

ANÁLISE COMPARATIVA DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS TIPO COLONIAL COM E SEM INSPEÇÃO SANITÁRIA DO VALE DO TAQUARI – RS, BRASIL

Daiana Caroline Eichler¹, Mônica Jachetti Maciel²

Resumo: O queijo colonial, típico dos estados do sul do Brasil, pode ser uma grande fonte de contaminação microbiológica, principalmente se o leite utilizado para a sua fabricação não for pasteurizado, propiciando a proliferação de diversas bactérias patogênicas. Deste modo, o presente estudo teve por objetivo realizar a análise microbiológica comparativa entre queijos do tipo colonial com e sem inspeção sanitária, tendo como parâmetros o estipulado na legislação brasileira. Foram coletadas 12 amostras de queijo colonial, sendo 6 com inspeção (3 com inspeção federal SIF e 3 com inspeção estadual CISPOA) e 6 sem inspeção sanitária, adquiridas em supermercados e diretamente com o produtor rural, no Vale do Taquari – RS. Como resultado, obteve-se ausência de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em todas as amostras. A contagem de *Staphylococcus coagulase* positiva esteve dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira em todas as amostras inspecionadas, enquanto 66,66% das amostras não inspecionadas estavam em desacordo. Para coliformes a 45 °C, as amostras com inspeção sanitária apresentaram contagem inferior ao limite estabelecido pela legislação brasileira, enquanto 100% das amostras sem inspeção estavam em desacordo. O estudo demonstrou uma significativa diferença na qualidade microbiológica entre queijos coloniais com e sem inspeção sanitária. Todos os queijos com inspeção sanitária se apresentaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, enquanto todas as amostras de queijos não inspecionados estavam impróprias para o consumo humano. Concluiu-se que as boas práticas de fabricação e higiene, principais focos da inspeção sanitária, são essenciais para que se tenha um produto de qualidade microbiológica.

Palavras-chave: Boas práticas de fabricação; produtos lácteos; bactérias patogênicas.

COMPARATIVE ANALYSIS OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COLONIAL CHEESES WITH AND WITHOUT SANITARY INSPECTION OF THE TAQUARI VALLEY – RS, BRAZIL

Abstract: Colonial cheese, typical of the southern states of Brazil, can be a major source of microbiological contamination, especially if the milk used for its manufacture is not pasteurized, favoring the proliferation of several pathogenic bacteria. Thus, the present study aimed to perform a comparative microbiological analysis

1 Graduada em Ciências Biológicas – Bacharelado na Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado/RS – Brasil.

2 Professora Doutora na Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado/RS – Brasil.

between colonial cheeses with and without sanitary inspection, having as parameters the stipulated in Brazilian legislation. Twelve samples of colonial cheese were collected, 6 with inspection (3 with federal inspection SIF and 3 with state inspection CISPOA) and 6 without sanitary inspection, acquired in supermarkets and directly from the rural producer, in Vale do Taquari - RS. As a result, we obtained absence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* in all samples. Coagulase positive *Staphylococcus* count was within the limits established by Brazilian legislation in all inspected samples, while 66.66% of non-inspected samples were in disagreement. For coliforms at 45 °C, samples with sanitary inspection showed a count lower than the limit established by Brazilian legislation, while 100% of samples without inspection were in disagreement. The study demonstrated a significant difference in microbiological quality between colonial cheeses with and without sanitary inspection. All cheeses with sanitary inspection were within the limits established by Brazilian legislation, while all samples of non-inspected cheeses were unfit for human consumption. It was concluded that good manufacturing and hygiene practices, the main focuses of sanitary inspection, are essential to have a microbiological quality product

Keywords: Good manufacturing practices; dairy products; pathogenic bacteria

1 Introdução

O queijo é um alimento obtido a partir da separação parcial do soro do leite através da coagulação por meio da ação do coalho (BRASIL, 1996). Assim como os demais derivados do leite, possui importantes propriedades nutricionais devido ao seu teor de proteínas, lipídios e minerais essenciais (TEIXEIRA *et al.*, 2022). Em 2017, foi estimado um consumo de 5,5 quilogramas de queijo por indivíduo ao ano no país (CAETANO, 2018).

O Brasil ocupa, atualmente, a sexta posição do índice de maiores produtores de queijo do mundo (ZAFFARI, 2018), com uma produção de 1,2 milhões de toneladas ao ano, gerando uma movimentação de 22 bilhões de reais no país (SOARES; RODRIGUES, 2019). O volume anual de queijo colonial produzido no estado do Rio Grande do Sul é em torno de 12,5 mil toneladas, sendo a maior parte processada artesanalmente (AMBROSINI *et al.*, 2020).

O queijo colonial ou da colônia como também é conhecido, foi introduzido na Serra Gaúcha no final do século XIX principalmente por imigrantes alemães e italianos. Sua produção no início apenas envolvia pequenos produtores rurais e era comercializado de modo informal, entre conhecidos (DORIGON, 2008). Esses queijos são produzidos por meio de procedimentos empíricos de fabricação. Além disso, de uma maneira geral, a matéria-prima não é de boa qualidade higiênico-sanitária e não há controle sobre o produto final (GERMANO; GERMANO, 2019). O Decreto nº 66.183, de 1970, teve como objetivo a proibição, em todo o país, da venda de leite cru para consumo da população (BRASIL, 1970).

Contudo, apesar do processo de pasteurização ser atualmente exigido pela legislação brasileira por meio da Portaria nº 146, de 1996 do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996), diversos pequenos produtores rurais ainda fazem uso do leite cru na produção do queijo colonial, propiciando assim a multiplicação de microrganismos no alimento. Além da não pasteurização do leite utilizado na produção destes queijos, a falta de boas práticas de fabricação e higiene nas diferentes etapas de produção também se torna um grande facilitador do crescimento microbiano (ZAFALON *et al.*, 2008). Os cuidados durante os procedimentos de ordenha, armazenamento do leite e produção do queijo, assim como, a verificação da saúde do animal, são imprescindíveis

para que se tenha um produto seguro e de qualidade. Uma das principais doenças que acomete o gado leiteiro é a mastite, inflamação do tecido mamário causada na maior parte dos casos por bactérias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* e *Escherichia coli*, que podem, por meio da ordenha, passar para o leite. Além destes, patógenos como *Mycobacterium* sp., *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. também podem ser transferidos ao leite (BRINQUES, 2015).

A ingestão de alimentos e água contaminados por microrganismos causam as DTHAs (Doenças de Transmissão Hídricas e Alimentares), apresentando um alto índice de mortalidade e morbidade no mundo (CEVS-RS, 2017), estando as condições precárias de higiene e saneamento, além da baixa qualidade da água e dos alimentos, entre as principais causas destas doenças. No Brasil, as principais bactérias causadoras das DTHAs são *Salmonella* spp., *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, seguidos também pelo grupo dos coliformes de modo geral (BRASIL, [201- ?a]). No Brasil, em 2018, houve 597 surtos causados por DTHA (100 casos apenas na região sul do país), onde 8406 pessoas adoeceram e, destas, 9 chegaram a óbito. No período de 2009 a 2018, o leite e derivados foram responsáveis por 7,9% dos surtos, ocupando o terceiro lugar na escala de distribuição de alimentos contaminados (BRASIL, 2019).

Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo realizar análise microbiológica comparativa entre queijos do tipo colonial com e sem inspeção sanitária, visando atender os requisitos da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da Instrução normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019), sendo realizadas as análises de pesquisa de *Salmonella* spp., e de *Listeria monocytogenes*, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e contagem de coliformes a 45 °C.

2 Metodologia

O presente estudo se trata de uma pesquisa quali-quantitativa, explicativa e experimental. Durante o mês de agosto de 2019 foram coletadas 12 amostras de queijo colonial, sendo 6 com inspeção (3 com inspeção federal SIF e 3 com inspeção estadual CISPOA) e 6 sem inspeção sanitária, adquiridas em supermercados e diretamente com o produtor rural, respectivamente. Todas as amostras foram obtidas de marcas ou produtores diferentes, adquiridas no Vale do Taquari – RS e de produção estadual. As amostras com inspeção sanitária encontravam-se dentro do prazo de validade, refrigeradas e dentro da embalagem original (a vácuo); as amostras não inspecionadas estavam dispostas em sacos plásticos não vedados, refrigeradas e com o tempo de aproximadamente uma semana de produção. Nenhuma das amostras foi fracionada para a realização das análises, utilizando-se, portanto, a peça de queijo inteira para evitar contaminações cruzadas.

As amostras foram identificadas, logo após sua aquisição, com ordem numérica e com diferenciação para as com e sem inspeção e, no caso das inspecionadas, qual o órgão fiscalizador, conforme segue: amostras inspecionadas – I1 SIF; I2 SIF; I3 SIF; I4 CISPOA; I5 CISPOA; I6 CISPOA; e amostras não inspecionadas – P1; P2; P3; P4; P5; P6. Para o transporte, foram acondicionadas em caixa de isopor com gelo e mantidas refrigeradas até o momento da análise. As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia Didático, da Universidade do Vale do Taquari – Univates. Foram realizadas as seguintes

análises microbiológicas: pesquisa de *Salmonella* spp., pesquisa de *Listeria monocytogenes*, contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e contagem de coliformes a 45 °C.

2.1 *Salmonella* spp.

A análise de *Salmonella* sp. foi baseada na ISO 6579-1:2017 (ISO, 2017a). No procedimento, foi adicionado 225 mL de Buffered Peptone Water 1% (Oxoid) em 25 g de amostra como etapa de pré-enriquecimento. Após incubação a 36 °C por 18 horas, foi realizada a etapa de enriquecimento seletivo, transferindo alíquotas para os caldos Rappaport Vassiliadis (RVS – Sigma) e Müller-Kaufmann-Tetrathionate-Novobiocine Broth (MKTm – Oxoid), incubados a 41,5 °C e 37 °C por 48 horas, respectivamente.

A partir dos caldos seletivos, as amostras foram estriadas em ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD - Oxoid) e ágar Rambach (Merck), de forma que se permitiu o isolamento de colônias. O ágar XLD foi incubado a 37 °C e o ágar Rambach a 35 °C, ambos por 24 horas. Colônias típicas de *Salmonella* spp. em ágar XLD se apresentam com centro negro circundado por uma zona levemente transparente vermelha e, em ágar Rambach, apresentam-se na coloração vermelha, podendo também apresentar coloração rosado claro.

Após a seleção de colônias suspeitas, as mesmas foram isoladas em ágar Nutriente (BD), com incubação a 36 °C por 24 horas e, a partir deste meio, foram realizados os testes confirmativos. Para confirmação bioquímica, colônias isoladas foram repicadas para ágar Triple Sugar Iron (TSI – Oxoid) inclinado, ágar Ureia (Oxoid) e caldo L-lisina Descarboxilase (Fluka), incubados a 37 °C por 24 horas. Juntamente com as amostras foram realizados testes de controle com cepas certificadas: para o ágar TSI utilizou-se o controle positivo *Salmonella typhimurium* – ATCC 14028 e o negativo *Escherichia coli* – ATCC 25922; para o ágar uréia, o controle positivo *Micrococcus luteus* – ATCC 49732 e o negativo *Salmonella typhimurium* – ATCC 14028; e para caldo L-lisina o controle positivo *Salmonella typhimurium* – ATCC 14028 e o negativo *Citrobacter freundii* – ATCC 8090. A realização de controles garante um processo correto e um resultado fidedigno.

Salmonella spp. apresenta, no ágar TSI, produção de gás e de H₂S em 90% dos casos e fermentação da glicose, gerando uma coloração amarela na base do tubo e não fermentação da lactose, gerando coloração vermelha no bisel. No ágar uréia, não há alteração de coloração, pois a mesma não sofre processo de hidrólise. No caldo L-lisina, a coloração permanece roxa e pode haver turvação do meio de cultura pela descarboxilação da lisina.

2.2 *Listeria monocytogenes*

A análise de *L. monocytogenes* foi baseada na ISO 11290-1:2017 (ISO, 2017b). No procedimento, foi adicionado 225 mL de Half-fraser (Biomérieux) em 25 g de amostra como etapa de enriquecimento primário. Após incubação a 30 °C por 25 horas, foi transferida uma alíquota para caldo Fraser (Laborclin), com incubação a 37 °C por 24 horas.

Para o plaqueamento, a amostra foi estriada para placas de ágar ALOA (Laborclin) e para ágar Palcam (Laborclin), com incubação a 37 °C por 48 horas. No ágar ALOA, *L. monocytogenes* se apresenta em forma de colônias verde-azuladas com halo opaco. No ágar

Palcam, desenvolvem-se colônias de coloração cinza esverdeadas, providas de halos castanho a pretos.

Para a etapa de confirmação, uma colônia suspeita foi estriada em ágar TSA com extrato de levedura (TSYEA – formulado no laboratório: extrato de levedura e ágar bacteriológico BD e caldo tripton de soja Oxoid) e incubada a 37 °C por 24 horas. A partir de isolados deste meio, foi realizada a técnica de coloração de Gram para verificar o aspecto microscópico da colônia; o teste de hemólise, sendo estriada uma colônia do TSYEA para ágar Sangue de Carneiro (Laborclin) para verificação de reação hemolítica e incubado a 37 °C por 24 horas; e a utilização de carboidratos, inoculando uma cultura do TSYEA para caldo L-Rhamnose (Sigma) e para caldo D-Xylose (Sigma), ambos incubados a 37 °C por 5 dias. Juntamente com todos estes processos, foram realizados os controles: coloração de Gram (positivo *Listeria monocytogenes* – ATCC 19111 e negativo *Escherichia coli* – ATCC 25922), hemólise (positivo *Listeria monocytogenes* – ATCC 19111 e negativo *Listeria innocua* – ATCC 33090) e carboidratos (positivo *Escherichia coli* – ATCC 25922 e negativo *Listeria monocytogenes* – ATCC 19111 para D-Xylose e positivo *Listeria monocytogenes* – ATCC 19111 e negativo *Listeria ivanovii* – ATCC 11119 para L-Rhamnose).

L. monocytogenes apresenta bastonetes curtos e finos ou cocobacilos Gram-positivos, reação positiva de hemólise em ágar Sangue e, quanto aos carboidratos, reação positiva (acidificação) em L-Rhamnose, demonstrada pela troca de coloração de roxo para amarelo, e reação negativa em D-Xilose, sem a troca de coloração (não acidificação do meio de cultura).

2.3 *Staphylococcus coagulase positiva*

A análise de *Staphylococcus coagulase positiva* foi baseada na ISO 6888-1:2019 (ABNT, 2019) e ISO 6887-1:2017 (ABNT, 2017). No procedimento, foi adicionado 225 mL de solução peptona salina 0,1% em 25 g de amostra, sendo esta a diluição 10^{-1} . Posteriormente, foi inoculado 0,1 mL desta diluição em placa de Ágar Baird-Parker (Oxoid), distribuído uniformemente com o auxílio de uma alça de Drigalski, representando a diluição 10^{-2} ; o mesmo procedimento foi realizado com as diluições 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} , com posterior incubação em estufa a 37,0 °C por 48 horas.

Após a incubação, foram selecionadas quatro colônias típicas (de coloração preta ou cinza, brilhantes e convexas, apresentando zona clara e parcialmente opaca circundante, com tamanho de 1,5 mm a 2,5 mm de diâmetro) e quatro colônias atípicas (de coloração negra brilhante ou cinza sem zona clara) de cada placa com intervalo de contagem de 15 a 300 colônias e repicadas para caldo *Brain Heart Infusion* (BHI – Oxoid) para confirmação. A partir do crescimento no caldo BHI foi realizado o teste de coagulase, utilizando-se plasma de coelho (Laborclin), sendo as duas etapas incubadas a 37 °C por 24 horas. Utilizou-se o controle positivo *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e o controle negativo *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228). Para expressão do resultado, foram considerados como positivas as colônias que apresentaram coagulação do plasma de coelho e como negativas as que não apresentaram tal coagulação e realizada uma média com as colônias que apresentaram resultado positivo.

2.4 Coliformes a 45 °C

A análise de coliformes a 45 °C foi baseada no Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2018). No procedimento, foi adicionado 225 mL de solução peptona salina 0,1% em 25 g de amostra, sendo esta a diluição 10^{-1} . Posteriormente, foi inoculado uma alíquota em Ágar Violet Red Bile (VRB – Oxoid), sendo o mesmo procedimento realizado com as diluições 10^{-2} e 10^{-3} . As placas de VRB foram, então, incubadas a 35 °C por 24 horas.

Para confirmação, foram selecionadas cinco colônias típicas (de coloração rósea, com 0,5 a 2 mm de diâmetro com ou sem zona de precipitação da bile do meio de cultura) e cinco colônias atípicas (de coloração rósea, sem zona de precipitação e de tamanho inferior a 0,5 mm), de placas com intervalo de contagem de 15 a 150 colônias. As mesmas foram repicadas para caldo *Escherichia coli* (EC - Oxoid), incubado a 45,0 °C por 24 horas em banho-maria com agitação; tendo como controle positivo (*Escherichia coli* - ATCC 25922 e negativo *Klebsiella aerogenes* – ATCC 13048). Foram consideradas positivas as colônias que apresentaram fermentação no caldo EC, demonstrada por meio da presença de gás nos tubos de Durham presentes no meio de cultura.

2.5 Análise dos dados

Levando-se em consideração que o queijo colonial ainda não está inserido no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTQI), os parâmetros adotados neste trabalho seguiram a Instrução normativa (IN) n° 60, de 23 de dezembro de 2019 (BRASIL, 2019). Na IN n° 60/2019 consta os limites permitidos para *Escherichia coli* (de até 10^2 UFC/g alimento) que foram os limites considerados frente a coliformes a 45 °C. O limite máximo estabelecido para *Staphylococcus coagulase positiva* é de 10^3 UFC/g alimento, e ausência para *Salmonella* spp. em 25 gramas de alimento, para queijos com umidade igual ou menor de 46%.

3 Resultados e discussões

Os resultados das análises microbiológicas das amostras de queijo colonial estão apresentados nas Tabelas 1 e 2. Verificou-se a ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras (Tabela 1). *Salmonella* spp. são microrganismos da família *Enterobacteriaceae* que se apresentam como bastonetes Gram-negativos e possuem alta adaptabilidade ao ser humano e animais. Dentre os grupos existentes, as chamadas zoonóticas são responsáveis por casos frequentes de gastroenterite (BRASIL, 2011). Os surtos relacionados à bactéria têm como origem diversos produtos de origem animal, incluindo leite e produtos lácteos, podendo provocar desde infecções até mesmo o óbito dos acometidos pela doença (BRASIL, [201-?]).

Listeria monocytogenes também esteve ausente em todas as amostras analisadas (Tabela 1). *L. monocytogenes* é um bacilo Gram-positivo móvel causador da listeriose (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Sua transmissão ocorre principalmente por alimentos contaminados, especialmente leite não pasteurizado e queijos macios, se reproduzindo facilmente em produtos sob refrigeração já contaminados. O patógeno é causador de quadros de

meningoencefalite e septicemia, principalmente em indivíduos imunocomprometidos (WHO, [20--]).

Tabela 1 – Pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* realizadas em amostras de queijos coloniais com e sem inspeção sanitária

| Amostra | <i>Salm.</i> (/25g) | <i>List.</i> (/25g) | Situação |
|-----------|---------------------|---------------------|----------|
| P1 | Ausência | Ausência | C |
| P2 | Ausência | Ausência | C |
| P3 | Ausência | Ausência | C |
| P4 | Ausência | Ausência | C |
| P5 | Ausência | Ausência | C |
| P6 | Ausência | Ausência | C |
| I1 SIF | Ausência | Ausência | C |
| I2 SIF | Ausência | Ausência | C |
| I3 SIF | Ausência | Ausência | C |
| I4 CISPOA | Ausência | Ausência | C |
| I5 CISPOA | Ausência | Ausência | C |
| I6 CISPOA | Ausência | Ausência | C |

Legenda: *Salm.* – *Salmonella* spp.; *List.* – *Listeria monocytogenes*; C – Conforme. Os parâmetros da legislação é ausência em 25 g de alimentos para os dois microrganismos.

Staphylococcus coagulase positiva (Tabela 2) esteve dentro dos parâmetros da legislação em 100% das amostras com inspeção sanitária, enquanto 66,66% das amostras sem inspeção não estavam em conformidade com a legislação brasileira. *Staphylococcus aureus* é representado por cocos Gram-positivos, que se apresentam em arranjos no formato de cachos de uva, sendo muito estudado pela produção de enterotoxinas que causam intoxicações alimentares (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Quanto a análise de coliformes a 45 °C (Tabela 2), todas as amostras inspecionadas se mostraram dentro dos padrões exigidos, enquanto todas as amostras sem inspeção não estavam em conformidade com a legislação brasileira. Coliformes a 45 °C ou coliformes termotolerantes tem como característica a fermentação da lactose em temperaturas mais elevadas do que os coliformes totais (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Este grupo de microrganismos tem como principal representante *Escherichia coli*, bactéria que se apresenta em forma de bacilo Gram-negativo e que é largamente utilizada como indicador de qualidade microbiológica (FRANCO; LANDGRAF, 2008). *E. coli*, por estar naturalmente presente no intestino do ser humano e de outros animais de sangue quente, possibilita a contaminação por meio das fezes, portanto, a pesquisa deste grupo em alimentos demonstra as condições de higiene em que o produto foi processado, indicando também a possível presença de enteropatógenos (FRANCO; LANDGRAF, 2008).

Tabela 2 – Análises microbiológicas de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes a 45 °C realizadas em amostras de queijos com e sem inspeção sanitária

| Amostra | <i>Staph.</i> (UFC/g) | Situação | Colif. (UFC/g) | Situação |
|-----------|------------------------|----------|------------------------|----------|
| P1 | 3,0 x 10 ³ | NC | 1,6 x 10 ⁶ | NC |
| P2 | 1,2 x 10 ⁴ | NC | 2,8 x 10 ⁴ | NC |
| P3 | 6,5 x 10 ⁴ | NC | 1,5 x 10 ⁵ | NC |
| P4 | <1,0 x 10 ¹ | C | 2,4 x 10 ⁵ | NC |
| P5 | 6,0 x 10 ² | C | 3,5 x 10 ⁵ | NC |
| P6 | 1,2 x 10 ⁵ | NC | 5,0 x 10 ⁵ | NC |
| I1 SIF | <1,0 x 10 ¹ | C | <1,0 x 10 ¹ | C |
| I2 SIF | <1,0 x 10 ¹ | C | <1,0 x 10 ¹ | C |
| I3 SIF | <1,0 x 10 ¹ | C | <1,0 x 10 ¹ | C |
| I4 CISPOA | <1,0 x 10 ¹ | C | <1,0 x 10 ¹ | C |
| I5 CISPOA | <1,0 x 10 ¹ | C | <1,0 x 10 ¹ | C |
| I6 CISPOA | <1,0 x 10 ¹ | C | <1,0 x 10 ¹ | C |

Legenda: *Staph* – *Staphylococcus* coagulase positiva; Colif. – Coliformes a 45 °C; C – Conforme; NC – Não Conforme. Legislação: Parâmetros para *E. coli* (até 10² UFC/g alimento), nesse estudo para coliformes a 45 °C foi considerado esse mesmo limite. Parâmetro para *S. aureus* de até 10³ UFC/g.

A diferença encontrada entre os queijos com e sem inspeção sanitária quanto à quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes a 45 °C (Tabela 3), demonstra a importância de boas práticas de higiene durante a ordenha do animal (TISHER *et al.*, 2019). A pasteurização do leite também é necessária para que os possíveis microrganismos patogênicos existentes sejam eliminados (MATA; TOLEDO; PAIVA, 2012). As indústrias de processamento de derivados lácteos são alvo de fiscalizações rotineiras quanto à qualidade dos processos, assim como os produtores dos quais obtém suas matérias-primas, fazendo com que haja um controle rigoroso em todas as etapas de produção, diminuindo os riscos de contaminação (BRASIL, 2017). A alta incidência destes microrganismos nos queijos não inspecionados pode ter como justificativa a carência de um ambiente adequado, com o uso de equipamentos e utensílios de ordenha sem higienização apropriada, assim como a falta de uma correta higiene pessoal do manipulador (ZAFALON *et al.*, 2008).

Tabela 3 - Percentual de amostras em desacordo com a legislação frente ao número total de amostras analisadas

| Análise | % amostras sem inspeção | Nº de amostras | % amostras totais | Nº de amostras |
|--|-------------------------|----------------|-------------------|----------------|
| <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva | 66,66% | 4 de 6 | 33,33% | 4 de 12 |
| Coliformes a 45 °C | 100% | 6 de 6 | 50% | 6 de 12 |

Diversos trabalhos já foram realizados para verificar a qualidade microbiológica de queijos tipo colonial. Em estudo realizado por Antonello, Kupkovski e Bravo (2012) com oito amostras de queijo colonial obtidos em supermercados no município de Francisco Beltrão, Paraná, foi detectada *Salmonella* spp. em 17,85% das amostras. A contagem para *Staphylococcus* spp. ultrapassou o limite da legislação em 82,14% das amostras, sendo que destas 50% foram confirmadas como *Staphylococcus* coagulase positiva e 67,85% dos queijos analisados estiveram em desacordo para coliformes termotolerantes. A maior parte das amostras estava em desacordo com a legislação, assim como as amostras analisadas no presente artigo.

Lucas *et al.* (2012), ao analisarem oito diferentes amostras de queijo colonial adquiridos em feiras livres do município de Medianeira, Paraná, detectaram a presença de coliformes termotolerantes com contagem superior ao limite estabelecido pela legislação em três amostras. Uma única amostra demonstrou contagem acima dos parâmetros para *Staphylococcus* coagulase positiva e não se detectou *Salmonella* sp. em nenhuma das amostras analisadas.

Perotto *et al.* (2016) analisaram dezoito amostras de queijo colonial coletado no estado do Rio Grande do Sul, sendo nove com inspeção federal e nove sem nenhuma inspeção sanitária. Como resultado, os autores obtiveram uma contagem de coliformes a 45 °C superior ao limite estabelecido pela legislação em 100% das amostras sem inspeção sanitária, e para *Staphylococcus* coagulase positiva o limite foi superior ao estabelecido pela legislação em 22,23% das amostras sem inspeção sanitária. Das amostras com inspeção federal, 100% estavam em conformidade com a legislação. Assim como o presente estudo, as análises demonstraram a eficiência da produção de queijos tipo colonial seguindo-se as diretrizes impostas pelas boas práticas de produção e higiene, tão quanto a importância da pasteurização do leite utilizado como matéria-prima na produção dos queijos.

No Rio Grande do Sul, a fiscalização sanitária de alimentos pode ocorrer em três esferas, conforme a área de abrangência da indústria: Serviço de Inspeção Municipal (SIM), Coordenadoria de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (CISPOA - estadual) e Serviço de Inspeção Federal (SIF). A Lei nº 7.889 de 1989, dispõe que as inspeções municipais, realizadas pelas Secretarias ou Departamentos de Agricultura dos Municípios, atendam as indústrias que comercializam seus produtos dentro do próprio município; as inspeções estaduais, realizadas pelas Secretarias de Agricultura dos Estados, realizem as fiscalizações de empresas que atendam em escala intermunicipal; e as inspeções a nível federal, realizadas pelo Ministério da Agricultura, atendam o comércio interestadual e internacional (BRASIL, 1989). Alimentos de origem animal processados sem nenhum tipo de fiscalização apenas podem ser utilizados para consumo próprio, sem poder de comercialização.

No estudo de Carvalho *et al.* (2019), ao investigar a qualidade físico-química e microbiológica da água coletada no local de manipulação do queijo, do leite cru usado na fabricação e o próprio queijo colonial produzido, verificaram que 92, 50 e 100% das amostras, respectivamente, estavam fora dos parâmetros vigentes no Brasil. Os autores ressaltam que deveriam existir ações concretas que pudessem auxiliar os pequenos produtores

na melhoria da produção do queijo colonial. E que a proibição e a comercialização desses alimentos não é a forma mais adequada de se resolver o problema.

4 Considerações finais

O estudo demonstrou uma significativa diferença na qualidade microbiológica encontrada entre queijos coloniais com e sem inspeção sanitária. Todos os queijos com inspeção sanitária se apresentaram dentro dos limites estabelecidos pela legislação brasileira, portanto, o processo de pasteurização do leite utilizado na fabricação dos queijos é essencial para eliminar os possíveis patógenos existentes na matriz. A pasteurização oferece, inclusive, uma garantia de maior tempo de validade do produto, por reduzir também microrganismos deteriorantes. As condições adequadas de higiene durante o processamento também possibilitaram uma menor contaminação pós-pasteurização. Todas as amostras inspecionadas se apresentaram, portanto, aptas para o consumo humano. O queijo colonial sem inspeção sanitária, principalmente pelo uso do leite cru, propicia um tempo de vida útil menor do produto e maior possibilidade de conter microrganismos patogênicos. Todas as amostras não inspecionadas estavam inaptas para consumo humano. Deste modo, é possível ressaltar a importância da fiscalização sanitária nos empreendimentos processadores de alimentos para que não se ofereçam riscos à saúde dos consumidores.

Referências

- AMBROSINI, L.; KROEFF, D. R.; MATTE, A.; CRUZ, F. T.; WAQUIL, P. B. Sabor, história e economia local: percepções dos consumidores gaúchos sobre o Queijo Colonial. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 26, n. 1, p. 1 – 21, 2020.
- ANTONELLO, L.; KUPKOVSKI, A.; BRAVO, C. C. Qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados em Francisco Beltrão, Paraná. **Revista Thema**, v. 1, n. 9, p.1-6, 2012.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ISO 6887-1:2017** – Microbiology of the food chain – Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions. 2017. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=368429>>. Acesso em: 16 jul. 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **NBR ISO 6888-1:2019** - Microbiologia de alimentos para consumo humano e animal – Método horizontal para enumeração de estafilococos coagulase positiva (*Staphylococcus aureus* e outras espécies) Parte 1: Técnica usando ágar Baird-Parker. 2019. Disponível em: <<https://www.abntcatalogo.com.br/norma.aspx?ID=417192>>. Acesso em: 16 jul. 2019.
- BRASIL. (2019) Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução normativa n° 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 23 dez. 2019.

BRASIL. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial da União, Brasília**, DF, 2017. Seção 1, p. 2. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2015-2018/2017/Decreto/D9013.htm>. Acesso em: 25 out. 2019.

BRASIL. Decreto nº 66.183, de 5 de fevereiro de 1970. Regulamenta do Decreto-lei n. 923, de 10 de outubro de 1969, que dispõe sobre a comercialização do leite cru. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1970. Seção 1, p. 999. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/1970-1979/D66183.htm>. Acesso em: 06 out. 2019.

BRASIL. Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1989. Seção 1, p. 21529. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7889.htm>. Acesso em: 14 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Portaria n. 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1996. Seção 1, p. 3977. Disponível em: <<https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/portaria-mapa-146-de-07-03-1996,669.html>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial da *Salmonella* spp.** Brasília, DF, 2011. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>>. Acesso em: 06 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **O que são doenças transmitidas por alimentos?** Brasília, DF, [201-?a]. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/doencas-transmitidas-por-alimentos>>. Acesso em: 09 jul. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. ***Salmonella* (Salmonelose): o que é, causas, tratamento e prevenção.** [201-?]. Disponível em: <<http://saude.gov.br/saude-de-a-z/Salmonella>>. Acesso em: 06 out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil: Informe 2018.** Brasília, DF, maio 2019. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/maio/17/Apresentacao-Surtos-DTA-Maio-2019.pdf>>. Acesso em: 09 jul. 2019.

BRINQUES, G. B. (Org.). **Microbiologia dos Alimentos.** São Paulo: Pearson Education do Brasil, 2015. E-book. Disponível em: <<https://bv4.digitalpages.com.br/?term=microbiologia&searchpage=1&filtro=todos&from=busca&page=-4§ion=0#/legacy/35542>>. Acesso em: 15 jul. 2019.

CAETANO, M. Produção de queijo deve crescer 2,5% neste ano com aumento do consumo. **Diário Comércio, Indústria & Serviços (DCI)**, São Paulo, 12 abr. 2018. Disponível em: <<https://www.dci.com.br/industria/producao-de-queijo-deve-crescer-2-5-neste-ano-com-aumento-do-consumo-1.698571>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

CENTRO ESTADUAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE (CEVS-RS). **DTHA: Doenças de Transmissão Hídricas e Alimentares**. Porto Alegre: 2017. Disponível em: <<https://www.cevs.rs.gov.br/dtha>>. Acesso em: 09 jul. 2019.

DORIGON, C. Mercados de produtos coloniais da Região Oeste de Santa Catarina: em construção. **IV ENEC: Encontro Nacional de Estudos de Consumo**, Rio de Janeiro, set. 2008. Disponível em: <http://estudosdoconsumo.com/wp-content/uploads/2018/03/enec2008-clovis_dorigon.pdf>. Acesso em: 16 jul. 2019.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo: Editora Atheneu, 2008. E-book. Disponível em: <<https://bv4.digitalpages.com.br/?term=microbiologia&searchpage=1&filtro=todos&from=busca&page=-10§ion=0#legacy/168091>>. Acesso em: 07 out. 2019.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, I, S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. 6 ed. Editora Manole: São Paulo/RS, 2019. 896p.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **ISO 6579-1:2017** – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* – Part 1: Detection of *Salmonella* spp. 2017b. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/56712.html>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **ISO 11290-1:2017** – Microbiology of the food chain – Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* and of *Listeria* spp. – Part 1: Detection mode. 2017a. Disponível em: <<https://www.iso.org/standard/60313.html>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

LUCAS, S. D. M. *et al.* Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira – PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.67, n.386, p.38-44, 2012.

MATA, N. F.; TOLEDO, P. S.; PAVIA, P. C. A importância da pasteurização: comparação microbiológica entre leite cru e pasteurizado, do tipo B. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.67, n. 384, p.66-70, 2012.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Manual de Métodos para Análise de Alimentos de Origem Animal**. Brasília, 2018. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/laboratorios/legislacoes-e-metodos/poa/copy3_of_Manualdemtodosoficiaisparaanlisedealimentosdeorigemanimal1ed.rev_.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2019.

PEROTTO, D. L. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de queijo colonial com e sem inspeção comercializados no estado do Rio Grande do Sul. **XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação: a árvore que sustenta a vida**. FAURGS, 2016. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/1598.pdf>>. Acesso em: 27 jun. 2019.

SOARES, L.; RODRIGUES, F. Com 25% da produção nacional, MG aposta no queijo como saída para crise e geração de renda. **G1 Sul de Minas**, Minas Gerais, 2019. Disponível em: <<https://g1.globo.com/mg/sul-de-minas/minas-dos-queijos/noticia/2019/05/20/com-25percent-da-producao-nacional-mg-aposta-no-queijo-como-saida-para-crise-e-geracao-de-renda.ghtml>>. Acesso em: 11 set. 2019.

TEIXEIRA, J. L. P.; PALLONE, J. A. L., ANDRADE, S. D.; MESIAS, M.; SEIQUER, I. Bioavailability evaluation of calcium, magnesium and zinc in Brazilian cheese through a combined model of in vitro digestion and Caco-2 cells. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 107, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0889157521005652> . Acesso em: 13 jun. 2022.

TISCHER, N. F.; HASSE, V. G.; COPETTI, K. L.; ULSENHEIMER, B. C., VIERO, L. M. Good hygiene practices during milking. *Brazilian Journal of Animal and Environmental Research*, v. 1, n. 1, p. 179-187, 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Listeriosis**. [20--]. Disponível em: <https://www.who.int/ith/diseases/listeriosis/en/>>. Acesso em: 07 out. 2019.

ZAFALON, L. F. *et al.* Boas práticas de ordenha. **Embrapa**, São Carlos/SP, mar. 2008. Disponível em: <<https://central3.to.gov.br/arquivo/228631/>>. Acesso em: 16 jul. 2019.

ZAFFARI, C. Produção do queijo colonial nas agroindústrias familiares do RS. **SEBRAE-RS**, 2018. Disponível em: <<https://sebraers.com.br/agroindustria-peq/producao-do-queijo-colonial-nas-agroindustrias-familiares-do-rs/>>. Acesso em: 11 set. 2019.