of cammember cheese. **Journal of Food Protection**, v.40, n.12, p.835-842, 1977.

- GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 2^a ed. São Paulo: Varela, 2003. 655p.
- LEANDRO, J.J. **Queijos**. São Paulo: Summus, 1987. 152p.
- LOGUERCIO, A.P.; ALEIXO, J.A.G. Microbiologia de Queijo Tipo Minas Frescal Produzido Artesanalmente. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.31, n.6, p.1063-1067, 2001
- MENEZES, L.D.M. et al. Prevalência de coliformes à 45°C em iogurtes inspecionados pelo instituto mineiro de agropecuária nos anos de 1999 a 2002. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v. 17, n. 104/105, p.119-119, 2003.
- PINTO, A.F.M.A. **Papel dos microorganismos na produção e na transformação de alimentos**. São Paulo: Terra Fértil, 1996. p.55-61.
- SALVADOR, M. et al. Avaliação da qualidade microbiológica de queijo prato e parmesão ralado. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 19, n. 1, p.65-74, 2001.
- SANTOS, F.A. et al. Aspectos microbiológicos do queijo tipo “coalho” comercializado em Fortaleza – Ceará. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v.13, n.1, p.31-36, 1995.
- SILVA, C.A.M.; LEITÃO, M.F. Influência da temperatura de armazenamento na proliferação microbiana e no tempo devida útil de queijo tipo “Minas Frescal”. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 4, 1980, Rio de Janeiro. Programa Oficial, **Resumos**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 1980. p.186.
- SHARF, J.M. **Exame microbiológico de alimentos**. São Paulo: Polígono, 1972. p.173-186.
- TEIXEIRA, E.C. **Modelagem matemática da atividade de água para queijo prato**. 1992. 50 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Estadual de Londrina.
- VANDERZANT, C.; SPLITTSTOESSER, D.F. **Compendium for the microbiological examination of foods**. 3rd ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219p.