



Microbiological quality of coalho cheese purchased at a free fair in the municipality of Maceió-AL

Qualidade microbiológica de queijo coalho adquiridos em feira livre no município de Maceió-AL

JESUS, Évelly Vitória Oliveira de ⁽¹⁾; SILVA, Livia Ribeiro da ⁽²⁾;
SILVA, Maria Clariana da ⁽³⁾; SILVA, Paula Cibelly Vilela da ⁽⁴⁾;
MONTALDO, Yamina Coentro ⁽⁵⁾; SANTOS, Tania Marta Carvalho dos ⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ 0009-0009-4115-0420, Universidade Federal de Alagoas, pesquisadora, Brazil, vitoriaevelly61@gmail.com;

⁽²⁾ 0009-0000-6850-7383, Universidade Federal de Alagoas, discente e pesquisadora, Brazil, ribeirilivia1508@gmail.com;

⁽³⁾ 0009-0001-7405-7830, Universidade Federal de Alagoas, discente e pesquisadora, Brazil, maria.clariana@ceca.ufal.br;

⁽⁴⁾ 0000-0003-2157-4698, Universidade Federal de Alagoas, doutoranda e pesquisadora, Brazil, paulacibelly17@gmail.com;

⁽⁵⁾ 0000-0003-1444-8642, Universidade Federal de Alagoas, Brazil, docente e pesquisadora, ycmzte11@gmail.com;

⁽⁶⁾ 0000-0002-1816-7840, Universidade Federal de Alagoas, Brazil, docente e pesquisadora, taniamarta2@gmail.com.

O conteúdo expresso neste artigo é de inteira responsabilidade dos/as seus/as autores/as.

ABSTRACT

The objective was to determine aspects related to the microbiological quality of samples of coalho cheese sold in a street market in Maceió-AL. The presence of total and thermotolerant coliforms, total mesophiles, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli*. The samples were submitted to analysis to determine the MPN/g of total (35°C/24 h) and thermotolerant (45°C/24 h) coliforms. For *Salmonella* detection, pre-enrichment with 1% peptone water, enrichment in selenito-cystine and Tetrathionate broth, and plating on Hektoen agar and Salmonella-Shigella agar to determine presence/absence of *Salmonella*. For the detection of total mesophiles, serial dilution and plating on Count Standard Agar (PCA) and incubation at 28°C were used. All samples showed growth at different levels, the presence of coliforms at 35°C was < 3 NMP/g in sample 1, 3 NMP/g in sample 2 and 21 NMP/g in sample 3. The samples showed growth of coliforms 45 °C, 21 MPN/g in sample 1, 75 MPN/g in sample 2 and 43 MPN/g in sample 3. The presence of *Salmonella* spp. was not detected. in the samples. The average number of mesophiles was 4.33 x 10⁹, 4.34 x 10⁹ and 4.36 x 10⁹ CFU/g. The evaluated samples are within the standards recommended by regulatory agencies.

RESUMO

Objetivou-se determinar aspectos relativos à qualidade microbiológica de amostras de queijo coalho comercializados em uma feira livre em Maceió-AL. Avaliou-se a presença de coliformes totais e termotolerantes, mesófilos totais, *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*. As amostras foram submetidas a análise para determinação do NMP/g de coliformes totais (35°C/24 h) e termotolerantes (45°C/24 h). Para detecção de *Salmonella*, pré-enriquecimento com água peptonada a 1%, enriquecimento em selenito-cistina e caldo Tetratonato, e plaqueamento em ágar Hektoen e ágar Salmonella-Shigella para determinar presença/ausência de *Salmonella*. Para detecção dos mesófilos totais, foi utilizado a diluição em série e plaqueamento em Ágar Padrão Contagem (PCA), e incubação em 28°C. Todas as amostras apresentaram crescimento em diferentes níveis, a presença de coliformes 35°C foi de < 3 NMP/g na amostra 1, 3 NMP/g na amostra 2 e 21 NMP/g na amostra 3. As amostras apresentaram crescimento de coliformes 45°C, 21 NMP/g na amostra 1, 75 NMP/g na amostra 2 e na amostra 3 de 43 NMP/g. Não foi detectada a presença de *Salmonella* spp. nas amostras. A média de mesófilos foi de 4,33 x 10⁹, 4,34 x 10⁹ e 4,36 x 10⁹ UFC/g. As amostras avaliadas estão nos padrões recomendados pelos órgãos de regulação.

INFORMAÇÕES DO ARTIGO

Histórico do Artigo:

Submetido: 12/12/2023

Aprovado: 05/03/2023

Publicação: 31/03/2023



Keywords:

Salmonella spp.,
coliforms,
total mesophiles.

Palavras-Chave:

Salmonella spp.,
coliformes,
mesófilos totais.

Introdução

Segundo Martinelli (2022), para a cultura nordestina o queijo coalho é fruto secular e que até os dias atuais representa um símbolo de tradição, persistência e bravura. Ao longo dos anos a produção deste queijo esteve vinculada à sobrevivência dos participantes do sistema produtivo e comercial, sendo responsável por manter o produtor, o vendedor e o comprador. Se mostrando como única ou principal fonte de renda para diversas famílias do agreste e sertão por ser produzido majoritariamente nessas regiões.

Os alimentos obtidos por processos artesanais, possuem enorme probabilidade de estarem contaminados, por causa do uso de matérias-primas de fontes não seguras, utensílios mal higienizados ou contaminados, elaboração em condições impróprias de armazenamento e comercialização em temperaturas inadequadas, fatores que contribuem para aumentar o risco de contaminação (Oliveira *et al.*, 2010).

Quando as pessoas consomem leite e derivados que não foram submetidos a nenhum tipo de tratamento, como a pasteurização, ficam vulneráveis a uma ampla quantidade de micro-organismos e toxinas capazes de causar intoxicações alimentares. Esse fato deve ser considerado, pois a parcela da população consumidora de leite são crianças e idosos (Miller, 2008). A presença de um número elevado de micro-organismos nos alimentos representa um risco para vários indivíduos imunodeprimidos que, devido à baixa imunidade possuem maior probabilidade de óbito (Silva, 2017).

Alimentos não produzidos conforme as Boas Práticas de Fabricação, reguladas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), contaminados por vários tipos de micro-organismos. As bactérias são consideradas as maiores agentes de contaminação alimentar. Estas contaminações podem causar doenças genericamente conhecidas como doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (Alves, 2012).

As DTAs podem ser prevenidas se a preparação dos alimentos seguirem, as Boas Práticas de Fabricação (BPF), evitando contaminações cruzadas, e permitindo uma higienização correta de acordo com cada tipo de alimento. Outrossim, após 12 horas do preparo, o alimento deve ser armazenado em local adequado e em temperatura que não permitam o crescimento de micro-organismos. É de suma importância, que haja a capacitação dos colaboradores que manipulam os alimentos de acordo com as BPF assim, vetando contaminações (Silva, 2017).

Então neste trabalho objetivou-se a avaliação da qualidade microbiológica do queijo coalho necessária para verificar e quantificar a presença de coliformes 35°C e termotolerantes, *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* e os mesófilos totais. A Introdução deve contextualizar a proposta do manuscrito, justificativa e objetivos.

Material e Métodos

Local de investigação

As amostras foram obtidas em três diferentes vendedores locais, em uma feira livre no bairro do Tabuleiro dos Martins, no município de Maceió, estado de Alagoas. Foram acondicionadas em sacos plásticos, identificadas e transportadas em uma caixa térmica até o Laboratório de Microbiologia do Campus de Engenharias e Ciências Agrárias (CECA) situado a 9°27'58.7" de latitude sul e 35°49'35.1" de latitude oeste, da Universidade Federal de Alagoas (UFAL).

Figura 1.

Local de análise das amostras em Rio Largo-AL (Coord.: 9°27'58.7" S e 35°49'35.1" O).



Nota: Google®EarthPro.

Preparo das amostras

Foram pesados 25 g de queijo coalho de cada amostra, que foram maceradas separadamente em cadinhos de porcelana previamente autoclavados (Figura 2). As amostras foram suspensas em 225 ml de água peptonada 1%, previamente esterilizada a 121 °C em autoclave, resultando na diluição 10^{-1} a partir da qual, foram realizadas as diluições subsequentes até 10^{-5} . Todo procedimento de preparo foi executado em condições assépticas.

Figura 2.

Amostras de queijos pesadas e separadas (A), amostras maceradas em cadinhos (B) e amostras suspensas em água peptonada (C).



Nota: Arquivo do autor.

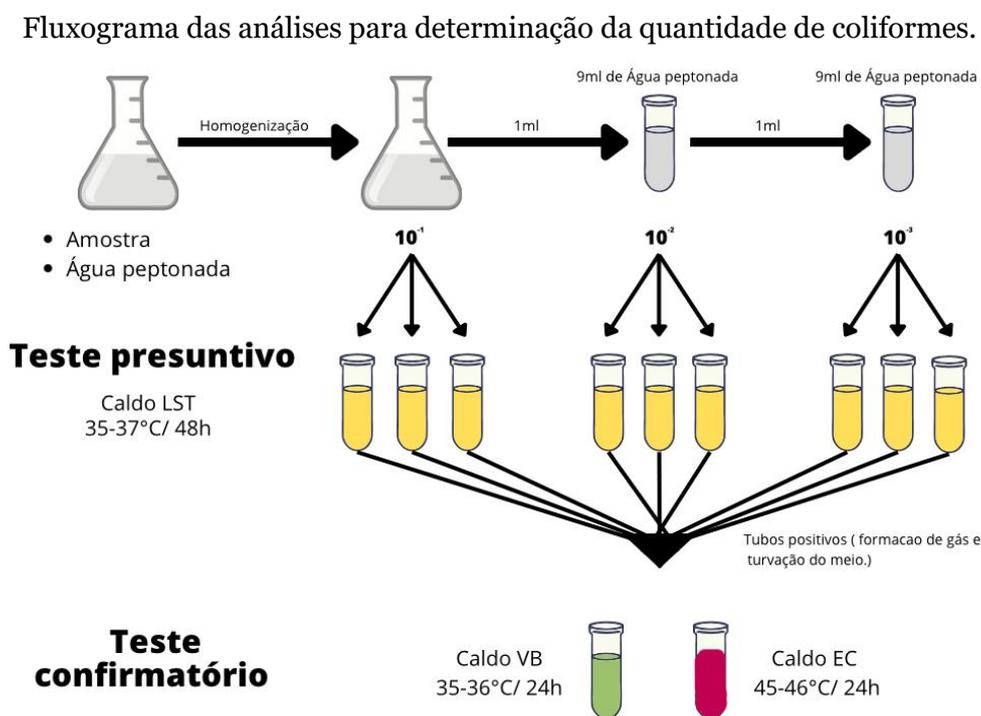
Análise das amostras

Determinação do NMP/g de coliformes totais e termotolerantes

Para a determinação do NMP de coliformes totais foi utilizada a técnica dos tubos múltiplos, conforme metodologia descrita pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 1991). Essa técnica compreende duas fases distintas: o teste presuntivo, no que recuperam as células e se detecta a presença de micro-organismo fermentadores da lactose, e o teste confirmatório, onde se determina a população real de coliformes totais e termotolerantes.

No teste presuntivo foram utilizadas 3 séries (diluições 10^{-1} a 10^{-3}) de 3 tubos contendo caldo LST (Lauril Sulfato Triptose) e tubos de Durham (Figura 3). As culturas foram incubadas em estufa a 37°C por 24-48 horas. Após a incubação, a leitura foi executada, tendo a prova considerada positiva, os que ocorreram turbidez e evidente produção de gás identificada no tubo de Durham.

Figura 3.



Nota: Elaborado pelo autor (2023), adaptado de Dias (2015).

Teste confirmatório para coliformes totais 35°C

De cada amostra positiva, foram realizadas sementeiras em tubos de ensaio contendo lactose-bile-verde brilhante 2% e tubos de Durham, e as culturas foram incubadas $35-36^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Os tubos que apresentaram turvação e produção de gás foram considerados positivos. Para quantificar os resultados foi utilizada a tabela do número mais provável (NMP/g).

Teste confirmativo para coliformes termotolerantes 45°C

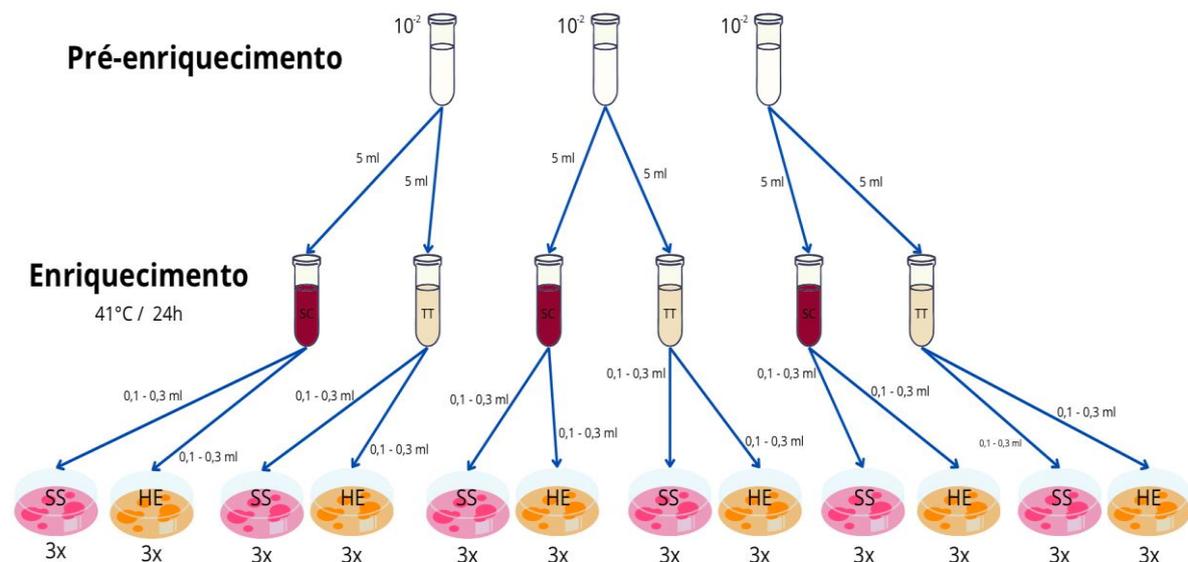
De cada amostra positiva, foram realizadas sementeiras em tubos de ensaio contendo caldo EC (*Escherichia coli*) e as culturas incubadas 45-46°C durante 24 horas. Foram considerados positivos os tubos que apresentaram produção de gás nos tubos de Durham e turvação do meio. Na quantificação dos resultados foi utilizada a tabela do número mais provável (NMP).

Teste para *Salmonella* spp.

Para detecção de *Salmonella*, as amostras passaram por um pré-enriquecimento com água peptonada a 1%, em seguida foi feito o enriquecimento em selenito-cistina e caldo Tetrationato e para isolamento ágar Hektoen e ágar *Salmonella*-Shigella (Figura 4).

Figura 4.

Fluxograma das etapas de análises para detecção da presença de *Salmonella* spp. nas amostras de queijo adquiridas.



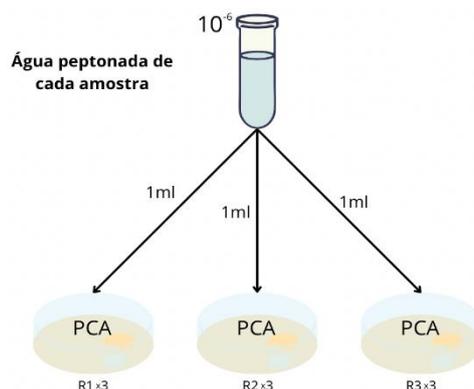
Nota: Elaborado pelo autor (2023).

Microrganismos Mesófilos

Da diluição 10⁻⁶, um ml foi plaqueado em profundidade em placas de Petri contendo, 15ml do meio de cultivo PCA, foi feito três repetições de cada amostra. Após o plaqueamento, as placas foram incubadas invertidas por 48h a 32°C. As placas com contagens entre 30 e 300 UFC foram selecionadas para a contagem das colônias (Figura 5).

Figura 5.

Fluxograma para contagem de colônias de mesófilos em PCA.



Nota: Elaborado pelo autor (2023).

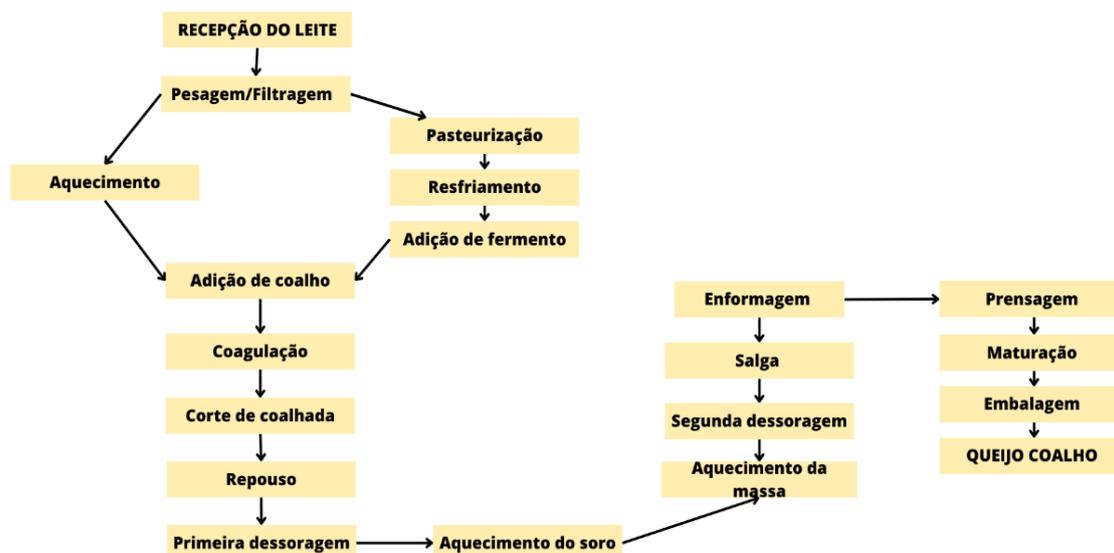
Resultados e Discussão

Caso o queijo coalho apresente quantidades de coliformes $35\text{ }^{\circ}\text{C}$, coliformes termotolerantes, Salmonella spp. e outros micro-organismos fora do limite estipulado pela legislação indica que existiram contaminações durante o processamento, beneficiamento, transporte ou armazenamento. Em pequenas propriedades com processos artesanais o queijo passa por aquecimento e depois é adicionado o coalho, por não passar por pasteurização ou tratamento térmico semelhante há um grande risco de os microrganismos patogênicos continuarem presentes durante o processamento.

Em produções industrializadas o leite passa por processos térmicos para atestar a inocuidade do produto no caso o queijo coalho, o armazenamento em temperaturas inadequadas e o manuseio durante a comercialização ocasionam contaminações (Figura 6).

Figura 6.

Fluxograma de produção do queijo coalho.



Nota: Elaborado pelo autor (2023).

Desse modo, a verificação da qualidade microbiológica dos alimentos produzidos a partir de produtos de origem animal ou vegetal é necessária para a prevenção de surtos de DTAs causadas por falta de higiene durante o preparo, processamento e armazenamento.

Todas as amostras analisadas apresentaram crescimento em diferentes níveis (Tabela 1). O presente estudo apresentou resultados abaixo dos limites estabelecidos pela RDC n° 12 de 02 de janeiro de 2001, sendo máximo de 5×10^2 NMP/g.

Tabela 1.

Determinação do número mais provável (NMP/g) de coliformes totais e coliformes termotolerantes.

Amostras de queijo	Coliformes totais 35 °C (NMP/g)	Coliformes termotolerantes 45°C (NMP/g)
Amostra 1	< 3 NMP/g	21 NMP/g
Amostra 2	3 NMP/g	75 NMP/g
Amostra 3	21 NMP/g	43 NMP/g

Nota: Dados da pesquisa (2023).

O presente estudo apresentou resultados abaixo dos limites estabelecidos pela legislação sendo máximo de 5×10^2 NMP/g. Mesmo estando nos limites, os resultados declaram que a matéria prima e/ou conseqüentemente seus derivados, possuem níveis de contaminação fecal decorrente das condições higiênico-sanitárias durante as preparações para ordenha do leite, durante a ordenha em locais inadequados, o armazenamento do leite sem resfriamento ou a produção dos derivados sem o processo de pasteurização ou tratamentos térmicos semelhantes.

A presença abaixo dos níveis também foi relatada em outros estudos, por exemplo na pesquisa feita por Nunes (2017), foram encontradas contaminações por coliformes a 35°C em 100% das 30 amostras analisadas, 24 destas amostras equivalentes a 80% da amostragem apresentou uma contagem acima de 103 NMP/g. Em 60% das amostras nas análises para coliformes termotolerantes, por apresentarem contaminação abaixo do limite estabelecido pela legislação foram considerados aceitáveis. Levando em conta os resultados dos coliformes termotolerantes foi confirmada a presença de *Escherichia coli* em 14 (46,67%) das 30 amostras analisadas.

Do mesmo modo em pesquisa feita por Santos (2019) as amostras de todos os lotes analisados apresentaram crescimento para coliformes 35 °C e termotolerantes. Acerca da quantificação dos coliformes totais nas amostras, o resultado foi de 150 NMP/g no lote 1, 350 NMP/g no lote 2 e 350 NMP/g no lote 3. A contagem de coliformes termotolerantes no referido trabalho, foi de 121 NMP/g no lote 1, 93 NMP/g no lote 2, 150 NMP/g no lote 3.

Outrossim, em pesquisa feita por Oliveira et al (2010) dentre as 42 amostras analisadas, 40 (95,24%) apresentaram desconformidade com os padrões microbiológicos estabelecidos pela RDC 12, sendo classificadas como inadequadas para o consumo humano. Com relação aos coliformes termotolerantes, foi constatado que 80,95% (34/42) das amostras apresentaram valores superiores a 500 NMP/g, acima do limite permitido, sendo 76,47% (26/34) dos queijos de coalho com inspeção estadual, 100% (1/1) com inspeção federal e 100% (7/7) sem inspeção.

A respeito das análises de *Salmonella* spp. foi constatada a ausência desta bactéria nas três amostras de queijo coalho, pois não houve crescimento de *Salmonella* spp. nas placas com os meios seletivos, ágar *Salmonella*-*Shigella* (SS) e ágar Hektoen (HE). Com relação a quantificação de mesófilos totais encontrados no final das análises, todas as amostras apresentaram crescimento (Tabela 2).

Tabela 2.

Quantificações de Unidades Formadoras de Colônias mesófilos por grama (UFC/g) de amostras de queijo coalho.

Amostras de queijo	Mesófilos (UFC/g)
Amostra 1	$4,33 \times 10^9$ UFC/g
Amostra 2	$4,34 \times 10^9$ UFC/g
Amostra 3	$4,36 \times 10^9$ UFC/g

Nota: Dados da pesquisa (2023).

Em pesquisas feitas por Nunes (2017) houve um crescimento em todas as amostras de queijo coalho artesanal analisadas, com uma média de $2,9 \times 10^5$ UFC/g e contagens que chegaram a $1,9 \times 10^6$ UFC/g. Analisando a qualidade microbiológica do queijo coalho, Evangelista-Barreto et al. (2016), encontraram uma contagem média de $5,9 \times 10^8$ UFC/g, menos elevada que o presente estudo. Os autores relacionaram a presença desses micro-organismos no queijo coalho ao uso de leite de origem não segura, má higienização dos utensílios, processamento em condições insalubres, armazenamento e comercialização em locais e temperaturas inadequadas.

Considerações Finais

A carência de conhecimento técnico dos pequenos produtores, na prevenção da existência de coliformes e outros micro-organismos, é muitas vezes o vilão das propriedades produtoras de leite e derivados, em decorrência de contaminações durante o processamento, beneficiamento, transporte ou armazenamento. Apesar de os resultados do presente estudo

demonstrarem níveis de contaminação, as amostras de queijo avaliadas, se encontram dentro dos padrões recomendados pelos órgãos de regulação. O que evidencia a melhoria na troca de informações higiênico-sanitária e de boas práticas na produção de leite e derivados, entre os produtores e profissionais do meio.

REFERÊNCIAS

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT)-MB 3463. *Bactérias coliformes totais, coliformes fecais e Escherichia coli em alimentos: determinação pelo número mais provável (NMP)*. Rio de Janeiro, 1991. p. 7.
- ALVES, A. R. F. *Doenças alimentares de origem bacteriana*. Universidade Fernando Pessoa -Faculdade de Ciências da Saúde. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas, Porto, 2012.
- BRASIL. ANVISA. *RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001*. Diário Oficial da União, de 10 de janeiro de 2001A. Disponível em:
<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2001/res0012_02_01_2001.html>
- DIAS, J.D.N. et al. *Avaliação das Condições Higiênico-Sanitárias de Leite Cru e Queijo Coalho Comercializados em Mercados Públicos no Norte do Piauí*. Saúde e Pesquisa, Piauí, v. 8, n. 2, p. 277-284, 28 set. 2015.
- EVANGELISTA-BARRETO, N. S. SANTOS, G. C. F. SOUZA, J. F. S. BERNARDES, F. S. SILVA, I. P. *Queijos artesanais como veículo de contaminação de Escherichia coli e estafilococos coagulase positiva resistentes a antimicrobianos*. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal (v.10, n.1) p. 55 – 67, jan - mar (2016).
- MARTINELLI, L. *O Queijo Coalho do Nordeste do Brasil: Desafios e possibilidades na construção de uma cadeia de valor cultural na visão de especialistas*. 2022. 164 f. Dissertação (Mestrado em Memória Social e Patrimônio Cultural) – Instituto de Ciências Humanas, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022
- MILLER, N. B. *Perfil do consumo de leite de derivados lácteos no município de Colatina ES*. 2008. p 72. Monografia de conclusão de curso (DEFESA E VIGILÂNCIA SANITÁRIA ANIMAL). Programa de pós-graduação QUALITTAS. Universidade Castelo Branco. 2008.
- NUNES, G. D. S. *Qualidade microbiológica e perfil de resistência aos antimicrobianos do queijo de coalho artesanalmente produzido*. 2017. 73 p. Dissertação (Pós-Graduação Zootecnia, na área de Produção Animal (Nutrição e produção de alimentos) – Universidade Federal do Piauí.

- OLIVEIRA, K. A.; NETO, J. E.; PAIVA, J.E.; MELO, L.E.H. *Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município do Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco, Brasil*. Arq. Inst. Biol., São Paulo, v.77, n.3, p.435-440, jul./set., 2010.
- SANTOS, J. G. *Análise microbiológica do queijo coalho produzido por usuários da fazenda da esperança em Lagarto – Sergipe*. 2019. Monografia de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Sergipe, Lagarto, 2019.
- SILVA, V. B. DA. *Análise microbiológica de alimentos envolvidos em surtos de doenças transmitidas por alimentos ocorridos na macrorregião de Sorocaba de 2011 a 2015*. Programa de Aprimoramento Profissional, Sorocaba, 2017. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ses-35838>>.