

Análise de coliformes totais, termotolerantes e de *Salmonella* spp. em queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto – SP

Autores: Fernanda Thomazim Donegá¹, Luciano Menezes Ferreira²

Colaboradores: Laila Larissa de Mello³, Guilherme Muniz Delomo⁴

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

¹*ftthomazim@gmail.com medicina veterinária*, ²*luciano.ferreira@baraodemaua.br*

Resumo

O queijo artesanal é visto como uma importante fonte de renda e é comercializado em todo o país. É um produto feito à mão com leite cru, sendo assim, um veículo para microrganismos de origem alimentar. No entanto, apenas em junho de 2018, foi publicada, a Lei 13.680 que criou o Selo Arte destinado aos produtos de origem animal produzidos de forma artesanal para serem comercializados a nível nacional.

Introdução

A cadeia produtiva do leite é uma das principais atividades econômicas do Brasil que se destacam com forte efeito na geração de emprego e renda. Em 2019, o valor bruto da produção primária de leite atingiu quase R\$ 35 bilhões, o sétimo maior dentre os produtos agropecuários nacionais (BRASIL, 2019a). O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de leite, pois somente fica atrás dos Estados Unidos e da Índia, segundo dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, 2019). O queijo, em virtude de ser um meio de conservação do leite, alimento mundialmente conhecido pelo seu elevado valor nutricional, em condições inadequadas de obtenção e armazenamento que não respeitam suas qualidades e propriedades naturais, é capaz de veicular inúmeros microrganismos (FERREIRA *et al.*, 2011).

Com a finalidade de evitar contaminações, durante o processo de fabricação do queijo, deve-se atentar para a obtenção do leite de forma higiênica, a pasteurização, adoção de Boas Práticas de Fabricação (BPF) e refrigeração adequada até o consumidor final (SERIDAN *et al.*, 2009).

Da necessidade ao gosto de seus consumidores, o queijo adquiriu em todo o seu processo histórico, uma vasta gama tipológica, grande parte de caráter artesanal, mantido pela tradição que se busca preservar, exatamente, como identidade regional e, também, atendimento ao gosto alimentar. Atualmente, as pessoas têm

buscado produtos artesanais e valorizado alimentos com características tradicionais, culturais ou regionais. Para esse mercado há necessidade de garantia de qualidade, com segurança de que a produção é artesanal e ao mesmo tempo, respeita as boas práticas de fabricação agropecuárias e sanitárias (MENESES, 2006).

Em busca de valorizar e regularizar o queijo artesanal, foi aprovada em 14 de junho de 2018 a Lei Nº 13.680 do Selo Arte, que modificou uma legislação de 1950, que tratava da inspeção industrial e sanitária dos produtos de origem animal. Com a mudança, fica permitida a comercialização interestadual de produtos alimentícios produzidos de forma artesanal, com características e métodos tradicionais ou regionais próprios, seguindo as boas práticas agropecuárias e de fabricação e, submetidos à fiscalização de órgãos de saúde pública dos estados e do Distrito Federal (CNA, 2019).

Em 2019, foi publicado o Decreto Nº 9.918, de 18 de julho de 2019, regulamentador do Selo Arte, visando contribuir com aumento da qualidade dos queijos artesanais. O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA propôs a Lei Nº 13.860, de 18/07/2019, que dispõe sobre a elaboração e a comercialização desses produtos e dá outras providências (BRASIL, 2019b).

Posteriormente, foi publicada a Instrução Normativa Nº 28, de 23/07/2019, que instituiu o Manual de Construção e Aplicação do Selo Arte. Ainda no mesmo ano, foram estabelecidos os documentos norteadores, Instrução Normativa Nº 67, de 10/12/2019, que estabelece os requisitos para que os Estados e o Distrito Federal realizem a concessão de Selo Arte e a Instrução Normativa Nº 73, de 23/12/2019, que estabelece o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias destinadas aos produtores rurais fornecedores de leite para a fabricação de produtos lácteos artesanais (BRASIL, 2019c).

Visto que o queijo artesanal e o mel, até o momento, são os únicos produtos de origem animal com legislação publicada no Diário Oficial da União, por meio da Lei 13.860 de 18 de julho

de 2019, onde dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e, ainda, dá outras providências (BRASIL, 2019b), há a necessidade da pesquisa da qualidade microbiológica desses produtos disponíveis no mercado para os consumidores.

Na produção do queijo artesanal é necessário cuidados sanitários em todos os processos desde a seleção da matéria-prima proveniente de animais sanitariamente controlados passando pelo controle de processos de produção até distribuição para consumo. A falta de controle nessas etapas associada às características próprias do produto conferem grande suscetibilidade à contaminação principalmente perigos microbiológicos e físicos, aumentando o risco da ocorrência de Doenças Transmitidas por Alimentos - DTA (OPAS, 2009). A avaliação da qualidade microbiológica de alimentos é imprescindível para descobrir se o produto foi produzido seguindo os padrões de higiene necessários, em razão da contaminação microbiológica oferecer riscos à saúde do consumidor, causando diversas patologias. Essa contaminação pode acontecer durante as diversas fases do processo de produção, além do processo de obtenção da matéria prima ou até na fase de utilização pelo consumidor (LIMA *et al.*, 2015).

O grupo de coliformes possui uma ampla variedade de termos e gêneros. Na Resolução nº 518/2004, a Agência de Vigilância Sanitária subdividiu o grupo em coliformes totais e coliformes termotolerantes. Os termotolerantes distinguem-se dos totais devido à capacidade de fermentar a lactose a $44,5 \pm 0,2$ °C em 24 horas, tendo como principal representante à *Escherichia coli*, considerada o indicador mais preciso de contaminação fecal de origem exclusivamente fecal (RECHE; PITTOL; FIUZA, 2010; BRASIL, 2004).

A presença de coliformes nos queijos está diretamente relacionada com a qualidade do leite, e a presença de microrganismos provocam alterações no leite, dentre elas, degradação das gorduras. Além disso, torna o alimento impróprio para o consumo, podendo veicular doenças, e sendo possível a contaminação em qualquer etapa do processo de fabricação do queijo artesanal (OLIVER *et al.*, 2008). O grupo dos coliformes totais é um subgrupo da família Enterobacteriaceae, bacilos Gram Negativos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, que não produzem esporos. Na segunda edição do *Bergey's Manuals of Systematic Bacteriology* (BRENNER; FARMER III, 2005), foram incluídos 44 gêneros e 176 espécies. Neste grupo, estão apenas as enterobactérias capazes de fermentar a lactose com produção de gás e/ou ácido em um período de 24-48 horas a 35°C em meios de

cultivo contendo lactose. Mais de 20 espécies encaixam-se nesta definição, dentre as quais encontram-se tanto bactérias originárias do trato gastrointestinal de humanos e outros animais de sangue-quente (*Escherichia coli*), como também bactérias não entéricas (espécies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella* e *Serratia*, dentre outras). Estas características são utilizadas nos métodos tradicionais de contagem de coliformes totais (APHA, 2015).

Os coliformes termotolerantes são classificados como um subgrupo dos coliformes totais que fornece informações concretas sobre a contaminação e condições higiênicas do produto e melhor indicação da eventual presença de enterobactérias originárias do trato intestinal, como por exemplo *E. coli* (SILVA, 2007). Antigamente, essa definição abrangia somente as enterobactérias de origem fecal (*E. coli*), porém atualmente se sabe que esse grupo inclui membros de origem não fecal como cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii* (SILVA *et al.*, 2017).

Consequentemente a presença de coliformes termotolerantes não quer dizer necessariamente que exista contaminação fecal. Contudo, a presença de coliformes totais e/ou termotolerantes em alimentos, pode indicar falhas na higiene dos processos de fabricação e contaminação pós-processo em alimentos pasteurizados (SILVA *et al.*, 2017).

Salmonella é um gênero de bactérias gram negativas, em forma de bastonete, que pertence à família Enterobacteriaceae. São capazes de formar ácido e, na maioria das vezes, gás a partir da glicose. Por serem microrganismos aeróbios facultativos, tendem a crescer com ou sem a presença de oxigênio e podem sobreviver em temperaturas entre 5 e 47 °C, sendo completamente eliminadas em temperaturas de cocção, acima de 70°C (PUI *et al.*, 2011; POPOFF; LE MINOR, 2015).

Por muito anos, a nomenclatura de *Salmonella* foi tema de discussão. Em 2005, a comunidade internacional oficializou esta nomenclatura, com a divisão do gênero em duas espécies diferentes: *S. bongori* e *S. enterica*. No mesmo ano, foi proposta uma nova espécie, *S. subterranea*, mas estudos filogenéticos posteriores reclassificaram essa espécie como *Atlantibacter subterranea* (HATA *et al.*, 2016). *S. bongori* não possui subespécies, apenas 257 sorotipos, enquanto que a espécie *S. enterica* possui seis subespécies diferentes: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizona*, *houtenae* e *indica* (TINDALL *et al.*, 2005; LAMAS *et al.*, 2018).

A principal via de transmissão das salmonelas ocorre através da cadeia alimentar, pois a bactéria está presente em animais criados para

fins comerciais. As infecções ocasionadas por *Salmonella* spp. ocorrem por meio do consumo de água ou alimentos contaminados, especialmente produtos de origem animal, como ovos, leite, carne ou ainda, vegetais que tenham sido irrigados com água contaminada ou fertilizados com estrume contendo o patógeno. Além disso, a falta de higiene na manipulação dos alimentos também pode carrear a bactéria (BRASIL, 2011; WHO, 2021).

Comumente em produtos lácteos, a *Salmonella* spp. podem ser transmitida por meio de consumo em especial do leite cru ou insuficiência na pasteurização de queijos fabricados com leite contaminado (AHMED; SHIMAMOTO 2014; CANCINO-PADILLA *et al.*, 2017). A contaminação do leite cru é derivado de várias fontes como a pele ou fezes do animal produtor, insetos, úberes infectados ou até mesmo de equipamentos utilizados na ordenha (OMAR *et al.*, 2018). De acordo com a Instrução Normativa nº 60, de dezembro de 2019 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2019d), os padrões microbiológicos para produtos lácteos preconizam a ausência de qualquer sorotipo de *Salmonella* spp. em 25 g do alimento. Ainda assim, não é incomum se verificar a presença dessa bactéria em produtos lácteos comercializados e consumidos no Brasil.

Objetivos

Avaliar a qualidade microbiológica de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados no município de Ribeirão Preto – SP. Por meio de pesquisa de coliformes totais, termotolerantes, e de *Salmonella* spp.

Materiais e Métodos

Foram utilizadas para análise, 16 amostras de queijos artesanais com Selo Arte comercializados em apenas um estabelecimento comercial na cidade de Ribeirão Preto - SP, produzidos no estado de Minas Gerais e Santa Catarina. As amostras foram identificadas (hora/dia/local), acondicionadas em caixas isotérmicas encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Barão de Mauá. 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.*, 2021).

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} .

Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e de termotolerantes.

As amostras foram analisadas quanto NMP de coliformes totais e coliformes termotolerantes, seguidas as recomendações do Manual de Métodos e Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2021) e do protocolo da American Public Health Association (APHA, 2015).

Uma alíquota de 25 g de queijo foi adicionada à 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 NMP 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°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°C (totais) e coliformes a 45°C (termotolerantes).

Para os coliformes a 35°C (totais) foram utilizados tubos contendo 10 mL de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (CVBB), com tubos de Durham invertido, incubados a 37°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 *E. 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.

Por fim, para a quantificação da análise foram tomados os tubos positivos de caldo CVBB e caldo EC, verificado a presença de turvação do meio de cultura e a produção de gás, utilizando-se a tabela de Número Mais Provável para a contagem dos coliformes a 35°C e 45°C por grama de queijo analisado.

Pesquisa de *Salmonella* spp.

As amostras foram analisadas quanto há presença ou ausência de *Salmonella* spp, seguidas as recomendações do Manual de Métodos e Análise Microbiológica de Alimentos e Água (SILVA *et al.*, 2021) e do protocolo da

American Public Health Association (APHA, 2015).

Uma alíquota de 25 g de queijo foi adicionada à 225 mL de água peptonada 0,1% (Laborclin®), e homogeneizada por 60 segundos, obtendo a diluição 10^{-1} . Com isso, levou-se o frasco contendo a diluição para a estufa a 36 ± 1 °C por 24 horas, caracterizando a primeira etapa da metodologia chamada de pré-enriquecimento.

Após 24 horas, iniciou-se a etapa para o enriquecimento seletivo, onde retirou-se as amostras da estufa e homogeneizou o frasco por 60 segundos. Os tubos foram devidamente identificados com os caldos seletivos Rappaport Vassiliadis (RV) e Selenito-Cistina (SC), onde ambos continham 10 mL do meio de cultura respectivo. Em seguida, com o auxílio de uma pipeta graduada, transferiu-se uma alíquota de 0,1 mL do frasco de pré-enriquecimento para o tubo RV e 1 mL para o tubo SC, ambos levados a seguir para estufa a 36 ± 1 °C por 24 horas.

Posteriormente, os tubos RV e SC foram retirados da estufa e homogeneizados, e iniciou-se a etapa de isolamento seletivo. Com auxílio de uma alça transferiu-se uma alíquota do tubo RV e inoculou na superfície da placa contendo Ágar Verde Brilhante Modificado (BPLS) estriando de forma a se obter colônias isoladas, repetindo o mesmo procedimento com o tubo SC. Em seguida transferiu-se mais uma alçada do tubo RV e inoculou na superfície da placa contendo Ágar Xilose, Lisina, Desoxicolato (XLD) estriando de forma a obter colônias isoladas, repetindo o procedimento com o tubo SC, e incubadas as placas a 35 ± 1 °C por 24 horas.

Após 24h, as placas foram retiradas da estufa e verificado se ocorreu o crescimento de colônias suspeitas (colônias com coloração negra e/ou rosas com centro negro, lisas e arredondadas com bordos regulares) de *Salmonella* spp.. Com auxílio de uma agulha foram retiradas de 5 a 7 colônias (selecionadas isoladamente) das placas de BPLS, e semeou em picadas e estrias na rampa em tubo contendo Ágares “Triple Sugar Iron Agar” (TSI), sendo realizado o mesmo procedimento em tubo contendo “Lisine Iron Agar” (LIA). Em seguida, realizou-se o mesmo procedimento com a placa de Ágar XLD, semeando também em tubos contendo TSI e LIA. Após as sementeiras, todos os tubos foram incubados por 24 horas a 35 ± 1 °C.

Por fim, concluídas as 24 horas, foram retirados os tubos da estufa para realização da leitura. De acordo com a literatura utilizada, são considerados positivos para *Salmonella* spp. os tubos com crescimento em TSI que apresentam base amarelada pela produção de ácido, enegrecimento no local da picada pela produção de H_2S (Sulfeto de Hidrogênio) e ápice sem alteração de cor. Em LIA, os tubos com

crescimento de *Salmonella* spp. apresentam com cor do ápice e da base inalteradas pela não produção de ácido e enegrecimento do local da picada pela produção de H_2S (SILVA *et al.*, 2021).

Resultados e Discussão

Neste estudo foram analisadas, em julho e agosto de 2021, 16 amostras de queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em Ribeirão Preto – SP. Com vistas à determinação do NMP/g para coliformes totais e termotolerantes, pode ser observado na Tabela 1 que os valores variam de $< 3,0$ a > 1.100 NMP/g, para ambos os grupos de coliformes.

Tabela 1 - Determinação do Número Mais Provável por grama (NMP/g) para coliformes totais e termotolerantes em amostras de queijos com Selo ARTE comercializados na cidade de Ribeirão Preto – SP, em julho e agosto de 2021

Amostras	Coliformes Totais* NMP/g	Coliformes Termotolerantes* NMP/g
1	< 3,0	< 3,0
2	72	< 3,0
3	> 1.100	> 1.100
4	240	240
5	> 1.100	6
6	> 1.100	> 1.100
7	23	< 3
8	23	< 3
9	9,2	< 3
10	23	< 3
11	9,2	< 3
12	460	< 3
13	< 3,0	< 3
14	460	< 3
15	460	9,4
16	23	< 3

*Os resultados foram analisados pela tabela de Número Mais Provável (APHA:8, 2015).

Fonte: elaborado pela autora (2021).

Com base nos dados obtidos, detectou-se a presença de coliformes totais e termotolerantes em todas as amostras dos queijos analisados, porém os queijos artesanais com Selo ARTE ainda não possuem um padrão técnico específico estabelecido sobre a qualidade e identidade. Para tanto, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento através da Instrução Normativa IN nº 60, de 2019, estabeleceu como padrão microbiológico para queijos de média umidade, no qual se enquadra os queijos artesanais com Selo ARTE, limites máximos apenas para coliformes termotolerantes, que deve ser de até 102 UFC/g. Dessa forma, os resultados deste estudo obtidos pelo NMP/g, foram comparados a outros resultados obtidos em trabalhos publicados na

literatura científica referente a queijos artesanais de média umidade e até mesmo queijo de alta umidade.

Segundo a Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA (BRASIL, 2001), valores são estabelecidos para cada microrganismo, sendo contagem limite máxima de $1,0 \times 10^3$ NMP/g para coliformes totais e $5,0 \times 10^2$ NMP/g para coliformes termotolerantes. De acordo com esses valores, as amostras 3 e 6 (12,5%) estão acima do limite permitido, no qual se verificou a contagem >1.000 NMP/g para ambas as análises e amostra 5 (6,25%) acima do limite permitido para contagem somente dos coliformes totais.

Sá e Bandeira (2020), em análises microbiológicas realizadas em queijos artesanais comercializados em três municípios da Região Tocantina do Maranhão, das dez amostras pesquisadas, em 7 (70%) amostras apresentaram presença de coliformes totais e 3 (30%) amostras apresentaram presença de coliformes termotolerantes, variando de 4 a 240 NMP/g, segundo o padrão microbiológico estabelecido pela RDC Nº 12 da ANVISA.

Mendes *et al.* (2011), encontraram níveis acima do permitido pela legislação para coliformes totais e termotolerantes. Das seis amostras analisadas de Queijo Minas Artesanal comercializado em Rio Parnaíba – MG, todas apresentaram contagem superior a $5,0 \times 10^3$ NMP/g para coliformes totais e quatro apresentaram contagem superior $5,0 \times 10^2$ NMP/g para coliformes termotolerantes.

Ao avaliarem a qualidade de queijos Minas Artesanal comercializado em Montes Claros - MG, Cruz *et al.* (2010) constataram que 30% das amostras analisadas apresentaram contaminação por coliformes a 45°C, sendo que cerca de 12% estavam com contagem superior ao limite máximo estabelecido pela legislação brasileira.

Em pesquisa realizada com 40 amostras de Queijo Minas Artesanal produzidos na região do Serro – MG, Brant, Fonseca e Silva (2007) observaram que 32 amostras (80%) apresentaram contagem de coliformes totais superiores a $5,0 \times 10^3$ NMP/g. Os autores afirmam que, mesmo a contagem de coliformes totais a 35°C não sendo exigida pela legislação vigente para os produtos coletados no comércio, esses microrganismos geralmente são contaminantes ambientais, e a sua contagem elevada indica deficiência na qualidade higiênico-sanitária.

Acredita-se, então, que pode ter ocorrido contaminação das amostras 3, 5 e 6 durante a manipulação, analisadas no presente trabalho. As amostras 3 e 6 foram as que apresentaram valores que ultrapassam a quantidades de NMP/g de coliformes totais (> 1.100 NMP/g) e termotolerantes (> 1.100 NMP/g), ou seja, estão

em desacordo com a legislação. Esses resultados podem indicar uma maior contaminação, devido provavelmente à uma falta de orientações técnicas sobre higiene e Boas Práticas de Fabricação (BPF) na elaboração, no transporte ou até mesmo na conservação no momento da comercialização, uma vez que os queijos coletados estavam comercializados em média de 20 °C.

Com isso, a presença de valores superiores ao permitido pela legislação de coliformes totais é apontada como indicador ambiental, já os termotolerantes podem indicar contaminação de origem fecal, e são utilizados como indicadores em todos os produtos prontos da cadeia láctea (BELOTI *et al.*, 2015).

Com relação à pesquisa de salmonela, a IN nº 60, de 2019, recomenda a ausência de *Salmonella* spp. em alimentos para a venda e consumo (BRASIL, 2019d). No presente estudo, verifica-se que o patógeno não foi detectado nas 16 amostras de queijos analisadas, ou seja, não ofereciam riscos à saúde dos consumidores quanto a presença desse microrganismo.

Em análises microbiológicas realizadas em queijos artesanais comercializados em três municípios da Região Tocantina do Maranhão, das 10 amostras (100%) pesquisadas, 7 amostras (70%) evidenciaram a presença de salmonela (SÁ; BANDEIRA, 2020).

Em estudo realizado para verificar o controle de qualidade microbiológica de queijos artesanais maturados comercializados na Feira do Pequeno Produtor da cidade de Cascavel – PR, das 5 amostras (100%) analisadas, Eckert e Webber (2016) constataram a presença de salmonela em todas as amostras. Já no estudo de Pinto *et al.* (2011), os resultados foram satisfatórios na pesquisa de salmonela realizada em queijos artesanais e queijos inspecionados na cidade de Santa Helena – PR, onde 100% das amostras apresentaram ausência desse microrganismo, assim como ocorreu no presente trabalho.

Em estudo realizado por Prattes (2016), a *Salmonella* spp. foi positiva em 63% das amostras, inviabilizando os queijos para o consumo humano. As altas contagens desses microrganismos caracterizam condições higiênico-sanitárias inadequadas durante o processamento do produto e a necessidade de implantação de sistemas de garantia de segurança e qualidade em todas as etapas de produção.

Lima *et al.* (2019), na análise para determinação da presença ou ausência de *Salmonella* spp., apontaram uma contaminação quase que na totalidade das unidades testadas, sendo que 19 amostras (95%) apresentaram resultado insatisfatório e apenas 1 (5%) estava dentro dos

padrões estabelecidos para o Queijo Minas Frescal.

Resultados diferentes foram encontrados por Silva e Belo (2018) em queijos minas frescal produzidos de forma artesanal, ao observarem a ausência de *Salmonella* spp. em todas as amostras da pesquisa. Já Batistella *et al.* (2019), ao estudarem o mesmo tipo de queijo, observou que as 18 amostras analisadas estavam livres de salmonela. Então, para um mesmo produto, pode ocorrer a variação de qualidade conforme as boas práticas de manipulação. E, nesse caso, por ser uma bactéria entérica responsável por graves infecções alimentares, a presença dessa bactéria nas amostras qualifica os queijos como impróprios para o consumo (FAVA *et al.*, 2012).

A ausência de *Salmonella* spp. nas amostras, além de estar relacionada com ausência de contaminação, pode ser explicada pelo fato de a bactéria não ser uma boa competidora, sofrendo injúrias em meios ácidos ou com a presença de outras bactérias, como as lácticas e coliformes, principalmente se a contaminação inicial for com pequeno número de células. Nessas condições, os microrganismos podem desaparecer ou permanecer em números indetectáveis em alimentos ácidos ou muito contaminados (BRASIL, 2003).

Mesmo não havendo contaminação por *Salmonella* spp., o consumidor deve ser conscientizado que a qualidade do produto se inicia na matéria prima e precisa ser mantido em todas as etapas da cadeia produtiva, ressaltando ainda que as Boas Práticas de Fabricação (BPF) são essenciais no controle sanitário de modo a precaver contaminações (FERNANDEZ; MARICATO, 2010).

Conclusão

Com base nos resultados das análises microbiológicas foi verificado que 18,75% das amostras de queijo artesanal com Selo ARTE analisadas neste estudo foram consideradas inadequadas para consumo em relação à contagem de coliformes. Com vistas à presença de *Salmonella* spp., em todas as amostras foi identificada a ausência. Diante disso, acredita-se que na produção de alguns queijos não foram adotadas as medidas higiênico-sanitárias necessárias, desde a obtenção do leite cru até a fabricação do queijo, assim como também podem não ter sido tomados cuidados no transporte e no armazenamento no estabelecimento comercial, o que reforça a presença de um médico-veterinário em toda a cadeia de produção. Por fim, 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, até

mesmo, sirvam de parâmetros específicos para produção segura de queijos artesanais com o referido Selo.

Referências

AHMED, A. M.; SHIMAMOTO, T. Isolation and molecular characterization of *Salmonella enterica*, *Escherichia coli* O157: h7 and *Shigella* spp. from meat and dairy products in Egypt. **International Journal Of Food Microbiology**, v. 168-169, p. 57-62, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.014>. Acesso em: 02 set. 2021.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Technical Comité on Microbiological Methods for Foods**. Compendium of Methods for Microbiological Examination of the Foods. Washington: APHA, 2015. p. 120-134; p. 291-323.

BATISTELLA, V. M. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de queijos artesanais tipo minas frescal em barra do bugres – MT. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer, Goiânia, v. 6, n. 11. 2019. Disponível em: <http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2019A/avaliacao%20da%20qualidade.pdf>. Acesso em: 10 set. 2021.

BELOTI, V. *et al.* **Leite**: Obtenção, Inspeção e Qualidade. [S.l.]: Planta, 2015. p.181-186.

BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M.; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-Minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1570-1574, 2007. Disponível em: <https://www.scielo.br/abmvz/a/6bDCBtskHXWpFdFf6K5RhVf/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 10 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12 de 02 de janeiro de 2001. Dispõe sobre o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília**, DF, 10 de jan. 2001. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a47b-ab8047458b909541d53fbc4c6735/RDC_12_2001.pdf?MOD=AJPERES. Acesso em: 12 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 60, de 23 de Dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União** nº 249, Brasília, 26 dez., 2019d. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2019/IN_60_2019_COMP.pdf. Acesso em: 10 out. 2021. Acesso em: 12 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, 18 set., 2003. Disponível em: <https://www.defesa.agricultura.sp.gov.br/legislacoes/instrucao-normativa-sda-62-de-26-08-2003,665.html>. Acesso em: 04 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 73, de 23 de dezembro de 2019. Estabelecer, em todo o território nacional, o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias destinadas aos produtores rurais fornecedores de leite para a fabricação de produtos lácteos artesanais, necessárias à concessão do selo ARTE. **Diário Oficial da União**, Brasília, 30 dez. 2019c. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/decreto-n-9918-de-18-de-julho-de-2019-198615217>. Acesso em: 04 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019b. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Brasília. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/lei-n-13.860-de-18-de-julho-de-2019-198615138>. Acesso em: 04 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Valor Bruto da Produção Agropecuária**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Brasília, DF, 2019a. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/vbp-e-estimado-em-r-689-97-bilhoes-para-2020/202003VBPelaspeyresagropecuariapdf.pdf>. Acesso em: 15 nov. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.:** diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*, 2011. Disponível em: <https://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2014/dezembro/15/manual-diagnostico-salmonella-spp-web.pdf>. Acesso em: 21 set. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Resolução nº 518, 25 de março de 2004**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Disponível em:

http://189.28.128.100/dab/docs/legislacao/portaria_518_25_03_04.pdf. Acesso em: 04 jul. 2021
BRENNER, D. J.; FARMER III, J. J. Family I. Enterobacteriaceae. In: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. (Eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2. ed. New York: Springer Science; Business Media In., 2005. p. 587-607. 2 v. Disponível em: <https://independent.academia.edu/MarisolReyes2> 1. Acesso em: 26 set. 2021.

CANCINO-PADILLA, *et al.* Foodborne bacteria in dairy products: detection by molecular techniques. **Ciencia e Investigación Agraria**, v. 44, n. 3, p. 215-229, 2017. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/322217991_Foodborne_bacteria_in_dairy_products_Detection_by_molecular_techniques/fulltext/5a4c3e4ba6fdcc3e99cf7145/Foodborne-bacteria-in-dairy-products-Detection-by-molecular-techniques.pdf?origin=publication_detail. Acesso em: 23 set. 2021.

CONFEDERAÇÃO DE AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL - CNA. **Decreto regulamentador do Selo Arte**. Comunicado técnico, ed. 19, 19 jul. 2019. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/assets/arquivos/artigostecnicos/Comunicado-T%C3%A9cnico-19.ed-19julho.pdf>. Acesso em: 15 abr. 2021.

CRUZ, A. L. M. *et al.* Qualidade microbiológica de Queijos Minas Artesanal comercializado em Montes Claros-MG. **Revista Higiene Alimentar**, v. 24, n. 1, p. 136-139, 2010. Disponível em: <https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/articula/view/2892>. Acesso em: 03 out. 2021.

ECKERT, R. G.; WEBBER, M. Controle de qualidade microbiológico de queijos maturados comercializados na feira do pequeno produtor da cidade de Cascavel-PR. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 252/253, p. 80-85, 2016. Disponível em: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-846582>. Acesso em: 15 nov. 2021.

FAVA, L. W. *et al.* Características de queijos artesanais tipo colonial comercializados em uma feira agropecuária. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 40, n. 4, p. 1084-1090. 2012. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/2890/289023924019.pdf>. Acesso em: 25 set. 2021.

FERNANDEZ, V. G.; MARICATO, E. Análises físico-químicas de amostras de leite cru de um laticínios em Bicas, MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 375, p. 3-10, jul./ago. 2010. Disponível em:

<https://www.revistadoilct.com.br/rilct/article/view/129/134>. Acesso em: 26 set. 2021.

FERREIRA, R. M. *et al.* Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijo Minas Frescal artesanal. **PUBVET**, Londrina, v. 5, n. 5, ed. 152, 2011. Disponível em: <http://www.pubvet.com.br/uploads/2b7f4f8ee2aaa669b591509a80e319e8.pdf>. Acesso em: 10 set. 2021.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS - FAO. **FAO STAT**: Livestock Primary. Roma; Italy, 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Acesso em: 15 nov. 2021.

HATA, H. *et al.* Phylogenetics of family Enterobacteriaceae and proposal to reclassify *Escherichia hermannii* and *Salmonella subterranean* as *Atlantibacter hermannii* and *Atlantibacter subterranean* gen. nov., comb. nov. **Microbiology And Immunology**, v. 60, n. 5, p. 303-311, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/1348-0421.12374>. Acesso em: 23 set. 2021.

LAMAS, A. *et al.* A comprehensive review of non-enterica subspecies of *Salmonella enterica*. **Microbiological Research**, v. 206, p. 60-73, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2017.09.010>. Acesso em: 10 set. 2021.

LIMA, E. do N. S. *et al.* Análise microbiológica de saladas e água servidas em um restaurante universitário do triângulo mineiro, minas gerais, brasil. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer, v. 11, n. 22, p. 3176 –3188, dez. 2015. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1684>. Acesso em: 27 set. 2021.

LIMA, A. A. *et al.* Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal, artesanal, comercializados em feiras livres do Distrito Federal. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 9, p. 13673-13688, set. 2019. Disponível em: <https://brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/3011/2952>. Acesso em: 01 de out. 2021.

MENDES, *et al.* Avaliação Físico-Química, Microbiológica e Microscópica do Queijo Artesanal Comercializado em Rio Paranaíba-MG. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, v. 66, n. 382, p. 21-26, set./out. 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Fabricia-Mendes->

[3/publication/283461524_AVALIACAO_FISICO-QUIMICA_MICROBIOLOGICA_E_MICROSCOPICA_DO_QUEIJO_ARTESANAL_COMERCIALIZADO_EM_RIO_PARANAIBA-MG_Physicochemical_microbiological_e_microscopical_evaluation_of_artisanal_cheese_traded_in_R/links/5638e72808ae51ccb3cca0fa/AVALIACAO-FISICO-QUIMICA-MICROBIOLOGICA-E-MICROSCOPICA-DO-QUEIJO-ARTESANAL-COMERCIALIZADO-EM-RIO-PARANAIBA-MG-Physicochemical-microbiological-e-microscopical-evaluation-of-artisanal-cheese-traded-in.pdf](https://www.researchgate.net/publication/283461524_AVALIACAO_FISICO-QUIMICA_MICROBIOLOGICA_E_MICROSCOPICA_DO_QUEIJO_ARTESANAL_COMERCIALIZADO_EM_RIO_PARANAIBA-MG_Physicochemical_microbiological_e_microscopical_evaluation_of_artisanal_cheese_traded_in_R/links/5638e72808ae51ccb3cca0fa/AVALIACAO-FISICO-QUIMICA-MICROBIOLOGICA-E-MICROSCOPICA-DO-QUEIJO-ARTESANAL-COMERCIALIZADO-EM-RIO-PARANAIBA-MG-Physicochemical-microbiological-e-microscopical-evaluation-of-artisanal-cheese-traded-in.pdf). Acesso em: 15 set. 2021.

MENESES, J. N. C. **Queijo artesanal de Minas**: patrimônio cultural do Brasil. Dossiê interpretativo. Volume I. Dossiê interpretativo. Ministério da Cultura. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional (IPHAN). 2006. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/ckfinder/arquivos/Dossie_mod0_fazer_queijo_minas.pdf. Acesso em: 10 set. 2021.

OLIVER, C. A. F. *et al.* Características físico-químicas e microbiológicas de queijos minas frescal e mussarela. **Bicho Online**, Pirassununga. 2008. Disponível em: <http://www.bichoonline.com.br/rtigos/ha0002.htm>. Acesso em: 09 jul. 2021.

OMAR, D. *et al.* Occurrence and PCR identification of *Salmonella* spp. from milk and dairy products in Mansoura, Egypt. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 1, p. 446-452, 2018. Disponível em: [http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20\(01\)%202018/\(59\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/25%20(01)%202018/(59).pdf). Acesso em: 03 out. 2021.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE - OPAS. **Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos**. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças - OPAS/OMS, 2009. 320p. Disponível em: <https://www.yumpu.com/pt/document/read/34540413/guias-para-o-gerenciamento-dos-riscos-sanitarios-em-alimentos>. Acesso em: 02 set. 2021.

PINTO, F. G. S. *et al.* Qualidade microbiológica de queijo Minas frescal comercializado no município de Santa Helena, PR, Brasil. **Arquivo do Instituto de Biológico**, v. 78, n. 2, p. 191-198, 2011. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/uploads/docs/arg/v78_2/pinto.pdf. Acesso em: 10 out. 2021

POPOFF, M. Y.; MINOR, L. E. Salmonella. In: TRUJILLO, S. et al. (Eds.). **Bergey's Manual Of Systematics Of Archaea And Bacteria**. New Jersey: Hoboken, 2015. Disponível em:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781118960608.gbm01166>. Acesso em: 10 out. 2021.

PRATTES, R. P. Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, 2016. Disponível em:

<https://periodicos.ufmg.br/index.php/ccaufmg/article/view/2924>. Acesso em: 03 out. 2021.

PUI, C. F. et al. Salmonella: A foodborne pathogen. **International Food Research Journal**, v. 18, p. 465-473, 2011. Disponível em: <http://psasir.upm.edu.my/id/eprint/24060/1/24060.pdf>. Acesso em: 10 out. 2021.

RECHE, M. H. L. R.; PITTOL, M.; FIUZA, L. M. Bactérias e bioindicadores de qualidade de águas de ecossistemas orizícolas da região Sul do Brasi. **Oecologia Australis**, v. 14, n. 2, p. 452-463, 2010. Disponível em: <https://revistas.ufri.br/index.php/oa/article/download/7092/5676>. Acesso em: 09 out. 2021.

SA, L. P.; BANDEIRA, M. G. A. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos de artesanato comercializados em três municípios da região Tocantina do Maranhão. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 6, p. 35881-35897, jun. 2020. Disponível em: https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/download/11391/9519?__cf_chl_rt_tk=daLD710gnZQok0K60vIChvDi4niPwLEnnZd6V1oHp eE-1637355320-0-gaNycGzNCVE. Acesso em: 12 nov. 2021.

SERIDAN, B. et al. Qualidade microbiológica de queijos produzidos em Minas Gerais. In: CONGRESSO NACIONAL DE LATICÍNIOS, 26., 2009, Juiz de Fora. **Anais Eletrônicos**, Juiz de Fora: EPAMIG/ILCT, 2009. Disponível em: www.revistadoilct.com.br/ilct/article/download/290/345. Acesso em: 15 set. 2021.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 5. ed, São Paulo: Blucher, 2017. 535 p.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 6. ed, São Paulo: Blucher, 2021. 602 p.

SILVA, J. G. **Características físicas, físico-químicas e sensoriais de queijo de minas artesanal da Canastra**. 2007. 198 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, 2007. Disponível em : http://repositorio.ufla.br/jspui/bitstream/1/3064/1/DISSERTA%C3%87%C3%83O_Caracter%C3%ADsticas%20f%C3%ADsicas%2C%20f%C3%ADsico-qu%C3%ADmicas%20e%20sensoriais%20do%20queijo%20Minas%20artesanal%20da%20Canastra.pdf. Acesso em: 09 out. 2021.

SILVA, R. A. P.; BELO, R. F. C. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo minas frescal produzidos artesanalmente e comercializados no município de Sete Lagoas, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 6, n. 3, 2018. Disponível em: <http://jornalold.faculadecienciasdavidacom.br/index.php/RBCV/article/view/609>. Acesso em: 14 out. 2021.

TINDALL, B. J. et al. Nomenclature and taxonomy of the genus Salmonella. **International Journal of Systematic And Evolutionary Microbiology**, v. 55, n. 1, p. 521-524, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/ij.s.0.63580-0>. Acesso em: 10 set. 2021.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Salmonella (non-typhoidal)**. 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal)). Acesso em: 12 fev. 2021.