

# As Ciências Biológicas e da Saúde e seus Parâmetros

Christiane Trevisan Slivinski  
(Organizadora)



**Atena**  
Editora

Ano 2018

**Christiane Trevisan Slivinski**

(Organizadora)

# **As Ciências Biológicas e da Saúde e seus Parâmetros**

Atena Editora  
2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Geraldo Alves e Natália Sandrini

**Revisão:** Os autores

#### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

C569 As ciências biológicas e da saúde e seus parâmetros [recurso eletrônico] / Organizadora Christiane Trevisan Slivinski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. – (As ciências biológicas e da saúde e seus parâmetros; v. 1)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-73-4

DOI 10.22533/at.ed. 734180511

1. Ciências biológicas. 2. Saúde. I. Slivinski. Christiane Trevisan.

CDD 620.8

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

## APRESENTAÇÃO

As Ciências Biológicas estão relacionadas a todo estudo que envolve os seres vivos, sejam eles micro-organismos, animais ou vegetais, bem como a maneira com que estes seres se relacionam entre si e com o ambiente. Quando se fala em Ciências da Saúde faz-se menção a toda área e estudo relacionada a vida, saúde e doença. Neste sentido, fazem parte das Ciências Biológicas e Saúde áreas como Biologia, Biomedicina, Ciências do Esporte, Educação Física, Enfermagem, Farmácia, Fisioterapia, Fonoaudiologia, Medicina, Medicina Veterinária, Nutrição, Odontologia, Saúde Coletiva, Terapia Ocupacional, Zootecnia, entre outras.

A preservação do meio ambiente, a manutenção da vida e a saúde dos indivíduos é foco principal dos estudos relacionados as Ciências Biológicas, onde pode-se navegar por um campo bem abrangente de pesquisas que vai desde aspectos moleculares da composição química dos organismos vivos até termos médicos utilizados para compreensão de determinadas patologias.

Neste ebook é possível observar essa grande diversidade que envolve os aspectos da vida. A preocupação de profissionais e pesquisadores das grandes academias em investigar formas de viver em equilíbrio com o meio ambiente, bem como aproveitando da melhor forma possível os benefícios ofertados pelos seres vivos.

Inicialmente são apresentados artigos que discutem os cuidados de enfermagem com os seres humanos, desde acidentes com animais peçonhentos, cuidados com a dengue, preenchimento de prontuários, cuidados com a higiene, atendimento de urgência e emergência e primeiros socorros, doenças sexualmente transmissíveis e hemodiálise.

Em seguida são apresentados alguns estudos relacionados a intoxicação com drogas e álcool, bem como aspectos envolvendo a farmacologia. Caracterização bioquímica de enzimas e sua relação com infarto, insegurança alimentar e obesidade infantil.

Ainda podem ser observados artigos que relatam sobre aspectos antimicrobianos e antioxidantes de vegetais e micro-organismos. Presença de fungos plantas. Caracterização do solo e frutas. Doenças em plantas. E para terminar, você irá observar algumas discussões envolvendo a fisioterapia no desenvolvimento motor de crianças, os benefícios da caminhada, além de tratamentos estéticos para o controle de estrias.

Christiane Trevisan Slivinski

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
ACIDENTES POR ANIMAIS PEÇONHENTOS EM CRIANÇAS REGISTRADOS EM CENTRO DE INFORMAÇÃO E ASSISTÊNCIA TOXICOLÓGICA	
<i>Camila Cristiane Formaggi Sales</i>	
<i>Rubian Hellen Alves Teixeira</i>	
<i>Karen Matsuike Gonçalves</i>	
<i>Robson Senna de Andrade Alves</i>	
<i>Beatriz Ferreira Martins</i>	
<i>Magda Lúcia Félix de Oliveira</i>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>9</b>
ANÁLISE DE ABREVIATURAS UTILIZADAS EM UM HOSPITAL DOS CAMPOS GERAIS	
<i>Bianca Machado Cruz Shibukawa</i>	
<i>Ketry Joyara Laranjeira Barizon</i>	
<i>Diego Raone Ferreira</i>	
<i>Rafaela Bramatti Silva</i>	
<i>Andre Estevam Jaques</i>	
<i>Ieda Harumi Higashashi</i>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>18</b>
CONHECIMENTO SOBRE INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS ENTRE IDOSOS EM MUNICÍPIO DO NOROESTE PARANAENSE	
<i>Willian Augusto de Melo</i>	
<i>Maria Antonia Ramos Costa</i>	
<i>Heloá Costa Borim Christinelli</i>	
<i>Tereza Maria Mageroska Vieira</i>	
<i>Elen Ferraz Teston</i>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>29</b>
DA TRAGÉDIA DO PASSADO À FARSA DO PRESENTE: O DISCURSO SOBRE A HIGIENE QUE ESCAPA À VISTA	
<i>Graziele Adrieli Rodrigues Pires</i>	
<i>Ketelin Cristine Santos Ripke</i>	
<i>Lilian Denise Mai</i>	
<i>Roselania Francisconi Borges</i>	
<i>Heloise Beatriz Quesada</i>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>42</b>
IMPORTÂNCIA DA SIMULAÇÃO REALÍSTICA PARA O ENSINO DE URGÊNCIA E EMERGÊNCIA	
<i>Emilli Karine Marcomini</i>	
<i>Elisandra de Jesus Sangalli Martins</i>	
<i>Neusa Viana Lopes</i>	
<i>Nanci Verginia Kuster de Paula</i>	
<i>Barbara Andreo dos Santos</i>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>48</b>
O INTERESSE DE ACADÊMICOS DE ENFERMAGEM PELA ÁREA DE EMERGÊNCIA	
<i>Andressa Araujo Silva</i>	
<i>Juliana Helena Montezeli</i>	
<i>Fernanda Pâmela Machado</i>	
<i>Andréia Bendine Gastaldi</i>	
<i>Eleine Aparecida Penha Martins</i>	
<i>Aline Franco da Rocha</i>	

**CAPÍTULO 7 ..... 61**

INFECÇÃO PELO VÍRUS DENGUE: EPIDEMIOLOGIA, VIROLOGIA MOLECULAR E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

*Carmem Gabriela Gomes de Figueiredo*

*Luciane Alves Coutinho*

*Marizilda Barbosa da Silva*

*Claudenice Rodrigues do Nascimento*

**CAPÍTULO 8 ..... 79**

PRIMEIROS SOCORROS COMO TEMÁTICA DE EDUCAÇÃO EM SAÚDE COM ESCOLARES

*Paula Vidal Ortiz de Oliveira*

*Fabiana Martins Ferreira*

*Célia Maria Gomes Labegalini*

*Márcia Glaciela da Cruz Scardoelli*

*Raquel Cristina Luis Mincoff*

**CAPÍTULO 9 ..... 90**

QUALIDADE DE VIDA DE PACIENTES SUBMETIDOS À HEMODIÁLISE

*Willian Augusto de Melo*

*Maria Antonia Ramos Costa*

*Felipe Gutierre Moreira*

*Geosmar Martins de Oliveira*

*Dandara Novakowski Spigolon*

**CAPÍTULO 10 ..... 102**

ATENÇÃO INTEGRAL À PESSOA INTOXICADA: DADOS DE UM PROGRAMA DE VISITA DOMICILIAR AO INTOXICADO

*Camila Cristiane Formaggi Sales*

*Tuanny Kitagawa*

*Mirella Machado Ortiz*

*Paulo Vítor Vicente Rosado*

*Ohana Panatto Rosa*

*Martina Mesquita Tonon*

*Bruno Toso Andujar*

*Jéssica Torquetti Heberle*

*Jéssica Sanches da Silva*

*Magda Lúcia Félix de Oliveira*

**CAPÍTULO 11 ..... 109**

MODELO DE CRENÇAS EM SAÚDE E PREVENÇÃO DE INTOXICAÇÕES INFANTIS

*Marcia Regina Jupi Guedes*

*Magda Lúcia Felix de Oliveira*

**CAPÍTULO 12 ..... 118**

MULHERES INTOXICADAS PELO USO ÁLCOOL E OUTRAS DROGAS: ESTUDO EM CENTRO DE ASSISTÊNCIA TOXICOLÓGICA

*Sônia Regina Marangoni*

*Érica Gomes Almeida*

*Aroldo Gavioli*

*Ohana Panatto Rosa*

*Magda Lúcia Félix Oliveira*

**CAPÍTULO 13 ..... 131**

PROPOSTA DE INTERVENÇÃO EDUCATIVA PARA PREVENÇÃO DE INTOXICAÇÕES

*Camila Cristiane Formaggi Sales*

*William Campo Meschial*

*Paola Kallyanna Guarneri Carvalho de Lima*

*Patrícia Suguyama*

*Rosângela Christophoro  
Marcia Regina Jupi Guedes  
Magda Lúcia Félix de Oliveira*

**CAPÍTULO 14..... 138**

SOLUBILIDADE DE BLENDAS DE SERICINA/ÁLCOOL POLIVINÍLICO UTILIZADOS COMO SISTEMAS DE LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS

*Patrícia Dias Gamero  
Fernando Reinoldo Scremin  
Paulo Rodrigo Stival Bittencourt*

**CAPÍTULO 15..... 143**

ADOLESCENTES ESCOLARES DA REDE PRIVADA: PREVALÊNCIA DE SOBREPESO, OBESIDADE E SUAS ASSOCIAÇÕES

*Drielly Lima Valle Folha Salvador  
Milaine Aparecida Pichitelli  
Carlos Alexandre Molena Fernandes*

**CAPÍTULO 16..... 155**

ANÁLISE DA DOSAGEM BIOQUÍMICA DE ENZIMAS CARDÍACAS NO HOSPITAL MUNICIPAL DE MARINGÁ-PR

*Rhana Carla Ruziska Tondato  
Carlos Eduardo Benevento*

**CAPÍTULO 17 ..... 166**

IDENTIFICAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES E PESQUISA DE GENES DE VIRULÊNCIA DE E. COLI EM QUEIJOS MINAS INSPECIONADOS E ARTESANAIS

*Anna Carolina Leonelli Pires de Campos  
Juan Josué Puño Sarmiento  
Leonardo Pinto Medeiros  
Marcela Spinelli Flores de Túlio  
Gerson Nakazato  
Renata Katsuko Takayama Kobayashi  
Eder Paulo Fagan*

**CAPÍTULO 18.....174**

IDENTIFICAÇÃO DO POTENCIAL LIPOLÍTICO DE LINHAGENS DE ASPERGILLUS NIGER

*Daniele Sartori  
Mickely Liuti Dealis  
Thainá Maria Mendes Nunes  
Rayane Alves dos Santos  
Fabiana Guillen Moreira Gasparin  
Cristiani Baldo  
Marta Hiromi Taniwaki  
Maria Helena Pelegrinelli Fungaro*

**SOBRE A ORGANIZADORA ..... 181**

## IDENTIFICAÇÃO DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES E PESQUISA DE GENES DE VIRULÊNCIA DE *E. COLI* EM QUEIJOS MINAS INSPECIONADOS E ARTESANAIS

### **Anna Carolina Leonelli Pires de Campos**

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Microbiologia  
Londrina – Paraná

### **Juan Josué Puño Sarmiento**

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Microbiologia  
Londrina - Paraná

### **Leonardo Pinto Medeiros**

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Microbiologia  
Londrina – Paraná

### **Marcela Spinelli Flores de Túlio**

Universidade Estadual do Norte do Paraná, Setor de Veterinária e Produção Animal  
Bandeirantes - Paraná

### **Gerson Nakazato**

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Microbiologia  
Londrina – Paraná

### **Renata Katsuko Takayama Kobayashi**

Universidade Estadual de Londrina, Departamento de Microbiologia  
Londrina – Paraná

### **Eder Paulo Fagan**

Universidade Estadual do Norte do Paraná, Setor de Veterinária e Produção Animal  
Bandeirantes - Paraná

nutritivo e sua contaminação deve-se a fatores como matéria prima contaminada, falta de processamento térmico, manipulação do produto durante o preparo, falha de higienização de equipamentos e de manipuladores. Os principais patógenos encontrados em contaminação de queijo são os coliformes termotolerantes, sendo *Escherichia coli* o patógeno mais comumente encontrado nessas contaminações alimentares, podendo apresentar fatores de virulência como adesinas, invasinas e toxinas. Desse modo, o objetivo foi identificar a presença de coliformes termotolerantes e pesquisar genes de virulência de *E. coli* potencialmente patogênica em queijos minas inspecionados e artesanais. Os coliformes foram isolados em ágar Mac Conkey e identificadas utilizando provas bioquímicas do Enterokit B - Probac®. Ensaios de Multiplex-PCR foram utilizados para pesquisar os genes de virulência ipaH (EIEC), elt e est (ETEC), aggR (EAEC), eae (EPEC), ehxA, stx1 e em stx2 (STEC). Um total de 104 colônias de coliformes termotolerantes de 80 queijos artesanais foram isoladas, sendo: 31 *E. coli*, 65 *Klebsiella* sp., 8 *Citrobacter* sp. e 2 *Enterobacter* sp. Dentre as colônias de *E. coli* isoladas, apenas uma colônia isolada de um queijo artesanal apresentou gene de virulência (eae), indicando que a *E. coli* isolada pertence ao grupo das enteropatogênicas. As demais colônias podem ser de origem ambiental ou

**RESUMO:** O queijo é um produto de alto valor

de microbiota comensal de humanos e outros animais. A presença de coliformes termotolerantes, principalmente de *E. coli* enteropatogênica, apenas em queijos artesanais mostrou que o tipo de processamento e a higiene durante a produção são importantes para a qualidade do produto e para evitar a contaminação bacteriana e do consumidor.

**PALAVRAS-CHAVE:** Contaminação, Queijo, *E. coli*, coliformes.

**ABSTRACT:** Cheese is a product of high nutritional value and its contamination is due to factors such as contaminated raw material, lack of thermal processing, handling of the product during the preparation, failure of hygiene of equipment and manipulators. The main pathogens found in cheese contamination are thermotolerant coliforms, in which, *Escherichia coli* is the most commonly food contamination pathogen found, and may present virulence factors such as adhesins, invasins and toxins. Therefore, the objective was to identify the presence of thermotolerant coliforms and to investigate virulence genes of potentially pathogenic *E. coli* isolate from inspected and artisanal minas cheeses. The coliforms were isolated on MacConkey agar and identified by Biochemical tests (Enterokit B - Probac®). Multiplex-PCR assays were used to investigate the virulence genes ipaH (EIEC), elt and est (ETEC), aggR (EAEC), eae (EPEC), stx1 and stx2 (STEC). 104 colonies of thermotolerant coliforms from 80 artisanal cheeses were isolated, being: 31 *E. coli*, 65 *Klebsiella* sp., 8 *Citrobacter* sp. and 2 *Enterobacter* sp. Among the *E. coli* isolated from a artinasal cheese, only one presented virulence gene (eae), indicating that the *E. coli* belongs to the enteropathogenic group. The other colonies may from environmental origin or human and other animals microbiota. The presence of thermotolerant coliforms, mainly enteropathogenic *E. coli* only in artisanal cheeses showed that the type of processing and the hygiene during the production are important for the quality of the product and to avoid bacterial and consumer contamination.

**KEYWORDS:** contamination, cheese, *e. coli*, coliforms.

## 1 | INTRODUÇÃO

O queijo minas é um dos alimentos mais populares e consumidos no Brasil, sendo comercializados sob a fiscalização de serviços de inspeção ou informalmente, em feiras livres e mercados municipais. A produção de queijo no Brasil é distribuída por todo o país, tendo a maior concentração de laticínios na região sudeste e, devido ao seu alto valor nutricional, é de grande importância na dieta da população, por ter uma alta digestibilidade, quando comparado a outros alimentos, sendo, dessa maneira, a melhor forma de se ingerir as propriedades nutritivas do leite, e é parte integrada dos hábitos e cultura nacional. Além disso, o queijo também pode ser considerado uma forma de conservação do leite (SERIDAN et al., 2009; MARTINS; MOURA, 2010).

O queijo minas é caracterizado por pH entre 5,0 e 5,3 e umidade (> 55%) quando

comparado a outros tipos de queijos, o que o torna susceptível à contaminação, devido a condições de higiene precárias durante a sua produção, como o uso de leite não pasteurizado, ambiente de maturação e longo tempo de transporte (MORAES et al., 2009).

A presença de microrganismos contaminantes em queijos é uma das principais preocupações, visto que resultam em grandes perdas econômicas, devido aos estufamentos, odores e aparência desagradáveis, diminuindo o tempo de prateleira e o seu valor comercial, além da produção de toxinas que podem causar doenças gastrointestinais e surtos zoonóticos (CALLON et al., 2011; PERRY, 2004).

No Brasil, existem regras para a produção e comercialização de produtos lácteos como as instruções normativas e regulamentos técnicos (MERCOSUL, 1996; BRASIL, 1997; BRASIL, 2011), entretanto não são aplicadas de forma comum, sendo encontrados para venda em feiras-livres, vendedores informais, sem o acondicionamento necessário.

*Escherichia coli* é uma bactéria do grupo coliforme que fermenta a lactose e o manitol, com produção de ácido e gás a 44,5 °C em 24 horas, oxidase negativa, não hidrolisa a ureia e apresenta atividade das enzimas beta-galactosidase e beta-glucuronidase, sendo considerado um indicador de contaminação e condições de higiene, durante o processamento ou após o processamento de alimentos. Sua presença pode indicar a presença de patógenos entéricos e é a principal representante do grupo dos coliformes termotolerantes (MORAES et al., 2009; OKURA; MARIN, 2014). Além disso, algumas cepas de *E. coli* podem adquirir genes de virulência e se tornarem patogênicas (SILVEIRA, 2013), como o caso das *E. coli* diarreio gênicas (DEC).

As amostras de DEC podem ser classificadas em seis patotipos (KAPER et al., 2004), os quais são separados por padrões de patogenicidade: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* difusamente aderente (DAEC) e *E. coli* shiga-toxigênica (STEC). O patotipo STEC possui uma subcategoria denominada *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), que inclui o sorotipo O157: H7. Alguns estudos sugerem que a contaminação de alimentos por *E. coli* são provenientes da falta de higiene ao manusear alimentos (VICENT et al., 2010). Além de *E. coli* e seus patotipos, coliformes termotolerantes como *Klebsiella* sp. e *Citrobacter* sp., além de outros agentes patogênicos como *Listeria monocytogens*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* podem ser transmitidos por meio de produtos lácteos (CALLON et al., 2011; PERRY et al., 2004; FLORES; MELO, 2015; TRMČÍČ et al., 2016).

Os produtos de origem animal requerem atenção especial, pois eles podem ser veículos para disseminação de microrganismos patogênicos. Portanto, o objetivo deste estudo foi identificar a presença de coliformes termotolerantes e pesquisar genes de virulência de *E. coli* potencialmente patogênica em queijos minas inspecionados e artesanais.

## 2 | MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 137 queijos artesanais e 13 queijos inspecionados foi coletado em feiras livres e supermercados das regiões sul e sudeste do Brasil.

Aproximadamente 25 g de cada queijo foram diluídos em 225 mL de água de peptona tamponada (BPW), plaqueados em Ágar MacConkey (Difco®, Sparks, MD, EUA) e incubados a 37°C durante 24 h. Duas ou três colônias de cada placa foram selecionadas e testadas usando ensaios bioquímicos (Enterokit B - Probac®) para identificação de *E. coli*.

Os resultados da série bioquímica de cada colônia isolada foram comparados com a Tabela de Características Bioquímicas de Enterobactérias de Interesse na Patologia Humana (MURRAY, 2003).

Dos isolados caracterizados como *E. coli* extraiu-se o DNA por lise térmica. As cepas foram crescidas em ágar TSA (Difco®) a 37°C durante 24 h. O DNA foi extraído suspendendo sete colônias, da mesma cultura pura, em 200 µL de água esterilizada. A mistura foi submetida a uma temperatura de 100°C durante 10 min, e centrifugada a 10.000g durante 6 min. O sobrenadante foi utilizado para os ensaios de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

A presença de genes de virulência foi verificada usando três sistemas de MultiplexPCR. Os seguintes marcadores de virulência foram utilizados para detectar DEC: *eeA* (gene estrutural que codifica a adesina intimina em EPEC e EHEC), *bfpA* (gene estrutural para a formação de pilli de EPEC típica), *aggR* (ativador transcripcional de EAEC típica), *elt*, *est* (enterotoxinas de ETEC), *ipaH* (gene que codifica o antígeno H do plasmídeo de invasão, encontrado em EIEC), *stx1*, *stx2* (toxinas Shiga de EHEC), e *ehxA* (enterohemolisina, que pode ser encontrado na EHEC e EPEC). Os métodos de PCR foram previamente padronizados (PUÑO-SARMIENTO et al., 2014)

## 3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 137 queijos artesanais coletados foram isoladas 104 colônias de coliformes termotolerantes de 80 queijos, sendo: 31 *E. coli* (28 queijos), 65 *Klebsiella sp.* (51 queijos), 8 *Citrobacter sp.* (6 queijos) e 2 *Enterobacter sp.* (2 queijos).

Aproximadamente 42 % dos queijos artesanais (57 queijos) e 100 % dos queijos inspecionados analisados não apresentaram crescimento de colônias em ágar MacConkey, podendo inferir que esses queijos não estavam contaminados por esses microrganismos.

Os coliformes termotolerantes, entre outras características, fermentam a lactose com produção de gás quando incubados a temperatura de 45 °C. Tem como principal microrganismo a *Escherichia coli*, cuja presença indica contaminação de origem fecal, bem como espécies dos gêneros *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, que também podem persistir por longos períodos e se multiplicarem em ambientes não entéricos (SIQUEIRA, 1995), todos encontrados em queijos analisados nesse estudo.

Dentre os isolados de queijos minas artesanais, 92% dos microrganismos são considerados coliformes termotolerantes. Visoto et al. (2011) também encontrou coliformes termotolerantes em 90% das amostras de queijos Minas Frescal analisadas e Gonzales et al. 2000, dentre as 44 amostras de queijos isolaram 385 linhagens de *Escherichia coli*, sendo cinco cepas enteropatogênicas.

Dos isolados de *E. coli* submetidos a PCR, apenas um foi positivo para o gene *eaeA* (codifica a adesina intimina de EPEC) e negativo para *bpfA* e, assim, foi classificado como EPEC atípica. As demais colônias podem ser de origem ambiental ou de microbiota comensal de humanos e outros animais.

A ausência de STEC, um importante patógeno (particularmente o sorotipo O157:H7), no presente trabalho e em outros trabalhos no Brasil (OKURA; MARIN, 2014, RIBEIRO et al., 2016, CAMPOS et al., 2018) não deve ser subestimada, visto que já foi isolada de queijos frescos e não pasteurizados em outros países como Arábia Saudita, Egito, México e Itália (ALTALHI; HANSEN, 2009; GUZMAN-HERNANDEZ et al., 2016; MAROZZI et al., 2016; NOBILI et al., 2016; OMBARAK et al., 2016).

No processamento de queijos, para reduzir o número de enterobactérias faz-se necessário pasteurizar o leite, controlar a temperatura de maturação e de estocagem, além de uma eficiente higienização dos equipamentos, do ambiente de produção e dos manipuladores (KOUSTA et al., 2010). O queijo minas por conter alto teor de umidade, baixo teor de sal e ausência de maturação, torna-se sensível a contaminações, que podem ser causadas pelo leite e também pelo processo de produção (PASSOS et al., 2009).

Quando encontradas enterobactérias em queijos produzidos com leite pasteurizados, podem estar relacionados a falhas no processo de pasteurização ou em falhas nos processos após a pasteurização, como problemas de higiene pessoal e na aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) (SALOTTI et al., 2006; O'BRIEN et al., 2009).

Alimentos em geral, obtidos por processos artesanais, possuem maior probabilidade de contaminação, devido à matéria-prima, utensílios mal higienizados ou contaminados, armazenado e comercializado em temperatura inadequada, fatores esses que contribuem para aumentar os riscos responsáveis por enfermidades (FARDIN et al., 2008).

A ingestão de queijo contaminado com coliformes termotolerantes pode causar incômodos intestinais, diarreia, vômitos e gastroenterites, e dependendo da quantidade de microrganismos ingeridos pode causar meningite e encefalite. Microrganismos oportunistas como *Citrobacter*, *Enterobacter* e *Klebsiella* encontrados nesse estudo podem causar doenças em pessoas imunodeprimidas, crianças ou idosos. Tendo em vista que os queijos minas são amplamente consumidos por todas as idades, torna-se importante a que o produto não apresente quaisquer espécies de *Enterobacteriaceae* (FRANCO; LANDGRAF, 2008; TEBALDI et al., 2008).

## 4 | CONCLUSÃO

A presença de *E. coli* e demais coliformes em queijos artesanais mostrou que o tipo de processamento e a higiene que são produzidos são de suma importância para a qualidade do produto a fim de evitar a contaminação bacteriana e do consumidor.

Para tanto é necessário à implantação de melhorias no controle de produção por meio de boas práticas de fabricação e uma fiscalização mais eficiente de órgãos competentes, para oferecer queijos de boa qualidade e assim assegurar a saúde dos consumidores.

## REFERÊNCIAS

ALTALHI AD, HASSAN SA. Bacterial quality of raw milk investigated by *Escherichia coli* and isolates analysis for specific virulence-gene markers. **Food Control**. 20: 913- 917, 2009.

BRASIL. (1996). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146 Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Abastecimento. Portaria nº 352 de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 08 set. 1997. Seção1, p. 19684.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 62, de 20 de setembro de 2011. **Diário Oficial da União**, 30 dez. 2011. Seção 1, p.6.

CAMPOS, A. C. L. P.; PUÑO-SARMIENTO, J. J.; MEDEIROS, L. P.; GAZAL, L. E. S.; MALUTA, R. P.; NAVARRO, A.; KOBAYASHI, R. K. T.; FAGAN, E. P.; NAKAZATO, G. Virulence Genes and Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* from Cheese Made from Unpasteurized Milk in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**. 15(2):94-100, 2018.

FARDIN, F.L. et al. Pesquisa de coliformes totais e fecais em queijos coloniais produzidos na região central do Rio Grande do Sul. **Revista Higiene Alimentar**, v.22, n.165, p.82-85, out. 2008.

FLORES A.M.P.C.; MELO C.B. Main bacteria that cause foodborne diseases. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, 37(1): 65-72, 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. In: **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, cap. 4, p. 48-60, 2008.

GONZALEZ, A. G. M. et al. Enteropathogenicity markers in *Escherichia coli* strains isolated from soft white cheese and poultry in Rio de Janeiro, Brazil. **Food Microbiology**, v. 17, p. 321-328, 2000.

GUZMAN-HERNANDEZ R, CONTRERAS-RODRIGUEZ A, HERNANDEZ-VELEZ R, PEREZ-MARTINEZ I, LOPEZ-MERINO A, ZAIDI MB, ESTRADA-GARCIA T. Mexican unpasteurised fresh cheeses are contaminated with Salmonella spp., non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* and potential uropathogenic *E. coli* strains: A public health risk. **International Journal of Food Microbiology**. 237: 10-16, 2016.

KAPER JB, NATARO JP, MOBLEY HL. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiology**. 2: 123–140, 2004.

KOUSTA, M. et al. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and

processing levels. **Food Control**, v. 21, n. 6, p. 805-815, 2010.

MARTINS, E.; MOURA, C.; **Manual técnico na arte e princípios da fabricação de queijos**. 2. ed. Alto Piquiri: Campana, p. 14-16, 65, 2010.

MAROZZI S, DE SANTIS P, LOVARI S, CONDOLEO R, BILEI S, MARCIANÒ R, MEZHER Z. Prevalence and molecular characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk cheeses from Lazio region, Italy. **Italian Journal of Food Safety**. 5: 4566, 2016.

MORAES PM, VIÇOSA GN, YAMAZI AK, ORTOLANI MB, NERO LA. Foodborne pathogens and microbiological characteristics of raw milk soft cheese produced and on retail sale in Brazil. **Foodborne Pathogens and Disease**. 6: 245-249, 2009.

MERCADO COMUM DO SUL. **Resolução MERCOSUL GMC, Nº 145**, MERCOSUL, 1996. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/rm\\_alimentos.asp](http://www.inmetro.gov.br/barreirastecnicas/rm_alimentos.asp). Acesso em 19 de maio de 2018

MURRAY, P. R. (Ed.) **Manual of Clinical Microbiology**, Eighth Edition. Washington, DC: ASM Press, 2003.

NOBILI G, FRANCONIERI I, BASANISI MG, LA BELLA G, TOZZOLI R, CAPRIOLI A, LA SALANDRA G. Short communication: Isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw milk and mozzarella cheese in southern Italy. **Journal of Dairy Science**. 99: 7877-7880, 2016.

O'BRIEN, M et al. Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. **Food Microbiology**, v. 26, n. 8, p. 910-914, 2009.

OKURA MH, MARIN JM. Survey of Minas frescal cheese from Southwest Minas Gerais for virulence factors and antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolates. **Ciência Rural** (UFSC Impres). 44-1506-1511, 2014.

OMBARAK RA, HINENOYA A, AWASTHI SP, IGUCHI A, SHIMA A, ELBAGORY ARM, YAMASAKI S. Prevalence and pathogenic potential of *Escherichia coli* isolates from raw milk and raw milk cheese in Egypt. **International Journal Food Microbiology**. 221: 69–76, 2016.

PASSOS, A. D. et al. Avaliação microbiológica de queijos Minas Frescal comercializados nas cidades de Arapongas e Londrina – PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 64, n. 369, p. 48-54, 2009.

PATON AW, PATON JC. Detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by using multiplex pcr assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, enterohemorrhagic *E. coli hlyA*, *rfbO111*, and *rfbO157*. **Journal of Clinical Microbiology**. 36: 598–602, 1998.

PERRY, K. S. Cheese: chemical, biochemical and microbiological aspects. **Química Nova**. 27(2), 293-300, 2004.

PUÑO-SARMIENTO J, GAZAL LE, MEDEIROS LP, NISHIO EK, KOBAYASHI RK, NAKAZATO G. Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* strains from avian organic fertilizers. **International journal of environmental research and public health**. 11: 8924-8939, 2014.

RIBEIRO LF, BARBOSA MMC, PINTO FDR, MALUTA RP, OLIVEIRA MC, DE SOUZA V, FAIRBROTHER JM. Antimicrobial Resistance and Virulence Factors of *Escherichia coli* in Cheese Made from Unpasteurized Milk in Three Cities in Brazil. **Foodborne pathogens and disease**. 13- 469-476, 2016.

SALOTTI, B. M. et al. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 2, p. 171-175, 2006.

SERIDAN, B. 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.

SILVEIRA, L.; MARQUES, A; MACHADO, J. Patotipos de *Escherichia Coli* associados a infecções entéricas entre 2002-2012. **Instituto Nacional de Saúde**, n. 8, 2013.

SIQUEIRA, R.S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Brasília: EMBRAPA, 1995. 159p.

TEBALDI, V. M. R.; OLIVEIRA, T. L. C.; RAMALHO, G. C.A.; PICOOLI, R. H. Bactérias da família *Enterobacteriaceae* isoladas durante a vida de prateleira de ricota. **Revista Higiene Alimentar**. v. 22, n. 165, p. 100-104, out, 2008.

TRMČIĆ, A., CHAUHAN, K., KENT, D. J., RALYEA, R. D., MARTIN, N. H., BOOR, K. J. Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. **Journal Dairy Science**. 99, 1–16, 2016.

VINCENT, C. et al. Food reservoir for *Escherichia coli* causing urinary tract infections. **Emerging Infectious Diseases**, v.16, p.88-95, 2010.

VISOTTO, R.G. et al. Queijo minas frescal: perfil higiênico-sanitário e avaliação da rotulagem. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.70, n.1, p.8-15, 2011.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**Christiane Trevisan Slivinski** - Possui Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2000), Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2007) e Doutorado em Ciências - Bioquímica pela Universidade Federal do Paraná (2012). Tem experiência na área de Bioquímica, com ênfase em Biotecnologia, atuando principalmente nos seguintes temas: inibição enzimática; fermentação em estado sólido; produção, caracterização bioquímica e purificação de proteínas (enzimas); e uso de resíduo agroindustrial para produção de biomoléculas (biosurfactantes). É professora na Universidade Estadual de Ponta Grossa nas disciplinas de Bioquímica e Química Geral desde 2006, lecionando para os cursos de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas, Farmácia, Educação Física, Enfermagem, Odontologia, Química, Zootecnia, Agronomia, Engenharia de Alimentos. Também leciona no Centro de Ensino Superior dos Campos Gerais – CESCAGE desde 2012 para os cursos de Fisioterapia, Odontologia, Farmácia, Nutrição, Enfermagem e Agronomia, nas disciplinas de Bioquímica, Fisiologia, Biomorfologia, Genética, Metodologia Científica, Microbiologia de Alimentos, Nutrição Normal, Trabalho de Conclusão de Curso e Tecnologia de Produtos Agropecuários. Leciona nas Faculdades UNOPAR desde 2015 para o curso de Enfermagem nas disciplinas de Ciências Celulares e Moleculares, Microbiologia e Imunologia.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-85107-73-4

