



EPAMIG

31º Congresso Nacional de Laticínios

Instituto de Laticínios Cândido Tostes



18 a 20 de Julho de 2017 - Juiz de Fora - MG

PESQUISA DE *Listeria monocytogenes* E *Salmonella* spp. E CONTAGEM DE *Staphylococcus* spp. COAGULASE POSITIVA E COLIFORMES EM QUEIJO ARTESANAL PRODUZIDO NO MUNICÍPIO DE ALAGOA, MINAS GERAIS

Carla Christine Lange⁽¹⁾, Thais Cristina de Assis Oliveira⁽²⁾, Fernanda Cristina Benjamim da Costa⁽²⁾, Marcos Aurélio Souto Silva⁽¹⁾, Nívea Maria Vicentini⁽¹⁾, Maria de Fátima Ávila Pires⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, Brasil,
carla.lange@embrapa.br,marcos.souto@embrapa.br, nivea.vicentini@embrapa.br,
maria.pires@embrapa.br

⁽²⁾Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brasil,
thais.cris.ld@gmail.com, nandinhacrisjf@hotmail.com

Resumo

O queijo artesanal tipo parmesão faz parte da história e da cultura do município de Alagoa, Minas Gerais. No presente estudo foi realizada a pesquisa de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. e a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes no leite cru, soro-fermento e salmoura utilizados na produção do queijo artesanal de seis produtores do município de Alagoa, assim como no queijo recém-fabricado e após sete, 14, 21 e 28 dias de maturação. Não foi isolada *Salmonella* spp. em nenhum dos materiais analisados. *L. monocytogenes* foi isolada no queijo de um produtor, em dois tempos de maturação. Entretanto, não foi isolada no leite cru, no soro-fermento, na salmoura, nem em análises subsequentes de outra partida do queijo, o que sugere que a contaminação tenha sido um fato isolado. A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva e de coliformes variou entre os produtores e foi bastante alta em alguns queijos analisados.

Palavras-chave: leite cru, patógenos, queijo tipo parmesão

Introdução

A produção artesanal de queijo destaca-se como uma importante atividade para a geração de renda de agricultores familiares em diversas regiões do país. Os agricultores familiares do município de Alagoa têm a produção de leite e a fabricação de queijo artesanal como principal atividade geradora de emprego e renda. O queijo artesanal tipo parmesão faz parte da história e da cultura do município. Segundo o conhecimento popular, essa iguaria foi trazida para Alagoa por volta do ano de 1900 por Paschoal Polpa, que veio da Itália para o sul de Minas Gerais. Na região todo produtor tem sua queijaria, fabricando o queijo de forma artesanal como no tempo do Paschoal, procurando manter a tradição (Siqueira, 2011).

Um dos principais entraves da produção e comercialização de queijo artesanal diz respeito à qualidade microbiológica da matéria-prima, uma vez que o queijo é feito a partir de leite cru. Isso significa que microrganismos patogênicos podem estar presentes no leite e passar para o queijo, colocando em risco a segurança do produto final. Contaminações durante a fabricação do queijo também podem ocorrer, principalmente se não forem observadas as boas práticas de fabricação.

O presente trabalho teve como objetivo verificar a qualidade microbiológica do queijo artesanal produzido no município de Alagoa, Minas Gerais. Para isso foi realizada a pesquisa de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. e a contagem de *Staphylococcus* spp. coagulase positiva e de coliformes em amostras de leite cru, soro-fermento, salmoura e queijos em diferentes tempos de maturação, produzidos por seis produtores desse município.

Material e Métodos

Foi realizada a pesquisa de *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. e a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) e de coliformes totais e termotolerantes no leite cru, soro-fermento e salmoura utilizados na produção de queijo artesanal de seis produtores do município de Alagoa - MG, assim como no queijo recém-fabricado e após sete, 14, 21 e 28 dias de maturação. A coleta dos materiais foi realizada entre os meses de maio e julho de 2016. A maturação dos queijos foi feita no próprio estabelecimento produtor. Os materiais coletados foram mantidos sob refrigeração durante o transporte até o laboratório e analisados no período máximo de 24 horas após a coleta.

A pesquisa de *L. monocytogenes* foi realizada de acordo com a ISO 11290-1:1996 emenda 1:2004. A metodologia empregada para detecção de *Salmonella* spp. foi baseada no documento ISO 6785:2001(E). A pesquisa de SCP foi realizada com base no documento ISO 6888-1:1999 e a contagem de coliformes totais e termotolerantes foi realizada de acordo com a Instrução Normativa SDA nº 62 de 26/08/2003 (BRASIL, 2003). Os resultados obtidos foram comparados com os padrões estabelecidos no Decreto nº 42.645 de 05/06/2002 (MINAS GERAIS, 2002).

Resultados e Discussão

Não foi isolada *Salmonella* spp. em nenhum dos materiais analisados. *L. monocytogenes* foi isolada no queijo do produtor D, imediatamente após a fabricação e após 14 dias de maturação. Entretanto, não foi isolada no leite cru, no soro-fermento, na salmoura, nem nos queijos com sete, 21 e 28 dias de maturação, o que sugere que a bactéria estivesse em pequeno número no alimento. Em decorrência desse isolamento, foi feita a pesquisa de *L. monocytogenes* em outra partida de queijo desse produtor, com zero, sete, 14, 21 e 28 dias de maturação, mas não ocorreu mais detecção do patógeno.

A contagem de SCP e de coliformes nos queijos variou entre os produtores. Foram isolados SCP acima do limite máximo permitido pela legislação (10^2 UFC/g) nos queijos dos produtores A e B (tempo 0, ou seja, queijo recém-fabricado, e 7 dias de maturação), produtor C (tempo 0), produtor D (todos os tempos de maturação), produtores E e F (tempos 0,7 e 14 dias de maturação).

Foi observado que a partir de 14 ou 21 dias de maturação o número de SCP isolados do queijo de cinco das seis propriedades analisadas declinou e a partir desse momento somente *Staphylococcus* coagulase negativa (SCN) foram isolados desses queijos. Essa observação está de acordo com o estudo de Martins et al. (2015), que sugeriram um período mínimo de 17 dias de maturação para o queijo Minas artesanal da região do Serro, em temperatura ambiente, para reduzir coliformes termotolerantes e *Staphylococcus aureus* a limites seguros estabelecidos pela legislação brasileira. Por outro lado, Cardoso et al. (2013) reportaram a redução do número de SCP somente no final do período de 60 dias de maturação do queijo Minas artesanal do Serro.

Staphylococcus coagulase negativa, que não são considerados patogênicos pela legislação, foram isolados dos queijos de todos os produtores. Embora não sejam considerados patogênicos, podem produzir enterotoxinas e causar intoxicação alimentar (Beloti, 2006).

Coliformes termotolerantes, que são indicadores de contaminação fecal, foram isolados acima do limite máximo permitido pela legislação (10^3 UFC/g) nos queijos do produtor A (em todos os tempos de maturação) e do produtor D (tempos 0 e 7 dias de maturação).

Foram isolados SCP, SCN e coliformes totais e termotolerantes do leite cru e da salmoura utilizados na fabricação dos queijos. Em relação ao leite cru, o leite de

cinco dos seis produtores apresentaram contagens de SCP superiores a 10^2 UFC/mL(MINAS GERAIS, 2002); contagens de coliformes termotolerantes acima deste limite também foram observadas no leite cru de quatro dos seis produtores.

Não foram isolados patógenos, nem bactérias indicadoras no soro-fermento utilizado na fabricação dos queijos, somente no soro-fermento de dois produtores foi isolado SCN em pequena quantidade. Provavelmente as bactérias lácticas presentes no soro-fermento estão inibindo o crescimento de outros grupos bacterianos.

Os resultados obtidos neste estudo foram comparados com os padrões estabelecidos no Decreto nº 42.645 de 05/06/2002 (MINAS GERAIS, 2002), que dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal, embora o queijo produzido no município de Alagoa não se enquadre em todas as características de queijo artesanal descritas nesse decreto, carecendo de uma regulamentação própria.

Conclusões

Foram isolados *Staphylococcus* coagulase positiva, *Staphylococcus* coagulase negativa e coliformes no leite cru, na salmoura e nos queijos, em quantidades altas em algumas propriedades, indicando a necessidade de implementação de boas práticas na obtenção de leite, incluindo programas de controle de mastite, e de boas práticas na fabricação de queijos nas propriedades analisadas. O número de *Staphylococcus* coagulase positiva apresentou uma tendência de diminuição com o decorrer da maturação do queijo. Houve pouco crescimento bacteriano no soro-fermento utilizado na fabricação dos queijos, indicando que as bactérias lácticas presentes no mesmo estão inibindo o crescimento de outros grupos de microrganismos.

Agradecimentos

À Embrapa, pelo apoio financeiro (06.13.14.001.00.00). Ao CNPq e à Fapemig, pelas bolsas de Iniciação Científica de T.C.A. Oliveira e F.C.B. Costa, respectivamente.

Referências

- BELOTI, V. Microrganismos de Importância no Leite. In: BELOTI, V. (Org.) **Leite: Obtenção, Inspeção e Qualidade**. Londrina: Editora Planta, 2005. p. 109-221.
- CARDOSO, V.M.; DIAS, R.S.; SOARES, B.M.; CLEMENTINO, L.A.; ARAÚJO, C.P.; ROSA, C.A. The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 743-749, 2013.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.ISO 6785:2001 (IDF 93:2001):Milk and milk products – Detection of *Salmonella* spp. International Organization for Standardization, 2001.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.ISO 6888-1:1999: Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. International Organization for Standardization, 1999.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION.ISO 11290-1:1996/Amd.1:2004: Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* — Part 1: Detection method AMENDMENT 1: Modification of the isolation media and the haemolysis test, and inclusion of precision data. International Organization for Standardization, 2004.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Dispõe sobre métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. Disponível em: <<http://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=75773>>. Acesso em 24 Abr. 2017.
- MARTINS, J.M.; GALINARI, E.; PIMENTEL-FILHO, N.J.; RIBEIRO JR., J.I.; FURTADO, M.M.; FERREIRA, C.L.L.F. Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 219-230, 2015.
- MINAS GERAIS. Decreto nº 42.645, de 5 de junho de 2002. Aprova o regulamento da Lei nº 14.185, de 31 janeiro de 2002. Dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. Minas Gerais Diário do Executivo, 6 Jun. 2002, p. 18. Disponível em: <http://www.almg.gov.br/consulte/legislacao/completa/completa.html?tipo=DEC&numero=42645&comp=&ano=2002&aba=js_textoOriginal>. Acesso em 24 Abr. 2017.
- SIQUEIRA, R. L. de. Queijo parmesão de Alagoa: tradição e associativismo como alicerces da economia. In: PARTICIPAÇÃO social, associativismo e desenvolvimento local. Aiuruoca: Fundação Matutu, 2011. p. 38-39. (Cadernos da Serra do Papagaio, 3).