

## **Pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo artesanal com Selo ARTE comercializado em lojas virtuais**

**Autores: Isabella Katlen Ribeiro Silva<sup>1</sup>, Luciano Menezes Ferreira<sup>2</sup>**

**Colaboradores: Livia dos Santos Coelho<sup>3</sup>, Maria Laura Rosa Sinhorelli<sup>4</sup>**

**<sup>1,2,3 e 4</sup>Centro Universitário Barão de Mauá**

*<sup>1</sup>isakatlen@hotmail.com – Medicina Veterinária, <sup>2</sup>luciano.ferreira@baraodemaua.br*

### **Resumo**

O queijo é um dos derivados lácteos mais consumidos no mundo. E, para garantir a qualidade dos queijos artesanais produzidos no Brasil, foi criado o Selo ARTE. Diante disso, o objetivo deste estudo foi pesquisar *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais.

### **Introdução**

O queijo é um alimento que tem um marco histórico significativo, e há indícios que sua história se iniciava anos a.C. sendo utilizado na alimentação humana. Anos depois, o queijo passou a ser produzido no mundo inteiro com uma variedade de tipos de leite (BARBOSA, 2021). Com o aumento da produção e o avanço da tecnologia foram surgindo novos estudos que permitiram a criação e implantação de leis mais elaboradas para garantirem uma melhor qualidade na mesa do consumidor (SILVA, 2022). Apesar de toda evolução, muitos produtores apresentam dificuldades na comercialização de seus produtos, resultando em produtos artesanais apresentados de maneira informal, ou seja, sem inspeção sanitária, o que resulta em um impacto na saúde do consumidor. Partindo desse princípio, foi criado o Selo ARTE para que por meio do mesmo o produtor consiga de forma menos burocrática a comercialização de seus produtos com alta qualidade em âmbito nacional sob inspeção sanitária (BRASIL, 2022).

A crise global causada pelo coronavírus no ano de 2020, marcou a história e causou danos a milhares de pessoas. Acredita-se que esta situação continuará a refletir-se na sociedade no futuro. Muitas áreas foram afetadas por esta nova realidade e, por consequência, as pessoas tiveram os seus hábitos e comportamentos transformados, um fato que se reflete no mercado e, por isso, se torna relevante perceber as mudanças no comportamento do consumidor durante a pandemia enfrentada (LOPES; LIMA;

RIBEIRO, 2022).

Segundo Schneider *et al.* (2020), a principal transformação decorrente da pandemia em relação à comercialização de alimentos está no aumento das compras virtuais. Essas novas dinâmicas de comercialização têm transformado as práticas de entregas e os modos como os agricultores ofertam seus produtos. Portanto, o comércio de alimentos mediado por tecnologias da informação está em crescimento.

Para que aconteça a comercialização de queijos de forma regular, os mesmos devem ser submetidos a uma avaliação microbiológica, com o intuito de certificar a ausência de possíveis patógenos que possam oferecer riscos a saúde pública, dentre 25 os quais se destaca a pesquisa de *Staphylococcus* coagulase positiva por se tratar do principal agente causador de intoxicações alimentares. *Staphylococcus aureus*, por exemplo, é frequentemente pesquisado em alimentos, sendo o queijo um dos principais veículos causadores de toxinfecção alimentar, pois sua presença está associada a práticas de higiene e manipulação inadequadas (LOGUERCI; ALEIXO, 2001 apud FERREIRA *et al.*, 2011).

### **Objetivo**

O objetivo deste estudo foi pesquisar *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo artesanal com Selo ARTE comercializado em lojas virtuais.

### **Material e Métodos**

Nos meses de junho e julho de 2022 foram analisadas 15 amostras de queijos artesanais com Selo ARTE comercializadas em lojas virtuais. Os queijos utilizados foram produzidos no estado de Minas Gerais e Santa Catarina. As compras foram restritamente realizadas em sites específicos na comercialização de queijos artesanais. Ao receber as amostras, eram coletadas informações como data, horário e temperatura. Além disso, foram observadas condições das embalagens que o produto estava submetido, verificando-se inclusive que os

queijos foram enviados em caixas isotérmicas, porém sem resfriamento com gelo reciclável ou qualquer outra forma. Logo em seguida, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Centro Universitário Barão de Mauá dentro de suas embalagens originais e em caixa isotérmica.

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). No laboratório, antes da abertura das embalagens as mesmas foram higienizada 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. Por fim, as diluições subsequentes foram obtidas da mesma forma, até se chegar à diluição  $10^{-3}$  (diluição seriada de razão 10).

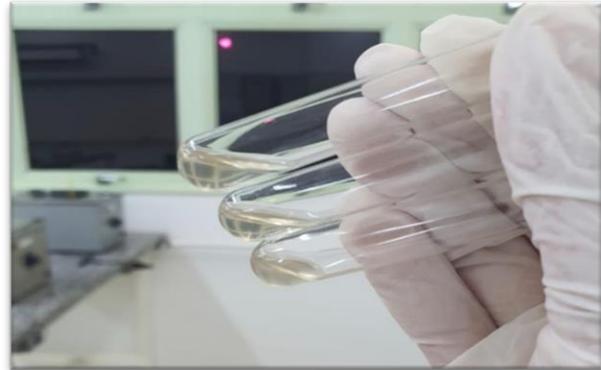
Para quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos, foi seguido o protocolo da *American Public Health Association* (APHA) 39.63:2015. Foi inoculado 0,1 mL das diluições  $10^{-1}$  a  $10^{-3}$  de cada amostra, na superfície seca das placas de ágar Baird-Parker, em duplicata, com 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 realizar a contagem foram selecionadas as placas que apresentaram entre 25 a 250 colônias típicas e atípicas, e o resultado foi dado em UFC/g. Prioritariamente optou-se na seleção de cinco colônias típicas e, em sua ausência parcial ou total, foram selecionadas as colônias atípicas para o teste de coagulase.

Cada colônia foi transferida para tubos com 5 mL de Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI) e incubadas a 35-37 °C por 24 horas. Após, foi transferido 0,1 mL de cada cultura obtida no BHI para um tubo estéril de 10 x 100 mm, onde foi adicionado 0,3 mL de Coagulase Plasma-EDTA (plasma de coelho com EDTA) ao 0,1 mL de cultura.

Os tubos foram misturados com movimentos circulares, sem agitar para evitar qualquer interferência na coagulação. Os tubos foram incubados a 35-37 °C e observados após 4 a 6 horas a formação de coágulo (Figura 1).

**Figura 1 - Teste de coagulase positiva nas primeiras 4 – 6 horas.**



Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

Em caso de teste negativo, os tubos foram incubados por 24 horas para ser examinados e reavaliados (Figura 2). Para considerar uma amostra positiva, era necessário apresentar a formação de coágulo ocupando mais da metade do volume original de líquido.

**Figura 2 - Teste de coagulase positiva após 24 horas.**



Fonte: Arquivo pessoal, 2022.

## 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. Nela é estabelecido o valor máximo permitido desse microrganismo nos derivados do leite e, mais especificamente em queijos, de até  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2019).

Nesta presente pesquisa, das 15 amostras analisadas de queijos artesanais com Selo ARTE comercializadas em lojas virtuais no período de junho a julho de 2022, uma (6,67%) das amostras apresentou contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva de  $4,0 \times 10^4$  UFC/g nas amostras de queijo, ou seja, não estava de acordo com o estabelecido pela legislação.

A presença de estafilococos coagulase-positiva evidencia a falta de condições higiênico-sanitárias durante as etapas de produção, processamento, distribuição, armazenamento e comercialização (TIGRE; BORELLY, 2011). Além disso, não deve

ser consumido pela população caso a quantidade de unidades formadoras de colônias por grama de queijo esteja acima da legislação, pois oferece riscos a saúde pública devido à possível produção de enterotoxinas (SILVA; FEITOSA; RODRIGUES, 2017).

Em contrapartida, nesta pesquisa também foi verificado que 93,33% (14) das amostras apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva inferiores a  $10^3$  UFC/g nas amostras de queijo, o que significa estarem de acordo com o estabelecido pela legislação, ou seja, podem ser consumidos pela população no que tange a presença desse microrganismo.

Visto que até o presente momento não foi encontrada nenhuma publicação científica sobre a qualidade microbiológica dos queijos artesanais com Selo ARTE, o que destaca ainda mais a importância deste trabalho, então foram utilizados trabalhos realizados com outros tipos de queijos, porém sem o Selo ARTE.

Em um trabalho onde o objetivo foi avaliar a qualidade microbiológica de queijos Minas industrializados e artesanais comercializados em Belo Horizonte – MG, foram coletadas 18 amostras de queijos, sendo nove do tipo Minas frescal, industrializados comercializados em supermercados, e nove do tipo Minas artesanal, comercializados no Mercado Municipal. Em relação à contagem de *Staphylococcus* coagulase-positiva foi observado que 100% das amostras, tanto de queijo industrializado quanto de queijo artesanal, apresentaram contagens superiores aos padrões legais, sendo que três (33%) das amostras industrializadas apresentaram valores  $\geq 10^5$  UFC/g e cinco (55%) das amostras artesanais seguiram o mesmo padrão. Diante disso, conclui-se que a presença deste microrganismo nos valores apresentados torna-se uma ameaça epidemiológica pela probabilidade da existência de enterotoxinas, que em quantidade significativa causam intoxicação caso a cepa de *Staphylococcus* spp. seja toxigênica (LOPES *et al.*, 2020).

Diferente do presente estudo, Souza *et al.* (2015), a fim de conhecer as características fenotípicas e genotípicas de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de queijo Minas artesanal, produzido na região de Araxá – MG, analisaram bioquímica e molecularmente 30 amostras de uma determinada marca comercializada no município de Sacramento-MG. Dessas, 28 (93,3%) apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos, cujas contagens variaram de  $3,0 \times 10^2$  a  $2,0 \times 10^7$  UFC/g. Portanto, as análises efetuadas evidenciaram que 93,3% das amostras de queijo Minas artesanal estavam em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias.

Em estudo realizado por Martins e Reis (2012) foi avaliada a qualidade microbiológica de queijos

Minas frescal comercializados no município de Frutal - MG, visando estabelecer a qualidade em relação aos microrganismos avaliados. Com isso, quanto à presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, foi observado que 18 amostras (45,0%) estavam em desacordo com a legislação em relação à sua contagem.

A ingestão de alimentos contaminados por agentes microbianos e/ou toxinas representam considerável risco para as pessoas. As enfermidades de origem alimentar não causam somente transtornos à saúde e ao bem estar dos indivíduos afetados, mas também se associam a graves consequências econômicas para a sociedade. Por exemplo, uma das intoxicações alimentares mais frequentes é causada por *Staphylococcus aureus* e é decorrente da ingestão de enterotoxinas préformadas no alimento contaminado pela bactéria (PRADO *et al.*, 2015). O queijo, de acordo com Mendes *et al.* (2018), é um dos principais veiculadores de *Staphylococcus aureus*, pois a presença está associada à mastite dos animais, à prática de higiene inadequada para a produção e à manipulação do ser humano. Diante disso, para prevenir a contaminação são necessárias as boas práticas na fabricação do alimento.

Caso ocorra a contaminação, em condições inadequadas de temperatura os estafilococos, que são bactérias mesófilas, podem multiplicar-se em temperatura ambiente e ainda produzirem enterotoxinas no alimento no período de quatro a seis horas (TIGRE; BORELLY, 2011). Portanto, visto que as amostras analisadas nesta pesquisa chegaram em Ribeirão Preto – SP com temperaturas variando entre 19,9°C a 24,8°C, a falta de controle de temperatura durante o transporte pode ter sido responsável pelo aumento de UFC/g de estafilococos coagulase positiva acima da legislação.

De acordo com a Portaria do Instituto Mineiro Agropecuário nº 2.049, de 07 de abril de 2021, é de extrema importância os queijos serem armazenados e transportados em condições adequadas a fim de evitar a multiplicação de microrganismos indesejáveis. Portanto, devem ser mantidos refrigerados por temperaturas inferiores a 10 °C e deverão ser transportados, no mínimo, em veículo de carroceria isotérmica ou em veículo de carroceria fechada, desde que em caixas isotérmicas higienizáveis para que, no momento da entrega no comércio varejista, não estejam em temperatura superior a 10°C (MINAS GERAIS, 2021).

Já a provável causa de os resultados da maioria 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 desse patógeno.

## Conclusão

Na presente pesquisa foi observado que a maior parte das amostras analisadas (93,33%) apresentou-se dentro do estabelecido pela legislação para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, tornando os queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais aptos para consumo com vistas a esse microrganismo. No entanto, a presença de uma amostra (6,67%) acima do limite máximo estabelecido chama a atenção para a necessidade de controle de temperatura dos queijos durante o transporte, pois caso tivesse sido refrigerada, possivelmente teria apresentado contagem abaixo da estabelecida pela legislação.

Diante disso, sugere-se a realização de novas pesquisas para verificar se os queijos artesanais com Selo ARTE comercializados em lojas virtuais 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

- BARBOSA, Juliana. **Queijos: um pouco de história**. 2021. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/queijos-um-pouco-de-historia/>. Acesso em: 22 out. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Dispõe sobre o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA). **Diário Oficial da União**, Brasília. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/aquicultura-epesca/legislacao/legislacao-geral-da-pesca/decreto-no-9-013-de-29-03-2017.pdf/view>. Acesso em: 12 set. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Selos de Identificação Artesanal**: saiba tudo sobre selo arte aqui. Brasília. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijoartesanaiselo-arte>. Acesso em: 01 nov. 2022.
- LOPES, Vanessa Cristina *et al.* Qualidade microbiológica de queijos tipo minas comercializados em Belo Horizonte, MG, Brasil. **Infarma - Ciências Farmacêuticas**, [S.L.], 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: <https://oaji.net/articles/2020/3425-1607526426.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2022.
- MARTINS, Eduardo da Silva; REIS, Nadabya Elizabeth Ventura. Determinação de coliformes e *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos minas frescal. **Revista Brasileira de Tecnologia Agroindustrial**, [S.L.], v. 6, n. 2, p. 842-851, 16 ago. 2012. Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). <http://dx.doi.org/10.3895/s1981-36862012000200010>. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/rbta/article/view/1049>. Acesso em: 07 nov. 2022.
- MENDES, Leticia Aparecida Barbosa *et al.* Avaliação da presença de estafilococos coagulase positiva em “queijo minas artesanal” comercializados na microrregião de Bom Despacho-MG. **Conexão Ciência**, Formiga, v. 13, n. 1, p. 18-26, 2018. Disponível em: <https://periodicos.uniformg.edu.br:21011/periodico/s/index.php/conexaociencia/article/view/875>. Acesso em: 07 nov. 2022.
- MINAS GERAIS. Governo do Estado de Minas Gerais. Portaria nº 2049, de 07 de abril de 2021. Estabelece o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Artesanal Mantiqueira de Minas. **Instituto Mineiro de Agropecuária**, Belo Horizonte, 07 abr., 2021. Disponível em: [http://ima.mg.gov.br/index.php?preview=1&option=com\\_dropfiles&format=&task=frontfile.download&catid=1739&id=18558&Itemid=1000000000000](http://ima.mg.gov.br/index.php?preview=1&option=com_dropfiles&format=&task=frontfile.download&catid=1739&id=18558&Itemid=1000000000000). Acesso em: 31 out. 2022.
- OLIVEIRA, Magnólia Carneiro *et al.* Parâmetro microbiológico de queijos produzidos e comercializados no Brasil: revisão sistemática. **Research, Society And Development**, [S.L.], v. 10, n. 14, p. 1-14, 10 nov. 2021. Research, Society and Development. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i14.22196>. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/22196/19796>. Acesso em: 01 nov. 2022.
- PRADO, Renata Resende *et al.* *Staphylococcus* spp.: importantes riscos à saúde pública. **Pubvet**, [s. l.], v. 9, n. 8, p. 363-368, 2015. Disponível em: <https://www.pubvet.com.br/artigo/453/staphylococcus-spp-importantes-riscos-agravesauacutedepuacutublica>. Acesso em: 01 nov. 2022.
- SCHNEIDER, Sergio *et al.* Os efeitos da pandemia da Covid-19 sobre o agronegócio e a alimentação. **Estudos Avançados**, [S.L.], v. 34, n. 100, p. 167-188, dez. 2020. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0103-4014.2020.34100.011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ea/a/kQdC7V3Fxm8WXzv>

mY5rR3SP/?format=pdf&lang=pt. Acesso em: 09 nov. 2022.

SILVA, Helisângela de Almeida; FERREIRA, Ana Carolina Marques. Indicadores higiênicos sanitários em queijos do tipo minas frescal na cidade de UberlândiaMG. **Revista Brasileira Multidisciplinar**, [S.L.], v. 24, n. 1, p. 103-111, 22 abr. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.25061/2527-2675/rebram/2021.v24i1.891>. Acesso em: 30 out. 2022.

SILVA, Janine Passos Lima da *et al.* *Staphylococcus spp.: incidência e surtos*. Brasília: **Embrapa**, 2015. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-depublicacoes/-/publicacao/1034839/staphylococcus-spp-incidencia-e-surtos>. Acesso em: 01 nov. 2022.

SILVA, Juliana Fonseca Moreira *et al.* *Staphylococcus aureus* em alimentos. **Desafios - Revista Interdisciplinar da Universidade Federal do Tocantins**, [S.L.], v. 4, n. 4, p. 15-31, 3 out. 2017. Universidade Federal do Tocantins. <http://dx.doi.org/10.20873/uft.2359-3652.2017v4n4p15>. Disponível em: <https://sistemas.uft.edu.br/periodicos/index.php/desafios/article/view/3531/11812>. Acesso em: 02 nov. 2022.

SILVA, Lavinia Ventura da. Boas práticas na produção de queijos artesanais: uma revisão sistemática da literatura. **Diversitas Journal**. [S.L.], p. 639-651. 10 out. 2022. Disponível em: [https://diversitasjournal.com.br/diversitas\\_journal/article/view/1994/1652](https://diversitasjournal.com.br/diversitas_journal/article/view/1994/1652). Acesso em: 01 nov. 2022.

SILVA, Neusely da *et al.* **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água**. 6. ed. São Paulo: Blucher, 2021.

SOUZA, Viviane *et al.* Estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas de queijo minas artesanal de araxá. **Ars Veterinaria**, Jaboticabal, v. 31, n. 1, p. 19-23, 2015. Disponível em: <http://www.arsveterinaria.org.br/ars/article/view/838/993>. Acesso em: 10 nov. 2022.

TIGRE, Dellane Martins; BORELLY, Maria Astor do Nada. Pesquisa de Estafilococos coagulase-positiva em amostras de "queijo coalho" comercializadas por ambulantes na praia de Itapuã (Salvador-BA). **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 10, n. 2, p. 162-166, 2011. Disponível em: [https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/22803/1/10\\_v.10\\_2.pdf](https://repositorio.ufba.br/bitstream/ri/22803/1/10_v.10_2.pdf). Acesso em: 10 nov. 2022.