

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**PESQUISA DE *coliformes totais e coliformes termotolerantes* EM QUEIJOS TIPO  
*COALHO* PRODUZIDOS COM LEITE CRU NA REGIÃO DO AGRESTE  
PARAIBANO**

**RAYENE MARIA DA SILVA ARAÚJO**

**Areia, 2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**

**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**

**CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**PESQUISA DE coliformes totais e coliformes termotolerantes EM QUEIJOS TIPO  
COALHO PRODUZIDOS COM LEITE CRU NA REGIÃO DO AGRESTE  
PARAIBANO**

**Rayene Maria da Silva Araújo**

**Trabalho de conclusão de curso  
apresentado como requisito parcial  
para obtenção do título de Bacharel  
em Medicina Veterinária pela  
Universidade Federal da Paraíba, sob  
orientação do professor: Felipe Nael  
Seixas.**

**Areia, 2017**

*Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da  
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.*

A663p Araújo, Rayene Maria da Silva.

Pesquisa de *coliformes totais e coliformes termotolerantes* em queijos tipo coalho produzidos com leite cru na região do agreste paraibano / Rayene Maria da Silva Araújo - Areia: UFPB/CCA, 2017.

23 f.: il.

*Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.*

**Bibliografia.**

*Orientador(a): Prof. Felipe Nael Seixas.*

1. *Microbiologia – Patógenos.*
2. *Microrganismos - Patogenicidade.*
3. *Queijo tipo coalho – Produção. I. Seixas, Felipe Nael (Orientador) II. Título.*

UFPB/CCA

CDU: 579.67:613.288



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CAMPUS II - AREIA  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS  
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

Rayene Maria da Silva Araújo

**PESQUISA DE *coliformes totais e coliformes termotolerantes* EM QUEIJOS TIPO COALHO  
PRODUZIDOS COM LEITE CRU NA REGIÃO DO AGRESTE PARAIBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título  
de Bacharel em Medicina Veterinária, pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovada em: 20/07/2017

Nota: 9,5

Banca Examinadora

---

Prof. Dr. Felipe Nael Seixas, Médico Veterinário - UFPB

Orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suzana Aparecida Costa de Araújo, Médico Veterinário- UFPB

Examinador

---

Prof. Dr. Inácio José Clementino, Médico Veterinário – UFPB

Examinador

## DEDICATÓRIA

*A Deus, por me amar e guiar meus passos. À  
minha família por todo apoio, em especial à  
minha mãe, por toda dedicação, paciência e  
incentivo. Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer ao meu Deus, que me guia e sustenta em todos os momentos da minha vida. Por nunca desistir de mim, quando eu pensei que não suportaria as dificuldades ao longo do caminho.

À minha querida família, por me apoiar em tudo que faço, por me dar forças quando estávamos a km de distância, onde por vezes, a solidão queria tomar conta, foi em vocês que eu pensei. Em especial à minha querida mãe, aquela que sempre fez tudo o que estava ao seu alcance para que eu realizasse meus sonhos, o da veterinária principalmente, que sempre torceu e disse que eu sou capaz, foi você que cansou de me ouvir chorar ao telefone e continha-se para me dar forças. Te agradeço por cada sacrifício seu, por cada oração, por vibrar com minhas vitórias. Amo-te.

À meu querido primo Maxwilliam Domingues, por me ouvir e me apoiar em todos os momentos. Agradeço pela confiança e por acreditar em meu potencial. Eu amo você.

À Nathália Dantas, pelas noites em claro, comendo pipoca, estudando loucamente e rindo mais ainda. Agradeço por seu apoio e incentivo. Hoje te tenho como irmã e sei que sempre poderei contar com você. Obrigada por cada momento.

À minha querida amiga Amanda Santos por sempre me alegrar e sempre estar disposta a ajudar, agradeço por tudo que você é. Minha amiga sintonia.

À Sloany Guedes, Thuany Guedes, pelos momentos que vivemos, mesmo distantes sempre torceram por mais essa vitória minha, obrigada.

À Thuanny Alencar pelos anos de amizade, por ser uma amiga que sempre me apoiou no meu sonho, obrigada.

À Raianne Coqueijo, por todos os momentos em que uma apoiava a outra e juntas vencemos os desafios diários no curso, além de muitos momentos de diversão. A você agradeço.

À Isadora Thalita, a primeira amizade feita na veterinária, agradeço por fazer parte de quem me tornei, pelos momentos desesperados de café e noites em claro, estudando para as provas e rindo muito também. Agradeço por tudo que você fez por mim. Amo você.

À Quênia Quécia por tornar os meus dias na casinha mais divertidos, por ser minha parceira de estudo e oração. Te levarei para sempre no coração.

À Lilliam minha querida amiga, aquela que me viu chorar diversas vezes, e que me apoiou em tudo que quis fazer, me fez rir de bobagens e se preocupou com meu bem estar. Agradeço por cada momento, lembrarei de você e das nossas maluquices diárias.

À Géssica, uma amizade inesperada que deu muito certo, sua sinceridade e seu jeito engraçado de ser, as conversas e risadas na nossa querida casinha 4. Agradeço por tudo de coração.

À ABU, pelos amigos que me trouxe: Givanildo(obrigada por cada conversa e oração), Vinícius, Gisliane, Bruno, Alysson, Felipe Coutinho, Felipe Melo, Robson e demais... Vou levá-los sempre no coração.

Ao meu orientador Felipe Nael Seixas, agradeço pela oportunidade e confiança em mim, pela sua dedicação. O admiro demais pelo profissional exemplar que és. Muito obrigada!

Ao meu colega de experimento e de curso Fábio Júnior Targino, que sempre se dispôs a me ajudar e esteve comigo em todos os momentos, tentando ajustar os nossos horários e encontrar formas de realizar nosso trabalho com êxito. Ganhei um amigo, agradeço imensamente a Deus por ter sido você o meu parceiro de tcc.. Agradeço pela sua vida.

Aos professores, que contribuíram para o meu crescimento acadêmico nos anos que passei no CCA.

Aos técnicos que me ensinaram muito no laboratório da preventiva, pela ajuda e pelos momentos de alegria que passamos juntos, a vocês agradeço.

Agradeço também aos irmãos da IEB GEISEL que sempre torceram por mim, e me sustentaram com orações, ao meu pastor Natalício Emmanuel e família, pelas orações e pela torcida de sempre. Agradeço imensamente.

E aos que contribuíram direta e indiretamente, para meu crescimento profissional, que me ajudaram a subir esses degraus que foram árduos, porém, satisfatórios. A vocês, meu muito obrigada.

“Um Deus infinito pode se dar por inteiro a cada um de seus filhos. Ele não se distribui de modo que cada um tenha uma parte, mas a cada um ele se dá inteiro, tão integralmente como se não houvesse outros.”

A.W.Tozer

viii

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>02</b>
<b>2.1 Leite .....</b>	<b>02</b>
<b>2.2 Queijo.....</b>	<b>03</b>
<b>3 MICRORGANISMOS INDICADORES.....</b>	<b>04</b>
<b>3.1 Coliformes Totais.....</b>	<b>04</b>
<b>3.2 Coliformes Termotolerantes.....</b>	<b>05</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>05</b>
<b>5 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>06</b>
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>07</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>09</b>
<b>8 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>10</b>

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1** : Presença de gás e turvação nos respectivos tubos: Lauril Triptose, Verde Brilhante e *Escherichia Coli*, confirmando a presença de coliformes totais e termotolerantes.....07

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Resultados das amostras analisadas para Coliformes Totais e Termotolerantes, apresentando valores acima de 1000 NMP/ mL.....	08
---	----

## RESUMO

ARAÚJO, Rayene Maria da Silva, Universidade Federal da Paraíba, Julho, 2017. **Pesquisa de coliformes totais e coliformes termotolerantes em queijos tipo coalho produzidos com leite cru na região do Agreste Paraibano** Orientador: Prof: Felipe Nael Seixas

O queijo de coalho é produzido por muitos produtores na região Nordeste, porém frequentemente utilizam o leite cru que não atendem as normas higiênico-sanitárias, trazendo riscos a população. Um dos microrganismos patogênicos mais encontrados no leite e consequentemente nos queijos, são os coliformes. Os coliformes são bastonetes Gram-negativos, não esporulados, que fermentam a lactose dentro de 48 horas. De forma geral, os coliformes são representados por quatro gêneros da família *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli* e *Klebsiella*. O leite, matéria-prima usada na fabricação de queijos, pode acidentalmente ser contaminado com fezes, podendo ser um veículo para *E.coli* e portanto, considerado como uma via de transmissão importante. O trabalho realizado teve como objetivo analisar os queijos produzidos em propriedades rurais do Agreste da Paraíba. Para isso, foram coletadas 10 amostras de queijo coalho de: Areia, Remígio e Alagoinha. Pesquisou-se coliformes totais e coliformes termotolerantes. Os resultados mostraram que as 10 amostras foram positivas acima de  $(10 \times 10^3 \text{ NMP/mL})$  quando o número máximo permitido é de  $5 \times 10^2 \text{ NMP/mL}$ , significando que os queijos analisados oferecem riscos a saúde da população. Porém, com as medidas cabíveis, como a capacitação dos produtores, é possível reduzir esses índices, levando um alimento mais seguro para a mesa do consumidor.

Palavras-chaves: patógenos; microrganismos; lactose; queijo coalho

## ABSTRACT

ARAÚJO, Rayene Maria da Silva, Federal University of Paraíba, July, 2017. **Research of total coliforms and thermotolerant coliforms in curd cheese produced with raw milk in the region of Agreste Paraibano.** *Adviser: Felipe Nael Seixas*

Rennet cheese is produced by many producers in the Northeast, but they often use raw milk that does not meet hygienic-sanitary standards, bringing risks to the population. One of the most pathogenic microorganisms found in milk and consequently cheeses are coliforms. Coliforms are gram-negative rods, not sporulated, that ferment lactose within 48 hours. In general, the coliforms are represented by four genera of the family *Enterobacteriaceae*: *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia coli* and *Klebsiella*. The milk, raw material used in the manufacture of cheeses, can be contaminated with feces and can be a vehicle for *E.coli* and therefore considered as an important transmission route. The objective of this work was to analyze the cheeses produced in rural properties of Agreste of Paraíba. For this, 10 samples of rennet cheese were collected from: Areia, Remígio and Alagoinha. Total coliforms and thermotolerant coliforms were investigated. The results showed that the 10 samples were positive ( $10 \times 10^3$  NMP / mL) when the maximum number allowed was  $5 \times 10^2$  NMP / mL, meaning that the cheeses analyzed put the health of the population at risk. However, with the appropriate measures, such as the qualification of the producers, it is possible to reduce these indices, taking a safer food to the table of the consumer.

Key-words: pathogens; Microorganisms; lactose; curd cheese

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil é atualmente o quarto maior produtor de leite bovino no mundo, estando atrás apenas dos Estados Unidos, da Índia e da China (FAO, 2013). Em 2011 a produção brasileira atingiu 32,09 bilhões de litros de leite bovino. Os estados do Nordeste produziram 3,888 bilhões de litros de leite, com acréscimo do volume de 290 milhões de litros (EMBRAPA, 2015). Na Paraíba em 2008, a produção dos queijos coalho e de manteiga foi em torno de 25 toneladas por mês, onde, o queijo coalho representa 38% dessa produção (SEBRAE, 2008).

A microrregião do Brejo Paraibano é uma das 23 microrregiões do estado da Paraíba, pertencente à Mesorregião do Agreste Paraibano. Possui uma área total de 1.202,1 km<sup>2</sup>. Sua população foi estimada em 2015, em 116.235 habitantes e está dividida em oito municípios: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (IBGE, 2015).

De acordo com Beresford *et al.* (2001) a fabricação da maioria das variedades de queijos envolve a combinação de quatro ingredientes principais: leite, coalho, microrganismos e sal, que são processados através de uma série de passos comuns, tais como formação de gel, expulsão do soro, produção de ácido e adição de sal, seguido por um período de maturação. Variações nas misturas de ingredientes e o processamento subsequente conduziram à evolução de uma variedade de queijos.

Quanto ao queijo coalho, considerado produto típico nordestino, é um queijo de massa crua ou semi-cozida, produzido há mais de um século a partir de leite de vaca cru e/ou pasteurizado (BRASIL, 2001). Faz parte do hábito alimentar, principalmente nos estados do Ceará, Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba, como também nos grandes centros da região Sudeste do país, sendo fonte de renda e trabalho para uma parcela de pequenos e médios produtores.

A contaminação microbiana do queijo coalho, tem uma relevância para a saúde pública, devido ao potencial risco de causar doenças transmitidas por este alimento (FEITOSA *et al.*, 2003). Vários estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo coalho relataram ocorrência de microrganismos patogênicos e contagem de microrganismos deterioradores em números que excedem, às vezes, os limites estabelecidos pela legislação (CAVALCANTE *et al.*, 2007).

O leite pode ser acidentalmente, contaminado com fezes durante a sua obtenção, levando a produção de um queijo igualmente contaminado, servindo de veículo para

*Escherichia coli*. O principal reservatório de *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC) é o trato intestinal dos ruminantes, nos quais não costumam produzir sinais clínicos. Tem sido observado que os utensílios utilizados para obtenção do leite durante a ordenha se contaminam, e por sua vez, contaminam novos lotes de leite. Por sua tolerância a valores baixos de pH, o processo de fabricação do queijo não inativa *E. coli*, e vários surtos são associados ao consumo de queijo e outros produtos lácteos elaborados com leite tanto pasteurizado como não pasteurizado.

Cerqueira *et al.* (1999) relataram alta incidência de STEC (Shiga-toxin produzida por *E. coli*) em bovinos saudáveis no estado do Rio de Janeiro (71% de portadores), em gado leiteiro, a frequência de isolamento foi de 82% e em gado de corte 53%, desses isolados, três (1,5%) foram identificados como *E. coli*. Enquanto Melo *et al.*, (2013) encontraram em 108 amostras de queijo artesanal Serrano 63 (58,33%) amostras positivas para coliformes totais e 64 (59,26%) positivas para *Escherichia coli*.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 LEITE**

Devido ao seu grande consumo em todo o mundo, principalmente por crianças e idosos, a ingestão de leite de vaca é o que mais predomina no Brasil (BELOTI *et al.*, 2015). O leite é um produto demasiadamente delicado e bastante perecível, sendo considerado um excelente meio de cultura para os microrganismos devido a suas características intrínsecas, como a alta atividade de água, pH próximo ao neutro e riqueza de nutrientes (FRANCO ; LANDGRAF, 2003).

A qualidade microbiológica do leite cru influencia significativamente a qualidade final do queijo. Boa parte dos microrganismos presentes no leite cru é incluída no momento da ordenha, mas a contaminação pode ocorrer também durante sua estocagem na propriedade, seu transporte e seu processamento.

O leite pode conter quase todos os gêneros e espécies de bactérias aeróbias conhecidas, especialmente os psicotróficos e mesófilos. Dependendo do tipo microbiano presente no leite, eles atuam de formas distintas, metabolicamente falando, ou seja, esses microrganismos causam diversas alterações na composição do leite, onde as mesmas irão depender da carga bacteriana presente no leite (BELOTI *et al.*, 2015).

## 2.2 QUEIJO

A história do queijo tornou-se conhecida desde tempos muito antigos, muitos especialistas consideram a Idade Média como o marco inicial da sua fabricação. Existem relatos de consumo de leite solidificado que datam 7.000 anos a.C. e há achados arqueológicos que revelam a existência de queijos feitos a partir de leite de vaca e de cabra 6.000 anos atrás (PERRY, 2004).

Vários elementos constituem o queijo, são estes: proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas. Os minerais influenciam a textura do queijo, pois participam da coagulação do leite (PERRY, 2004). A produção de queijo coalho artesanal é baseada em técnicas tradicionais, onde a matéria prima utilizada é o leite cru e desempenha papel importante no desenvolvimento da agricultura familiar em pequenos municípios localizados próximos às bacias leiteiras do estado da Paraíba.

Como um produto dentre vários derivados do leite, o queijo é avaliado como um carreador de patógenos de origem alimentar, principalmente os queijos produzidos com leite cru, pois não passam pelo processo de maturação. Portanto, há uma relevância para a indústria e para a saúde pública, a contaminação do queijo (FEITOSA *et al.*, 2003).

A Secretaria de Defesa Agropecuária (SDA) do Ministério da Agricultura, através do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho, define este produto como um queijo de consistência semi dura e elástica, uma textura compacta e macia, pode apresentar algumas olhaduras, coloração branca amarelada uniforme, sabor brando e ligeiramente ácido, com aroma igualmente ácido, podendo ser salgado (BRASIL, 2001).

Segundo Feitosa *et al.* (2003), o queijo é considerado um alimento com presença de patógenos de origem alimentar, especialmente os queijos frescos, que, frequentemente são elaborados com leite cru e não passam pelo processo de maturação.

É um produto consumido por todas as faixas etárias e níveis sociais, cuja contaminação microbiana assume destacada relevância tanto para a indústria, devido as perdas econômicas, como para a saúde pública, aumentando o risco de causar doenças transmitidas por alimentos (FEITOSA *et al.*, 2003).

### 3. MICRORGANISMOS INDICADORES

Os microrganismos exercem um papel essencial na cadeia leiteira, não apenas nos processos desejáveis mas também nos considerados inconvenientes. É essencial ter conhecimento dos fatores que impedem ou favorecem o crescimento de diferentes tipos de microrganismos, para determinar a qualidade do leite, a produção de derivados mais nobres e a sua vida útil. (BELOTI *et al.*, 2015).

Para que algum microrganismo cresça em algum alimento, é necessário que esse alimento forneça as devidas condições de sobrevivência, como por exemplo, pH, temperatura, quantidade de água disponível neste alimento, tornando o ambiente satisfatório para o crescimento microbiano. (BELOTI *et al.*, 2015).

Devido as suas características de processamento inadequado, os queijos produzidos em pequenos estabelecimentos, ou artesanalmente, apresentam em geral uma grande quantidade de microrganismos responsáveis pela degradação e ou a redução da vida útil do produto, indicadores de más condições higiênicas sanitárias do processamento além da manipulação inadequada da matéria prima, utensílios e equipamentos (PEIXOTO *et al.*, 2007)

Os indicadores estão diretamente ligados ao controle de qualidade das indústrias, eles podem determinar a origem de contaminações que são responsáveis pela interdição de laticínios, por não conseguirem encontrar solução para os problemas microbiológicos.

#### 3.1 COLIFORMES TOTAIS

Os coliformes totais são indicadores que fazem parte de um grupo específico de bactérias da família *Enterobacteriaceae*, utilizam a lactose enquanto outras enterobactérias utilizam apenas a glicose. A fermentação dessa lactose resulta em formação de gás e ácido, que são produtos essenciais para identificar esses indicadores. Os 30°C indicam a temperatura de incubação, porém não é regra, algumas metodologias recomendam de 35 a 37°C. Essa determinação dos coliformes a 30°C tem o objetivo de diferenciá-los dos coliformes termotolerantes, ou seja, os que crescem a incubação de 45°C e estão diretamente relacionados a contaminação de origem fecal (BELOTI *et al.*, 2015).

Os coliformes totais estão presentes na água que é carreadora, no ambiente da ordenha e na indústria. Estão presentes em grande quantidade na natureza, em alimentos crus, porém, são sensíveis à temperatura. Deve-se tomar bastante cuidado ao interpretar os resultados de contagens destes indicadores, pois, encontrar mais coliformes totais do que o limite permitido não significa dizer que o produto está impróprio para o consumo. Por exemplo, os queijos que apresentam alta umidade tem o limite máximo (M) de 10 mil coliformes totais, no entanto, coliformes totais não são pesquisados devido à sua periculosidade, pois, a segurança do alimento é indicada através dos coliformes à 45°C ou *E.coli*, que por viverem no intestino de animais, tem relação direta com os patógenos encontrados nas fezes (BELOTI *et al.*, 2015)

### **3.2 COLIFORMES TERMOTOLERANTES**

Segundo Beloti *et al.*,(2015), os coliformes 45°C são os mesmos coliformes totais que continuam a fermentar a lactose com produção de gás ao serem incubados à 45°C

Os coliformes a 45°C indicam a segurança de consumo dos alimentos, dos indicadores, eles são os mais importantes para a Vigilância Sanitária, que é responsável por investigar e analisar a questão. São utilizados também para avaliar a qualidade da água utilizada na indústria.

Eles conseguem sobreviver no intestino humano e animal, explicando assim, o porque que a presença nos alimentos tem origem fecal. Esse grupo é composto por 4 gêneros: *E.Coli*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebisiella*, porém, apenas a *E.Coli* faz do intestino humano e animal seu habitat natural. (BELOTI., 2015)

## **4. OBJETIVOS**

Verificar o aspecto higiênico-sanitário dos queijos coalho produzidos na Mesorregião do Agreste Paraibano, através da quantificação de coliformes totais e termotolerantes.

## **5. MATERIAL E MÉTODOS:**

### **AMOSTRAGEM**

Foram utilizados para análise 10 amostras de queijos coalho produzidos com leite cru de vaca, recolhido aleatoriamente em diferentes pontos de comercialização (mercado público, armazéns) das cidades de: Areia, Remígio e Alagoinha da mesorregião do Agreste Paraibano. As amostras foram identificadas (hora/dia/local), acondicionadas em caixas isotérmicas e encaminhadas ao laboratório de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Federal da Paraíba, Campus-II, Areia.

De cada queijo foram separadas e pesadas, frações de 25 g para cada uma das análises a serem realizadas nos exames microbiológicos.

Todas as amostras foram homogeneizadas e realizadas diluições para a identificação e quantificação dos microrganismos desejados, e feitas as posteriores análises.

### **Determinação de Número Mais Provável de Coliformes Totais e Termotolerantes**

Uma alíquota de 25g de queijo foi adicionada a 225 ml de água peptonada 0,1% (Laborclin), e homogeneizada por 60 segundos, onde se obteve a diluição  $10^{-1}$  e desta, foram obtidas as demais diluições em água peptonada 0,1% que foram analisadas.

Para a análise presuntiva do número mais provável de coliformes, foram tomados 1 ml das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$ , e inoculados, respectivamente, em três tubos contendo 10 ml de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), com tubos de Durham invertido, em uma série de três tubos. Os tubos foram incubados em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$ , de 24 a 48 horas.

Os tubos positivos, que apresentaram turvação e produção de gás, foram devidamente separados e analisados para coliformes a  $35^{\circ}\text{C}$  (totais) e coliformes a  $45^{\circ}\text{C}$  (termotolerantes).

Para os coliformes a  $35^{\circ}\text{C}$  (totais) foram utilizados tubos, contendo 10 ml de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB), com tubos de Durham invertido, incubados a  $37^{\circ}\text{C}$ , em estufa bacteriológica durante 24 a 48 horas, sendo considerados positivos os tubos com turvação do meio e produção de gás nos tubos de Durham, em um período máximo de 48 horas.

Para coliformes a 45° C (termotolerantes) foram utilizados tubos contendo 10 ml de Caldo *Escherichia coli* (EC), com tubos de Durham invertidos, incubados a 45° C, em banho maria, por 24 a 48 horas, considerando-se positivos, aqueles que apresentaram turvação do meio e formação de gás nos Tubos de Durham invertidos, em um período máximo de 48 horas.

Para a quantificação da análise, foram tomados os tubos positivos de caldo V B e caldo EC, e verificado através da tabela de Número Mais Provável. Quantificando os coliformes a 35° C e 45° C por grama de queijo analisado.

## 6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, todas as amostras demonstraram a presença de coliformes totais e termotolerantes com valores superiores a  $10 \times 10^3$  NMP/ mL onde o padrão estabelecido pela legislação brasileira deve ser de  $5 \times 10^2$  NMP/ mL. (Figura 1). A presença de valores superiores ao permitido pela legislação de coliformes totais é apontada como indicador ambiental, já os termotolerantes indicam contaminação de origem fecal, e são utilizados como indicadores em todos os produtos prontos da cadeia láctea (BELOTI *et al.*, 2015). (Tabela 1)



**Figura 1:** Presença de gás e turvação nos respectivos tubos: (a) Lauril Tryptose, (b) Verde Brilhante e (c) *Escherichia Coli*, confirmando a presença de coliformes totais e termotolerantes.

**Tabela 1:** Resultados das amostras analisadas para Coliformes Totais e Termotolerantes, apresentando valores acima de 1000 NMP/ mL

AMOSTRAS	COLIFORMES TOTAIS NMP/ mL	COLIFORMES TERMOTOLERANTES NMP/ mL
1	>1100 NMP	>1100 NMP
2	>1100 NMP	>1100 NMP
3	>1100 NMP	>1100 NMP
4	>1100 NMP	>1100 NMP
5	>1100 NMP	>1100 NMP
6	>1100 NMP	>1100 NMP
7	>1100 NMP	>1100 NMP
8	>1100 NMP	>1100 NMP
9	>1100 NMP	>1100 NMP
10	>1100 NMP	>1100 NMP

Diversos fatores podem ter contribuído para os resultados obtidos como: condições higiênicas sanitárias inapropriadas da matéria prima, falhas no processamento, armazenamento inadequado, transporte, exposição do produto e a contaminação durante a comercialização, trazem como consequência, queijos de baixa qualidade expondo o consumidor ao risco de contaminação. O ar, o ambiente, as embalagens, as mãos dos funcionários, bem como os equipamentos e os utensílios, estabelecem pontos importantes que devem ser ajustados as boas práticas de manipulação e fabricação, reduzindo os riscos de contaminação para o produto e consequentemente, impedir surtos decorrentes de alimentos contaminados (PEIXOTO et al., 2007).

Vários estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo coalho, relataram ocorrência de microrganismos patogênicos e contagem de microrganismos deterioradores em números que excedem os limites estabelecidos pela legislação. Dentre as bactérias patogênicas observadas destacam-se *Salmonella sp*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (CAVALCANTE et al., 2007).

Estudos realizados no Estado do Ceará, por Borges et al. (2003), confirmaram a presença de coliformes totais e coliformes termotolerantes em todas as amostras de queijos

avaliadas, sendo que 74,4% das amostras continham níveis superiores aos padrões estabelecidos pela legislação vigente para coliformes termotolerantes.

É importante esclarecer, que coliformes termotolerantes pertencem a um grupo de microrganismos que vive no trato intestinal do homem e de outros animais, deste modo, sua presença em alimentos indica que houve um contato direto ou indireto do produto com fezes, tornando evidente o risco para a saúde dos consumidores devido sua alta patogenicidade (SALOTTI *et al.*, 2006).

Como meio de resolução é crucial um grande movimento dos órgãos competentes, para buscar melhorias para os produtores e seu ambiente de produção, como: meios de fiscalização, a vigilância sanitária mais presente acompanhando-os. Uma forma de expandir a ideia de melhoramento das condições higiênico sanitárias é levar até os produtores a forma correta de realizar a fabricação do produto para promover a ação de alguns órgãos, como Vigilância Sanitária, Universidades, prefeituras, para realizarem um trabalho interdisciplinar através de divulgações, palestras, minicursos, e com isso expandir o conhecimento e levar novas ideias e principalmente conscientizar a respeito da qualidade do produto e saúde pública.

## **7. CONCLUSÃO**

Coliformes totais e termotolerantes foram encontrados em todas as amostras de queijo analisadas, com valores ultrapassando os limites estabelecidos pela legislação. Portanto, algumas estratégias devem ser realizadas pelos órgãos responsáveis para cumprir ações de educação sanitária conscientizando os produtores e seus trabalhadores, acompanhando essas propriedades produtoras, implementando ações para cadastro dessas propriedades nesses órgãos, afim de, fortalecer a fiscalização garantindo um produto com qualidade higiênico sanitária satisfatória.

## 8. REFERÊNCIAS

AQUINO, F.T.M. Produção de queijo de coalho no Estado da Paraíba: acompanhamento das características físico-químicas do processamento. 1983. 74f. Dissertação (Mestrado) **Universidade Federal da Paraíba**, João Pessoa.

BELOTI, V.; TAMANINI,R.; NERO,L.A.; MOREIRA.M.A.S.; SILVA.L.C.C.; FAGNANNI,R.; REIS,KT.M.G.Leite: **Obtenção, Inspeção e Qualidade**.p.181-186, 2015.

BERESFORD, T. P.; FITZSIMONS, N. A.; BRENNAN, N. L.; *et al.* Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**. v. 11, n. 4-7, p. 259-274, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 26/06/2001. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo de Coalho. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001.

BRASIL.Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.12 de 02/01/2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 02/01/2001.p.1-54.2001a.

CARMO, A. P.; PINTO, C. L. O.; MARTINS, M. L. Queijos Artesanais: Necessidade de adequação às boas práticas de produção e de comercialização. **Revista do Instituto Cândido Tostes**,v. 58, n. 333, p. 178-180, 2003.

CAVALCANTE, J.F.M.; ANDRADE, N.J.; FURTADO, M.M.; FERREIRA, C.L.L.F.; PINTO, C.L.O.; ELARD, E. Processamento de queijo coalho regional empregando leite pasteurizado e cultura láctica endógena. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.205-214, 2007.

CERQUEIRA, A. M.; GUTH, B. E.; JOAQUIM, R. M. *et al.* High occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in healthy cattle in Rio de Janeiro State, Brazil.

**Veterinary Microbiology**. v. 70, p. 111-121, 1999.

EMPRAPA. **Panorama do leite**. Juiz de Fora, n.75, p.1-14, out. 2015.

FAO. Food and Agriculture Organization of United Nations. Faostat. **Countries by commodity**. 2013.

FEITOSA, T.; BORGES, M.F.; NASSU, R.T.; AZEVEDO, E.H.F.; MUNIZ, C.R. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitário em queijo de coalho produzido no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, p.162-165, 2003. Suplemento

FLORENTINO, E.S.; MARTINS, R.S. Características microbiológicas do “queijo de coalho” produzido no Estado da Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 59, p. 43-48, jan./fev. 1999.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF. M.; **Microbiologia dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, p. 93 , 2003.

HOFFMANN, F. L.; SILVA, J. V. Qualidade Microbiológica de queijos tipo “Minas Frescal”, vendidos em feiras livres na região de São José do Rio Preto – SP. **Revista Higiene Alimentar**,v. 6, n. 96, p. 89-94, 2003.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Disponível em:  
<http://www.ibge.gov.br> [abril 2016] 2015.

JAY, J. M. **Modern Food Microbiology**. 7 ed. ASPEN, Publishers, Gaithersburg, MD. 2005, 854pp.

MATTA, 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.

NERO, L.A. *Listeria monocytogenes e Salmonella spp.* em leite cru produzido em quatro regiões leiteiras do Brasil: ocorrência e fatores que interferem na sua detecção. 2005. Tese (Doutorado)- **Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2005.

PEIXOTO, A.M.S.; PRAÇA, E.F.; GÓIS, V.A. de., A potencialidade microbiológica de coagulação do coalho líquido artesanal. **Revista Verde** (Mossoró – RN – Brasil) v.2, n.2, p. 52 – 64 Julho/Dezembro de 2007.

PERRY, K.S.P. Queijos: aspectos químicos, bioquímicos e microbiológicos. **Quim. Nova**, v.27, p.293-300, 2004.

SALOTTI, B.M.; CARVALHO, A.C.F.B.; AMARAL, L.A.; VIDAL-MARTINS, A.M.C.; CORTEZ, A.L. **Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no Município de Jaboticabal, SP, Brasil**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v.73, n.2, p.171-175, 2006.

SEBRAE/PB. **Perfil tecnológico das queijeiras no cariri e agreste paraibano**. Serviço de apoio às micro e pequenas empresas do Estado da Paraíba. João Pessoa, 2008.

SOUZA, R.A. Incidência de *L. monocytogenes* em queijo tipo coalho artesanal comercializado à temperatura ambiente em Fortaleza - CE. Fortaleza, 2002. 78F. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), **Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará (UFCE)**.