QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MANTEIGA COMERCIALIZADO EM FEIRAS PÚBLICAS DA CIDADE DE MACAPÁ, AMAPÁ, BRASIL

MICROBIOLOGICAL QUALITY OF BUTTER CHEESE SOLD AT STREET MARKETS IN THE CITY OF MACAPÁ, AMAPÁ, BRAZIL

Manoel Daltro Nunes Garcia Junior^{1*}, Aline Marreiros Vaz¹, Anna Giulia Leal Moura da Silva¹, Ana Barbara Souza Viana¹, Luiz Fernando Maués da Costa¹, Jorge Belém Oliveira Junior², Jaqueline Freitas Souza¹, Francisca Neide Costa³, Priscila Soares Sabbadini⁴, Antonio Carlos Freitas Souza^{1,3}

Resumo

Palavras-chave: *Staphylococcus*, Bactérias, Coliformes, Patogênico.

Os derivados de leite são consumidos a muito tempo pela população humana, esses produtos possuem elevada importância nutricional, sendo que entre os seus compostos o cálcio e as proteínas se destacam. O queijo é certamente e um dos principais derivados do leite, assumido relevante papel como fonte renda para muitas famílias na região norte do Brasil, sua produção de forma artesanal pode gerar diversos problemas de saúde devido a contaminação por microrganismos. Com isso, presente estudo teve como objetivo avaliar as características microbiológica de queijo manteiga comercializado em feiras livres do município de Macapá, AP. Para isso, foram coletadas aleatoriamente 51 amostras de queijo entre os meses de abril e junho de 2022, as analises microbiológicas foram Laboratório de Microbiologia, do Núcleo de Ciência e Tecnologia de Alimentos (NUCTAL) do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Amapá (IEPA). Após as análises foi possível observar que 100% das amostras estavam contaminadas por pelo menos um agente patogênico. Entre os microrganismos mais frequente os Coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureu* foram encontrados em 98% e 61% das amostras seguido por *E. coli* presente 10% das análises, *Salmonella spp.* não foi encontrada em nenhuma das amostras. A presença destes microrganismos nas amostras de queijo demonstra falhas no processo fabricação, demostrando a necessidade de aplicação de medidas efetivas no controle da produção e processamento do produto.

ABSTRACT

Key words: *Staphylococcus*, Bacteria, Coliforms, Pathogenic.

Milk derivatives have been consumed for a long time by humans, products that have high nutritional importance and among their compounds, calcium and proteins stand out. Cheese is certainly one of the main derivatives of milk, assuming a relevant role as a source of income for many families in the northern region of Brazil, but its artisanal production can generate several health problems due to contamination by microorganisms. Therefore, this study aimed to evaluate the microbiological characteristics of butter cheese sold in street markets in the city of Macapá, AP. For this, 51 samples of cheese were randomly collected between the months of April and June 2022, and the microbiological analysis was carried out by the Laboratory of Microbiology, of the Nucleus of Science and Technology of Food (NUCTAL) of the Institute of Scientific and Technological Research of Amapá (IEPA). After the analysis, it was possible to observe that 100% of the samples were contaminated by at least one pathogenic agent. Among the most frequent microorganisms, thermotolerant Coliforms and *Staphylococcus aureu* were found in 98% and 61% of the samples, followed by *E. coli*, present in 10% of the analyses, *Salmonella spp.* was not found in any of the samples. The presence of these microorganisms in the cheese samples demonstrates flaws in the manufacturing process, showing the need to apply effective measures in the control of the production and processing of the product.

INTRODUÇÃO

O consumo de leite e seus derivados apresenta notável importância em todas as fases da vida, essa elevada notoriedade é evidenciada a partir das características de sua composição nutricional, com destaque para os teores de

cálcio e proteínas de alta qualidade (PRATES, 2016). O queijo é um dos principais produtos derivados do leite, constituindo uma importante fonte de renda para muitas famílias, contribuindo efetivamente com o sustento de pequenos produtores (CARDOSO et al., 2013). Especialmente na região norte do Brasil, onde a fabricação do queijo manteiga artesanal apresenta considerável expressão financeira para

¹Núcleo de Ciência e Tecnologia de Alimentos/Laboratório de Microbiologia, Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Estado do Amapá, 68903-329, Macapá-Amapá, Brasil. *m.d.juniorbio@gmail.com

²Setor de Parasitologia/Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Instituto Aggeu Magalhães (Fiocruz/PE), 50740-465, Recife-Pernambuco, Brasil.

³Centro de Ciências Agrárias/ Laboratório de Microbiologia de Alimentos, Universidade Estadual do Maranhão, 65055-310, São Luís-Maranhão, Brasil

⁴Laboratório de Ciências Biomédicas, Universidade Ceuma, 65075-120, São Luís-Maranhão, Brasil

os pequenos agricultores. No estado do Amapá, a produção de queijo manteiga é elevada, estando entre os maiores produtores os munícipios de Amapá e Cutias do Araguari (FAÇANHA, 2019).

A fabricação de queijo manteiga artesanal geralmente não é realizada a pasteurização do leite, considerado um importante processo tecnológico, que visa exterminar as bactérias ali presentes, o que o diferencia dos outros queijos industriais (MENEZES, 2017). Considerando assim, uma preocupação, sem esse procedimento o produto pode não condizer com as normas higiênicas de produção necessárias, ocorrendo o risco de serem acometidas por microrganismos indesejáveis (PODESTÀ, 2015).

Em produtos lácteos, a presença de microrganismos é indesejável quando não são específicos do produto e atuam como agentes deteriorantes, o que afeta as qualidades organolépticas e nutricionais, diminui a vida de prateleira e compromete a qualidade final do produto (AGNOLUCCI et al., 2020; SILVA et al., 2015).

Além das bactérias ácido láticas, o queijo manteiga pode apresentar uma microbiota contaminante, como bactérias do gênero *Enterobacteriaceae* e *Staphylococcus*. Por se tratar de um queijo bastante manipulado, podem ocorrer falhas devido à manipulação e condições de temperatura inadequadas, que podem causar contaminações microbiológicas e comprometer a qualidade do produto (KAMIMURA et al., 2019; FERNANDES, 2021).

Segundo Amorim (2013), os coliformes termotolerantes constituem um subgrupo dos coliformes totais, sendo que sua presença indica que há grande probabilidade de que o alimento tenha entrado em contato com material de origem fecal. Dentre os microrganismos contaminantes do queijo de manteiga encontram-se as bactérias aeróbias mesófilas, coliformes a 35ºC e a 45°C, Staphylococcus spp., Salmonella spp., bolores e leveduras (FERNANDES, 2021).

A avaliação da qualidade desses queijos por análises microbiológicas é necessária, dado que estes podem veicular micro-organismos patógenos, que não devem estar presentes como previsto em legislação, caracterizando-os como alimentos impróprios para o consumo (SILVA; SILVA, 2013). Nesse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a qualidade higienicossanitária pelas análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes dos queijos manteiga comercializados em feiras livres do município de Macapá, AP.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas aleatoriamente 51 amostras de queijo em feiras livres do município de Macapá, entre os meses de abril e junho de 2022. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos estéril ainda no local de coleta e transportadas ao Laboratório de Microbiologia, do Núcleo de Ciência e Tecnologia de Alimentos (NUCTAL) do Instituto de Pesquisas Científicas e Tecnológicas do Amapá (IEPA).

Na quantificação de coliformes totais e termotolerantes, foi utilizada as alíquotas de 90 ± 10 g diluídas em solução salina peptonada 0,1% até a obtenção de soluções 10^{-1} a 10^{-3} . O teste presuntivo foi realizado em série de 9 tubos contendo

caldo lauril sulfato triptose, incubados em estufa a 35-37°C, por 24-48h. Para a confirmação de coliformes termotolerantes, foram selecionados os tubos de ensaio positivos, sendo posteriormente semeado 1ml dessa amostra em tubos contendo caldo *E. coli* (EC), incubados a 47°C, por 24-48 horas. Após esse período, as amostras com aspecto turvo e contendo gás no interior do Durham foram estriadas em placas de ágar MacConkey e ágar Eosin Methylene Blue (EMB).

Para a detecção de *Staphylococcus* aureus, foram utilizadas alíquotas de 90±10g diluídas em água salina peptonada 0,1% até a obtenção de soluções de diluição 10⁻¹ a 10⁻³. Dessas diluições foram realizadas semeadura em ágar Baird Parker com incubação a 37ºC por 24 horas, das amostras positivas transferiu-se colônias para placas contendo ágar Manitol, incubando-as por 48h a 35C°. Em seguida, foi realizada a contagem do número de colônias que apresentavam características Típicas e Não Típicas.

Na identificação de *Salmonella* spp, foi empregada a técnica de pré-enriquecimento em Caldo Lactosado utilizando 90ml da solução para 10g de amostra, com incubação a 37ºC por 24 horas. Após esse período, 1 ml de cada uma das amostras foi adicionado a tubos de ensaio contendo 9ml de solução Rappaport-Vassiliadis, e incubados a 42ºC por 24 horas. Para o isolamento de colônias, foi realizada a semeadura em superfície em ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), com incubação a 37ºC por 24 horas, segundo Hajdenwurcel (1997). As colônias com reações típicas de *Salmonella* spp. foram submetidas aos testes bioquímicos de TSI.

RESULTADOS

Os resultados das análises microbiológicas são apresentados na Quadro 1. Os valores encontrados para amplitude e porcentagem de amostras contaminadas, foram representados de acordo com o agente patogênico identificado.

Quadro 1. Analise microbiológica das amostras de queijo comercializadas em feiras públicas na cidade de Macapá, AP.

Microrganismo	Amplitude	% de	Limite aceito
		amostras	pela
		contamin	legislação
		adas	brasileira
			(2019)
Staphylococcus	1x10³ -	61%	10 ³
aureus	1,1x10 ⁷		
Staphylococcus	1x10 ³ - 1x10 ⁷	43%	*
Coagulase			
Negativa			
Salmonella spp.	0,0	0,0%	Ausência em
			25g
E. coli	IC	10%	10 ³
Coliformes	<3 - 1,1X10 ³	98%	*
termotolerantes			

^{*} Não existe padrão especificado na legislação para a categoria de alimento avaliada

IC - Incontáveis

Após a realização das análises microbiológicas nas 51 amostras de queijo, foi possível observar que em 100% dessas havia a contaminação por pelo menos um agente patogênico. Entre as bactérias encontradas durante as análises os Coliformes termotolerantes garantem destaque, estando presente em 98% das amostras.

S. aureus (1x10³/1,1x10³) e S. coagulase negativa (1x10³/1x10³) apresentaram as maiores amplitudes de colônias. S. aureus foi o segundo agente patogênico mais frequente, o grupo foi em identificado em 61% das amostras, S. coagulase negativa também apresentou alta taxa de ocorrência estando presente em aproximadamente 43% das análises. Em nenhuma das amostras analisadas foi confirmada a presença de Salmonella spp após a realização dos testes bioquímicos.

DISCUSSÃO

A fabricação de queijos geralmente é um conhecimento passado entre as diferentes gerações, sendo que ao longo do processo são inseridas novas técnicas e ingredientes que podem provocar a descaracterização da originalidade, qualidade, sabor e durabilidade (LEITE, 2018). A produção artesanal de queijos gera uma série de riscos, devido ao fato deste produto ser produzido geralmente com leite não pasteurizado, característica que garante aos queijos frequentemente o papel de veículo de patógenos (LÓPEZ-PEDEMONTE et al., 2006).

Nas feiras livres e comércios de Macapá é comum a venda de laticínios e seus derivados, geralmente produzidos em áreas afastadas da capital, a comercialização desses produtos de origem desconhecida potencializa os riscos de transmissão por doenças alimentares, causando impacto na saúde pública (FLEMING et al., 2010). Segundo O'Brien et al. (2009), a contaminação de queijos pode estar relacionada com problemas de manipulação e de aplicação adequada de boas práticas de fabricação, além de possíveis falhas no processo de pasteurização ou recontaminação pós-pasteurização.

Entre as bactérias mais frequentes em amostras de queijos, estão os coliformes sendo *E. coli* a principal representante dos coliformes termotolerantes. Essa bactéria naturalmente ocorre no trato digestório de todos os animais, sua presença no leite e seus derivados certamente deriva da contaminação fecal direta ou indireta (VISOTTO et al., 2010). Durante as análises do presente estudo 98% das amostras apresentaram a presença de coliformes termotolerantes, sendo que *E. coli* foi confirmada em 10% das amostras.

A produção de queijos artesanais geralmente é realizada em pequenas propriedades, onde a higienização e a desinfecção dos utensílios e da área de trabalho são precárias (KOTTWITZ; GUIMARÃES, 2003), o que propicia a contaminação por essas bactérias. A existência de *E. coli* em qualquer alimento é um claro indicativo das condições sanitárias durante acadeia de produção (FERREIRA, 2020). A presença de coliformes termotolerantes em amostras de queijo é comumente relatada, por exemplo, Santana et al. (2008) constatou que 93,3% dos queijos analisados

apresentavam contagem superior ao limite máximo determinado para coliformes termotolerantes, nos estudos de Paiva e Cardonha (1999) e Magalhaes et al. (2019) essas porcentagens de amostras contaminadas ficaram em 58% e 60% respectivamente. Segundo Costa Dias et al. (2012) a aplicação de boas práticas de fabricação e manuseio podem reduzir significativamente a presença de coliformes termotolerantes e totais.

No presente estudo identificamos a presença *S. aureus* em 61% das amostras analisadas, resultado semelhante aos 60% encontrado por Silva Junior et al. (2017) durante sua pesquisa realizada com queijo manteiga no município de Macapá. Aragão et al. (2020), em seu estudo observou o crescimento de colônias típicas de *S. aureus* em 100% das amostras cultivadas.

Mesmo seguindo a metodologia proposta pela IN nº62/2003 (BRASIL, 2003), para a confirmação de *S. aureus* no ágar Baird-Parker e posterior identificação por meio da prova complementar de coagulase podem ocorrer falsos negativos. Conforme Kloss (1990), diferentes espécies de *Staphylococcus* são coagulase positivo, por exemplo, *S. aureus spp. anaerobius, S. intermedius, S. hyicus* e *S. delphini.* A contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva pode ser atribuída a matéria-prima e a manipulação do produto por pessoas portadoras desse microrganismo (BRANT et al., 2007).

Diversos agentes patogênicos podem inviabilizar o consumo e a consequente comercialização dos alimentos, a avaliação dos níveis microbiológicos do presente estudo indicou que 74% das amostras estão impróprias para o consumo humano. Santana et al. (2008), verificou que 93% das amostras de queijo analisadas não estavam aptas à comercialização devido aos de *Staphylococcus* e *Salmonella* spp. Apolinário et al. (2014), observou que aproximadamente 80% de suas amostras encontravam-se impróprias, pois apresentavam contagens superiores ao preconizado pela legislação para coliformes totais e termotolerantes, além de *Staphylococcus*. No estudo de Dantas et al. (2013), 100% amostras estavam impróprias por apresentarem a presença de *E. coli* ou coliformes totais e termotolerantes.

CONCLUSÃO

As quantidades de coliformes termotolerantes, *E. coli* e *Staphylococcus* indica má qualidade higiênico-sanitária dos produtos estudados, e com base nos padrões microbiológicos vigentes na legislação brasileira 74% das amostras de queijos estariam fora dos padrões exigidos para comercialização. A fim de minimizar os possíveis problemas de saúde pública é necessária a efetiva fiscalização dos órgãos competentes, assim como é indispensável a realização periodicamente de cursos de capacitação quanto às boas práticas de manipulação e produção de alimentos por parte dos produtores.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o apoio financeiro prestado pela FAPEAP através da CHAMADA PÚBLICA FAPEAP/ Decit/SCTIE/MS / SESA-AP / CNPq No 003/2020 do Programa Pesquisa para o SUS: Gestão compartilhada em saúde (PPSUS), ao Grupo de Pesquisa em Ciência e Tecnologia de Alimentos (NUCTAL/IEPA) e o Grupo de Estudo em Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Pública (GEMVESP/UEMA).

REFERÊNCIAS

AGNOLUCCI, M.; DAGHIO, M.; MANNELLI, F.; SECCI, G.; CRISTANI, C.; PALLA, M.; GIANNERINI, F.; GIOVANNETTI, M.; BUCCIONI, A. Use of chitosan and tannins as alternatives to antibiotics to control mold growth on PDO Pecorino Toscano cheese rind. Food Microbiology. 2020; 92: 1-11.

ARAGÃO, B.B.; TRAJANO. S.C.; SILVA, J.G.; OLIVEIRA, J.M.B.; SANTOS, A.S.; MELO, R.P.B.; PEIXOTO, R.M.; MOTA, R.A. Avaliação da contaminação por *Staphylococcus aureus* em queijo coalho artesanal elaborado com leite de cabra produzido no estado de Pernambuco. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2020; 72(2): 615-622. https://doi.org/10.1590/1678-4162-10723

APOLINÁRIO, T.C.C.; SANTOS, G.S.; LAVORATO, J.A.A. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal produzido por laticínios do estado de minas gerais. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes. 2014; 69(6): 433-442.

DOI: 10.14295/2238-6416.v69i6.290

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. 2007; 59 (6): 1570-1574.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. Disponível em:http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisonsulta/consul tarLegislacao.do?operacao=visu alizar&id=2851.

CARDOSO, A. E. A.; MARQUES, M. A. R.; MATIAS J. F.; JORGE, M. P.; LOPES, J. M.; VIEIRA, É. N. R. Análise microbiológica em queijo minas frescal. Anais. V SIMPAC. 2013; 5(1): 157-162.

COSTA DIAS, M. A.; SANT'ANA, A.S.; CRUZ, A.G.; FARIA, J.A.F.; OLIVEIRA, C.A.F.; BONA, E. On the implementation of good manufacturing practices in a small processing unity of Mozzarella cheese in Brazil. Food Control. 2012; 24(1): 199-205

DANTAS, S.D.; ARAÚJO, A.M.; SANTOS, J.O.; SANTOS, R.M.S.; RODRIGUES, O.G. Qualidade microbiológica do queijo de coalho comercializado no município de Patos, Estado da Paraíba. Agrop. Cient no Semiárido. 2013; 9(3): 110-118.

FAÇANHA, W. Produtores conhecem técnicas para melhorar qualidade do queijo manteiga. Portal de Notícias do Governo do Amapá. 2019. Disponível em: https://www.portal.ap.gov.br/noticia/2706/produtores-

conhecem-tecnicas-para-melhorar-qualidade-do-queijo-manteiga.

FERREIRA, J.R.A. Caracterização Microbiológica do Queijo Minas artesanal comercializado em São Paulo: Segurança, higiene e diversidade microbiana. Theses and Dissertations, São Paulo, 2020.

FERNANDES, D.A.S.M. Processamento do queijo de manteiga artesanal maturado. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Produção Animal, 2021.

HAJDENWURCEL, J.R. Atlas de microbiologia de alimentos São Paulo: Higiene Alimentar, São Paulo, 1997.

KAMIMURA, B.A. et al. Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. Food Microbiology. 2019; 80 (1): 40-49.

KLOSS, W.E. Systematics and natural history of *staphylococci*. J. Appl. Bacteriol. Symp. Sup.1990; 69, 25S-37S.

KOTTWITZ, L. B.; GUIMARÃES, I. M. Avaliação microbiológica de queijos coloniais produzidos no estado do Paraná. Higiene Alimentar, 2003; 17(114): 77-80.

FLEMING, L.R.; BOLZAN, D.N.; BANDEIRA, S.O.; NASCIMENTO, J.S. Quantificação e resistência a antibióticos de *Staphylococcus* isolados de queijos. Perspectivas da Ciência e Tecnologia, 2010; 2, 13-19.

LEITE, A. I. N. Autenticidade do queijo de manteiga do Seridó por espectroscopia no infravermelho. Dissertação, Minas Gerais. 2018.

LÓPEZ-PEDEMONTE, T.; BRINEZ, W.J.; ROIG-SAGUÉS, A.X.; GUAMIS, B. Fate of *Staphylococcus aureus* in cheese treated by ultrahigh pressure homogenization and high hydrostatic pressure. Journal of Dairy Sciences, 2006; 89, 4536-4544.

MAGALHÃES, L.S.; PEREIRA, E.M.O.; NETO, P.Q.C.; PANTOJA, M.C. Análises de coliformes em queijo coalho comercializado em Manaus-AM. Scientia Amazonia, 2019; 8(1): RP1-RP5.

MENEZES, S.D.M. A importância dos certificados de qualidade para comercialização de queijos artesanais. 2017. 41p. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Sistemas Agroindustriais do Centro de Ciências e Tecnologia Agroalimentar da Universidade Federal de Campina Grande, campus Pombal — PB) — Universidade Federal de Campina Grande.

O'BRIEN, M.; HUNT, K.; MCSWEENEY, S.; JORDAN, K. Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. Food Microbiology, 2009; 26(8): 910-914.

PAIVA, M.S.D.; CARDONHA, A. M. S. queijo de coalho artesanal e industrializado produzidos no Rio Grande do Norte: estudo comparativo da qualidade microbiológica. Revista Higiene Alimentar, 1999;13(61): 33.

PRATES, R.P. Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. Caderno de Ciências Agrárias. 2016; 8(2): 58–65.

PODESTÀ, M. Queijos Artesanais. Slowfood Brasil. 2015. Disponível em: https://www.slowfoodbrasil.com/queijosartesanais.

SANTANA, R.F.; SANTOS, D.M.; MARTINEZ, A.C.C.; LIMA, Á.S. Qualidade microbiológica de queijo-coalho comercializado em Aracaju, SE. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2008; 60(6): 1517-1522.

SILVA, F; SILVA, G. Análise microbiológica e físico-química de queijos coloniais com e sem inspeção, comercializados na microrregião de Francisco Beltrão-PR. 2013. 58f. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2013.

SILVA, F. et al. Qualidade microbiológica e físico-química de queijos Coloniais com e sem Inspeção, comercializados no sudoeste do Paraná. Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos. 2015; 33 (2): 31-42.

SILVA JÚNIOR, A.C.S.; MALCHER, E.S.T.; SILVA, A.S.S.; NASCIMENTO, J.F.; BARROSO, B. S. Perfil de resistência a antimicrobianos de *Staphylococcus aureus* isolados de queijo manteiga comercializado em feira pública da cidade de Macapá, AP. Higiene Alimentar, 2017; 31(274/275): 115-119. VISOTTO, R. G.; OLIVEIRA, M. A.; PRADO, S.P. T.; BERGAMINI, A. M. M. Queijo Minas Frescal: perfil higiênico-sanitário e avaliação da rotulagem. Revista Do Instituto Adolfo Lutz, 2011; 70(1): 8–15.

Submissão: 10/04/2023

Aprovado para publicação: 08/06/2023