

Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto – SP

Autores: Guilherme Muniz Delomo¹, Luciano Menezes Ferreira²

Colaboradores: Laila Larissa de Mello³, Fernanda Thomazim Donegá⁴

^{1,2,3 e 4}Centro Universitário Barão de Mauá

¹ guidelomo@gmail.com - Medicina veterinária, ² luciano.ferreira@baraodemaua.br

Resumo

Para garantir a qualidade dos queijos artesanais, foi criado o Selo ARTE. Diante disso, o objetivo deste estudo foi pesquisar *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos artesanais com Selo arte comercializados em Ribeirão Preto – SP. Foram analisadas 16 amostras de queijos durante os meses de julho e agosto de 2021, no mercado local, e realizadas as análises microbiológicas. Foi verificado que 100% (16) das amostras de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto – SP, no referido período, apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva $<10^3$ UFC/g nas amostras de queijo, ou seja, estão de acordo com o estabelecido pela legislação e podem ser consumidos pela população. Com isso, acredita-se que os produtores das marcas dos queijos analisados adotaram as medidas de boas práticas de fabricação estabelecidas pela legislação.

Introdução

Com o aumento do consumo de leite e derivados, é cada vez mais importante conhecer a procedência desses produtos, assim como garantir a qualidade desde a produção da matéria prima até a mesa do consumidor (EMBRAPA, 2020). Atualmente, o Brasil ocupa uma posição de destaque no ranking de produção de leite, chegando perto de países como os Estados Unidos. Tal importância faz com que os produtos brasileiros sejam reconhecidos não apenas no território nacional, mas também internacionalmente (SEAPA, 2021).

O queijo vem ganhando destaque com o passar dos anos, e atualmente existe vários tipos e formas de preparos realizados de maneira tradicional, ou seja, artesanal, como por exemplo os queijos da Serra da Canastra. Há, também, outros produzidos de forma mais moderna com o auxílio de maquinários, como o *petit suisse* (FREITAS, 2015).

Quanto à importância econômica, é relativamente significativa nos dias atuais devido à procura dos consumidores por alimentos de qualidade e procedência confiáveis. Sendo assim, elevando o

valor de mercado de queijos, contribuindo para o crescimento de grandes queijarias e pequenos produtores (ROLDAN *et al.*, 2021).

Já os queijos artesanais estão ganhando cada vez mais a atenção dos consumidores e ficando mais populares com o passar do tempo. Esses produtos possuem em seu processo de produção, mão de obra humana prevalente quando comparadas ao uso de maquinário, tendo sua comercialização de forma regional (CASTILHO *et al.*, 2019).

De acordo com o Decreto nº 9.013 publicado no Diário Oficial da União em 29 de março de 2017, que dispõe sobre o Regulamento Industrial de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), define queijo como o produto lácteo fresco ou maturado que se obtém por meio da separação parcial do soro em relação ao leite ou ao leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação do coalho, de enzimas específicas, produzidas por microrganismos específicos, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem adição de substâncias alimentícias, de especiarias, de condimentos ou de aditivos.

O queijo artesanal pode ser definido, segundo a Lei nº 13.860 sancionada pelo Presidente da República no dia 18 de julho de 2019, como aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural, conforme protocolo de elaboração específico estabelecido para cada tipo e variedade, e com o emprego de boas práticas agropecuárias e de fabricação (BRASIL, 2019).

Para garantir a qualidade dos queijos artesanais, foi criado o Selo ARTE. No entanto, para o produtor adquirir esse selo, o mesmo deve preencher os requerimentos adotados pelo município onde se localiza a produção. Uma das diferenças do queijo artesanal para o queijo artesanal com Selo ARTE, é a sua comercialização. A partir do momento que o produto recebe o selo está liberada a comercialização em todo o território nacional, e não mais somente em sua região de produção. Com isso, o produtor tem a possibilidade de

aumentar o reconhecimento nacional e, possivelmente, a oportunidade de exportação do produto (EMBRAPA, 2020).

Para serem comercializados, os queijos passam por uma rigorosa avaliação microbiológica a fim de encontrar patógenos que possam oferecer riscos à Saúde Pública, tendo como vista a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva, por exemplo, que é o principal agente causador intoxicações alimentares no Brasil (JORGE; BARBOSA; BUCCIOLI, 2018). Inclusive, atualmente, os parâmetros de avaliação para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos é de até 10^3 UFC/g (Unidade Formadora de Colônias), desse alimento, ou seja, se estiver dentro desse valor o queijo está dentro do permitido para o consumo humano, segundo a Instrução normativa nº 60, de 26 de dezembro de 2019. A principal maneira de se evitar a presença deste microrganismo e de outros, como *Salmonella* spp. e *Escherichia coli*, é a adoção de boas práticas de higiene e produção garantindo assim uma boa avaliação do produto.

Objetivo

O objetivo deste estudo foi pesquisar *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto – SP.

Material e Métodos

Nos meses de julho e agosto de 2021 foram analisadas 16 amostras de queijos artesanais com Selo ARTE comercializadas em Ribeirão Preto – SP. Para isso, os queijos foram comprados no mercado local, identificados e acondicionados em caixas isotérmicas com gelo reciclável, dentro da própria embalagem fornecida pelo estabelecimento e, só então, encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Barão de Mauá, onde foram realizadas as análises microbiológicas.

Para a preparação das amostras e diluições seriadas foram seguidas as recomendações do Manual de Métodos e Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2020).

No laboratório, as embalagens foram higienizadas, antes da abertura, com algodão embebido em álcool 70%. Em seguida, próximo ao bico de Bunsen, foram retirados 25 g de queijo com o auxílio de pinças e bisturis previamente esterilizados, transferidos para Erlenmeyers contendo 225 mL de solução salina peptonada a 0,1%, correspondendo a diluição 10^{-1} . A diluição 10^{-2} foi conseguida pela transferência de 1 mL da diluição 10^{-1} para tubo de ensaio contendo 9 mL do diluente. As diluições subsequentes foram obtidas da mesma forma, até se chegar à diluição 10^{-3} .

Para quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos, foi seguido o protocolo da

American Public Health Association (APHA) 39.63:2015. Para isso, 0,1 mL das diluições 10^{-1} a 10^{-3} , de cada amostra, foi inoculada na superfície seca de placas de ágar Baird-Parker, em duplicata, com o auxílio da alça de Drigalski, espalhando em seguida o inóculo por toda a superfície do meio até sua completa absorção. As placas foram incubadas invertidas em estufa a 35-37 °C por 48 horas.

Para a contagem foram selecionadas as placas que apresentaram entre 25 a 250 colônias típicas e atípicas, e o resultado dado em UFC/g. Selecionou-se prioritariamente cinco colônias típicas e, na ausência parcial ou total de colônias típicas, foram selecionadas as colônias atípicas, quando houveram, totalizando cinco colônias para o teste de coagulase. Transferiu-se cada colônia para tubos com 5 mL de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e incubadas a 35-37 °C por 24 horas.

Transferiu-se 0,1 mL de cada cultura obtida no BHI para um tubo estéril de 10 x 100 mm. Adicionou-se, ao 0,1 mL de cultura, 0,3 mL de Coagulase Plasma-EDTA (plasma de coelho com EDTA). Com movimentos de rotação, misturou-se sem agitar os tubos, para não interferir na coagulação. Os tubos foram incubados a 35-37 °C e observados após 4 a 6 horas a formação de coágulo. No caso de teste negativo, completou-se a incubação por 24 horas e examinados os tubos novamente. Para ser considerado como coagulase positiva, a amostra deveria apresentar a formação de coágulo ocupando mais da metade do volume original de líquido.

Resultados e Discussão

Para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva foi utilizada, como parâmetro, a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019, vigente atualmente, que estabelece o valor máximo permitido desse microrganismo nos derivados do leite e, mais especificamente em queijos, de até 10^3 UFC/g.

Nesta pesquisa, 100% (16) das amostras de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto – SP, no período de 19 de julho de 2021 a 13 de agosto de 2021, apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva $<10^3$ UFC/g nas amostras de queijo, ou seja, estão de acordo com o estabelecido pela legislação e podem ser consumidos pela população.

Até o presente momento, após revisão de literatura realizada durante todo o ano de 2021, não foi encontrada nenhuma publicação científica sobre queijos artesanais com Selo ARTE, o que ressalta a importância deste trabalho. Então, para realizar a comparação de dados, foram utilizados trabalhos realizados com outros tipos de queijos.

Em trabalho onde o objetivo foi buscar, encontrar e quantificar microrganismos patogênicos em queijo Minas artesanal, porém sem o Selo ARTE, Lopes et al. (2020) também pesquisaram *Staphylococcus* coagulase positiva. Foram avaliadas nove amostras comercializadas no município de Belo Horizonte, as quais todas apresentaram valores superiores aos estabelecidos pela legislação, que variaram de $7,0 \times 10^3$ UFC/g a $4,6 \times 10^6$ UCF/g. A presença deste microrganismo em valores altos, como por exemplo 10^5 UFC/g, pode acarretar na produção de toxinas prejudiciais ao consumidor.

Já Souza et al. (2017) realizaram a análise microbiológica de queijos Minas frescal, na região da Zona da Mata Mineira. O objetivo foi buscar, encontrar e quantificar o número de microrganismos presentes nas amostras. Dentre os microrganismos pesquisados, análises também foram feitas para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, mais especificamente o *Staphylococcus aureus*, adotando também o valor máximo de 10^3 UFC/g. Com isso, foi observado que todas as amostras apresentaram resultados superiores aos estabelecidos pela legislação, com valor máximo de 10^5 UFC/g.

Embora no presente trabalho nenhuma amostra tenha ultrapassado os limites máximos de *Staphylococcus* coagulase positiva estabelecidos atualmente pela legislação para queijos, é importante ressaltar os riscos que as toxinas estafilocócicas oferecem para os humanos. Segundo Júnior et al. (2019), essas toxinas possuem ação muito agressiva, sem a presença de sintomatologias características, e uma pessoa infectada pode apresentar vômito, náuseas, cólicas e prostração e, se não for tratada com uma certa urgência, o quadro clínico pode se agravar e vir apresentar quadros com cefaleia, câibras musculares e problemas cardiovasculares.

As bactérias que compõem o gênero *Staphylococcus* são cocos gram-positivos, não esporulados, imóveis e anaeróbicas facultativas. Possuem um metabolismo fermentativo apresentando produção de ácido, sendo importante destacar que não são produtoras de gás. Podem apresentar crescimento em conteúdos contendo NaCl 10% e a temperatura ideal de crescimento é entre 30 e 37 °C. E, ainda, podem apresentar coagulação do plasma de coelho, que permite a diferenciação em *Staphylococcus* coagulase positiva ou coagulase negativa (VINHA et al., 2018).

O gênero *Staphylococcus* está presente, por exemplo, na pele e nas mucosas de seres humanos e animais. É preciso levar em consideração, então, os riscos de uma possível intoxicação ao não se adotarem medidas higiênico-sanitárias na produção dos alimentos, assim como adotar os cuidados adequados no

armazenamento dos alimentos. Para isso, o Ministério da Saúde, ao reconhecer um grande aumento nos casos de intoxicações alimentares causadas por *Staphylococcus* coagulase positiva, criou normas higiênico-sanitárias para os produtores de leite e derivados a fim de evitar, ou ao menos controlar os surtos de intoxicações alimentares (SANTANA et al., 2010).

Ainda de acordo com os mesmos autores, os principais responsáveis pela presença desses microrganismos nos alimentos são os manipuladores de alimentos que não adotaram as devidas medidas de boas práticas de fabricação, ou não foram devidamente informados sobre a importância de higiene pessoal antes de manipularem os alimentos. Diante disso, é preciso orientar sobre a necessidade de boas práticas de fabricação para que sejam adotadas pelos produtores, que geralmente são os manipuladores dos queijos artesanais, garantindo assim um produto de qualidade livre de microrganismo patogênicos.

Por fim, uma possível causa de os resultados das amostras desta pesquisa terem sido abaixo de 10 UFC/g, ou seja, inferiores ao máximo estabelecido pela legislação, é que provavelmente os produtores das marcas dos queijos analisados adotaram e respeitaram as boas práticas de fabricação, resultando em produtos de boa qualidade quanto à pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva.

Conclusão

Todas as amostras de queijo artesanal com Selo arte analisadas neste estudo apresentaram-se adequadas para o consumo humano quanto à presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, ou seja, não ofereceram riscos à saúde do consumidor. Com isso, acredita-se que os produtores das marcas dos queijos analisados adotaram as medidas de boas práticas de fabricação estabelecidas pela legislação. No entanto, sugere-se que novas pesquisas sejam realizadas para verificar se os queijos artesanais com Selo ARTE comercializados atendem aos parâmetros de qualidade das legislações vigentes, para que não ofereçam riscos à saúde do consumidor e, ainda, sirvam de parâmetros de qualidade específicos para esses produtos.

Referências

BRASIL. Congresso. Senado. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Instrução Normativa N° 60, de 23 de dezembro de 2019**. Brasília, BRASILIA: Ministério da Saúde, 26 dez. 2019. Seção 9, p. 1-42. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao->

[normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356](#). Acesso em: 01 nov. 2021.

BRASIL. Congresso. Senado. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Considera-se queijo artesanal aquele elaborado por métodos tradicionais, com vinculação e valorização territorial, regional ou cultural, conforme protocolo de elaboração específico estabelecido para cada tipo e variedade, e com emprego de boas práticas agropecuárias e de fabricação. **Presidência da República Secretaria Geral Subchefia Para Assuntos Jurídicos**. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2019-2022/2019/lei/L13860.htm. Acesso em: 01 nov. 2021.

CASTILHO, Ana Carolina Britto *et al.* Queijos artesanais do Paraná: caracterização de sua composição centesimal. **Brazilian Journal Of Development**, [S.L.], v. 5, n. 10, p. 21543-21567, 2019. Brazilian Journal of Development. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv5n10-306>. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/issue/view/68>

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS. CIRCULAR TÉCNICA, 90**: Boas práticas agropecuárias e na produção artesanal de queijos para acessibilidade ao selo Arte por agricultores familiares. 1 ed. Aracaju, 2020. 15 p. Disponível em: www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1129427. Acesso em: 10 set. 2021.

FREITAS, Monica Paul. Avaliação microbiológica de queijos artesanais produzidos na cidade de Taió, Santa Catarina. **Saúde e Meio Ambiente**: revista interdisciplinar, Mafra Sc, v. 4, n. 2, p. 103-114, 15 dez. 2015. Universidade do Contestado - UnC. <http://dx.doi.org/10.24302/sma.v4i2.869>. Disponível em: <http://www.periodicos.unc.br/index.php/sma/article/view/869>. Acesso em: 10 set. 2021.

JORGE, Brenda; BARBOSA, Raquel Vieira; BUCCIOLI, Paulo. INCIDÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO DOS ALIMENTOS POR MANIPULADORES DE UNIDADES DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO E COMÉRCIOS ALIMENTÍCIOS AMBULANTES. **Revista Fafibe On-Line**, Bebedouro, v. 1, n. 11, p. 64-77, jun. 2018. Disponível em: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:pa2uNdJhZkMJ:https://www.unifafibe.com.br/revista/index.php/fafibeonline/article/download/560/293+&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 05 out. 2021

LOPES, Vanessa Cristina *et al.* QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJOS TIPO MINAS COMERCIALIZADOS EM BELO HORIZONTE, MG, BRASIL. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, Belo Horizonte, v. 32, n. 4, p. 344-352, 8 dez. 2020. Conselho Federal de Farmácia. <http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v32.e4.a2020.pp344-352>. Disponível em: [10.14450/2318-9312.v32.e4.a2020.pp344-352](http://dx.doi.org/10.14450/2318-9312.v32.e4.a2020.pp344-352). Acesso em: 08 nov. 2021.

ROLDAN, Bruna Bresolin *et al.* Perfil socioeconômico dos produtores de queijo colonial gaúcho e a importância da produção artesanal. **Revista Teoria e Evidência Econômica**, Passo Fundo, v. 26, n. 55, p. 297-310, 6 ago. 2021. UPF Editora. <http://dx.doi.org/10.5335/rtee.v26i55.12446>. Disponível em: <http://seer.upf.br/index.php/rtee/issue/view/752/Rtee%2055>. Acesso em: 10 set. 2021.

SANTANA, E.H.W. de *et al.* ESTAFILOCOCOS EM ALIMENTOS. **Arquivos do Instituto Biológico**, Paraná, v. 77, n. 3, p. 545-554, set. 2010. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657v77p5452010>. Disponível em: [fi http://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod_resource/content/1/Stapgylo.pdf](http://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/292603/mod_resource/content/1/Stapgylo.pdf) Acesso em: 08 nov. 2021.

SEAPA. **Perfil Mundial**. Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Agricultura Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais, 2021. 88 slides, color. Disponível em: http://www.agricultura.mg.gov.br/index.php?option=com_gmg&controller=document&id=27-perfil-mundial&external=true. Acesso em: 10 set. 2021.

SILVA, Josyane Brasil *et al.* Detecção de Staphylococcus coagulase positivo em peixes salgados e secos. **Brazilian Journal Of Development**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 6681-6692, 2020. Brazilian Journal of Development. <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv6n2-099>. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/viewFile/6791/6037>. Acesso em: 06 out. 2021.

SOUZA, Iury Antônio de *et al.* QUALIDADE MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MINAS FRESCAL COMERCIALIZADO NA ZONA DA MATA MINEIRA. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.L.], v. 72, n. 3, p. 152-162, 28 ago. 2017. Lepidus Tecnologia. <http://dx.doi.org/10.14295/2238-6416.v72i3.598>. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/ilct/article/viewFile/598/445>. Acesso em: 08 nov. 2021.

VINHA, Mariana Barboza *et al.* Estafilococos coagulase positiva em queijos Minas Frescal produzidos em agroindústrias familiares. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, [S.L.], v. 73, n. 2, p. 62-72, 13 nov. 2018. *Lepidus Tecnologia*. <http://dx.doi.org/10.14295/2238-6416.v73i2.656>. Disponível em: <https://www.revistadoilct.com.br/ilct/article/view/681/0> Acesso em: 18 set. 2021.