

# CAPÍTULO 2

## CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA E MICROSCÓPICA EM QUEIJO COLONIAL COMERCIALIZADO INFORMALMENTE

Data de aceite: 03/10/2022

Data de submissão: 08/08/2022

**Ana Paula Cecatto**

Faculdade Horizontina – FAHOR  
Horizontina – Rio Grande do Sul  
<https://orcid.org/0000-0001-7995-2925>

**Graciely Cristina Medeiros Mombach**

Faculdade Horizontina – FAHOR  
Horizontina – Rio Grande do Sul  
<https://orcid.org/0000-0002-3613-5092>

**RESUMO:** Por ser produzido de forma artesanal, agregar valor cultural e muitas vezes sentimental, o queijo colonial é um dos alimentos mais comuns nas mesas dos consumidores do Sul do Brasil. No entanto, por ser produzido a partir de leite cru e ser armazenado e transportado em condições sanitárias muitas vezes insatisfatórias, acaba contaminado e sendo veículo de patógenos causando sérios danos à saúde dos consumidores. Deste modo, este estudo objetivou avaliar a qualidade microbiológica e microscópica de queijo colonial artesanal comercializado de forma informal na região Noroeste do RS. Para isso, foram realizadas análises microbiológicas de coliformes totais e termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* e a avaliação microscópica por meio da técnica do exame a fresco em queijo colonial de produtores de quatro municípios, denominados aqui como Município A, B, C e D. Apenas dois produtores, dos 15 analisados,

produzem queijo colonial em condições satisfatórias e com qualidade aceitável, segundo a legislação e, 60% das amostras analisadas estavam insatisfatórias com qualidade inaceitável. Uma amostra apresentou *Salmonella*. Apenas uma amostra não apresentou sujidades visíveis enquanto que 90% das amostras avaliadas apresentaram matérias estranhas, demonstrando a importância da aplicação das Boas Práticas de Manipulação e Fabricação de alimentos. Ao final da pesquisa, concluiu-se que é necessário fornecer mais e melhores capacitações aos produtores com relação a forma correta de produção, armazenamento e transporte visando garantir a qualidade e segurança alimentar dos consumidores.

**PALAVRAS-CHAVE:** Queijo artesanal; sujidades; segurança alimentar; *Salmonella*; *Staphylococcus*.

### MICROBIOLOGICAL AND MICROSCOPIC CONTAMINATION IN COLONIAL CHEESE COMMERCIALIZED INFORMAL

**ABSTRACT:** Because it is produced in an artisanal way, adding cultural and often sentimental value, colonial cheese is one of the most common foods on the tables of consumers in southern Brazil. However, because it is produced from raw milk and is stored and transported in often-unsatisfactory sanitary conditions, it ends up being contaminated and being a vehicle for pathogens causing serious damage to the health of consumers. Thus, this study aimed to evaluate the microbiological and microscopic quality of artisanal colonial cheese

commercialized informally in the Northwest region of RS. For this, microbiological analyzes of total and thermo tolerant coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus*, and *Salmonella* were carried out and microscopic evaluation through the technique of fresh examination in colonial cheese from producers in four municipalities, named here as Municipality A, B, C and D. Only two producers, of the 15 analyzed, produce colonial cheese in satisfactory conditions and with acceptable quality, according to the legislation, and 60% of the samples analyzed were unsatisfactory with unacceptable quality. One sample showed *Salmonella*. Only one sample did not show visible dirt while 90% of the samples evaluated showed foreign matter, demonstrating the importance of applying Good Food Handling and Manufacturing Practices. At the end of the research, it was concluded that it is necessary to provide more and better training to producers regarding the correct form of production, storage, and transport to guarantee the quality and food safety of consumers.

**KEYWORDS:** Artisan cheese; dirtiness; food security; *Salmonella*; *Staphylococcus*.

## 1 | INTRODUÇÃO

Grande parte dos queijos produzidos no Brasil são do tipo mussarela, prato e requeijão culinário, chegando a 70% de todo queijo produzido no país (SEBRAE, 2014). No entanto, inúmeros motivos vem despertando o interesse dos consumidores por produtos mais artesanais. Segundo Rego et al., (2014) a qualidade sensorial, a ligação com o produtor, o prestígio proporcionado pelo produto, a satisfação de conhecer a procedência e o modo de fabricação, bem como, a valorização das receitas antigas e as técnicas de produção, estão entre os principais motivos.

Os dados do censo agropecuário de 2017 do Rio Grande do Sul demonstram que 32 mil produtores produziram algum tipo de queijo em seu estabelecimento rural, sendo comercializados aproximadamente 6.581 toneladas do produto (IBGE, 2019). Diante deste cenário, Ambrosini et al. (2020) afirmam que a produção caseira de produtos lácteos, em especial de queijos artesanais, vem superando todo o volume que integra os sistemas de inspeção.

No Brasil, por exemplo, a demanda por queijos artesanais frescos ou de baixa maturação (meia cura) ainda é maior do que a demanda por queijos maturados (PIMENTEL et al., 2017). Segundo estudo realizado por Mariot (2002) os consumidores optam por produtos coloniais ou artesanais por julgá-los mais saudáveis, além do sabor e origem conhecida. Da mesma forma, Silveira e Trevisan (2007) concluíram que 95% dos consumidores julga que a qualidade do queijo colonial artesanal seria mais elevada que a do queijo não artesanal. Cabe ressaltar que a forma artesanal de produção diz respeito ao processo utilizado na elaboração. Este deve ser em pequena escala e com características tradicionais.

No Rio Grande do Sul, o queijo colonial é produzido desde meados do século 19, tendo sua origem nas comunidades de descendentes de imigrantes, especialmente italianos

e alemães (AMBROSINI et al., 2020; PIMENTEL et al., 2017). É produzido com leite cru (PAIM; BORATTO, 2021; TAVARES et al., 2019) e na maioria das vezes comercializado sem maturação ou com baixa maturação. Geralmente apresenta coloração externa amarela e textura dura e internamente é elástico e com sabor levemente picante (PIMENTEL et al., 2017).

No entanto, no estado do RS a denominação colonial não está regulamentada (AMBROSINI et al., 2020). Porém, a portaria SEAPPA 55/2014 da Secretaria da Agricultura (RIO GRANDE do SUL, 2014) menciona “queijos artesanais tipo colônia” e permite a utilização de leite sem pasteurização para a produção destes tipos de queijos, desde que os processos tecnológicos estejam em conformidade com os requisitos dispostos pelo Ministério da Agricultura em relação à produção de queijo com leite cru. Todavia, entende-se que estes produtos artesanais, muitas vezes produzidos nas propriedades de pequenos agricultores de forma informal, sem inspeção sanitária, com o emprego de leite cru podem acabar sendo um risco de contaminações e na transmissão de patógenos e conseqüentemente doenças transmitidas por alimentos (DTAS) (PAIM; BARATTO, 2021; TAVARES et al., 2019; LUCAS et al., 2012).

Por tratar-se de um produto com alto teor de umidade, baixa maturação e por ser produzido com leite cru, os queijos coloniais são considerados os portadores mais comuns de patógenos (PAIM; BARATTO, 2021; BENINCÁ, 2021). Além disso, Germano (2015) e Paim e Baratto (2021) citam que a ingestão de queijos contaminados pode causar doenças como zoonoses (brucelose e tuberculose) até intoxicações alimentares, o que pode torná-los impróprios para o consumo.

Da mesma forma, a contaminação física representa um risco muitas vezes negligenciado. Há poucos trabalhos que trazem informações a respeito da contaminação por perigos físicos ou matérias estranhas em queijos, apesar de ser um aspecto considerado na legislação brasileira.

De acordo com a Resolução nº 623, de 9 de março de 2022 matéria estranha é todo aquele material que não faz parte da constituição do alimento e que está associado a práticas inadequadas de produção, manipulação, armazenamento e distribuição, podendo ser macroscópicas (visíveis a olho nu) ou microscópicas (visíveis com o auxílio de instrumentos ópticos com aumentos de pelo menos 30 vezes). Ainda segundo a RDC nº 623, os únicos contaminantes físicos permitidos em queijos são a areia (1,5% de areia ou cinzas insolúveis em ácido) e ácaros mortos. Estes últimos se dividem em queijos inteiros ou ralado onde o limite de tolerância é de 25 em 225g de queijo sólidos inteiro, onde o limite é 5 em 2,5 cm<sup>2</sup>. Dessa forma, qualquer outro tipo de contaminante, seja ele insetos (inteiros ou partes), pelos humanos ou de animais, animais vertebrados, partes vegetais e outros devem ser ausentes no produto final, independente se este foi produzido artesanalmente ou não.

Dos estudos que se tem conhecimento sobre este assunto, 100% deles encontraram

pelo menos uma matéria estranha indesejável em queijos (CORREIA et al., 1996; CORREIA; RONCADA, 1997; SOUZA et al., 2008; FERNANDES et al., 2011; LUCAS et al., 2012; PEREIRA et al., 2018) demonstrando ser uma prática recorrente e até então não solucionada.

Contudo, a preocupação com relação a presença de contaminantes físicos em queijo colonial está relacionada com a importância que estes têm nos hábitos de toda população, incluindo crianças, idosos, grávidas e enfermos (OLIVIERI, 2004). Assim, a contaminação deste assume uma relevância para a sociedade, ao considerar as alterações que podem acarretar nos produtos, bem como o risco de veiculação de agentes de toxinfecções alimentares.

Mesmo com todo este cenário, os queijos artesanais e/ou colonial são amplamente consumidos na região noroeste do Rio Grande do Sul. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica e microscópica de queijos coloniais vendidos de forma informal em quatro municípios do Noroeste do Estado do RS durante o primeiro semestre de 2022.

## 2 | METODOLOGIA

O trabalho caracterizou-se como sendo uma pesquisa de abordagem qualitativa com caráter descritivo-exploratório. Quanto aos procedimentos adotados, utilizou-se o laboratorial com o objetivo de analisar e quantificar os microrganismos patogênicos e as sujidades visíveis presentes nas amostras de queijo colonial.

### 2.1 Amostras de queijo

As coletas e as avaliações microbiológicas e microscópicas das amostras foram realizadas durante o primeiro semestre de 2022. Para isso, as amostras foram adquiridas, na condição de consumidor diretamente com os produtores de queijo colonial de quatro municípios localizados na região Noroeste do Rio Grande do Sul (Município A, Município B, Município C e Município D). Todas as amostras eram produzidas artesanalmente, pois não apresentavam selo de certificação ou inspeção.

No total foram 15 amostras coletadas e avaliadas. Sendo do Município A cinco amostras (produtor 1 e 2 duas amostras de cada um, com um intervalo de tempo de 40 dias e do produtor 3 apenas 1 amostra). No Município B foram adquiridas duas amostras de um único produtor, com intervalo de 35 dias. Do Município C foram quatro amostras (produtor 1 e 2 duas amostras de cada um, com um intervalo de tempo de 14 dias) e do Município D foram coletadas e avaliadas quatro amostras (produtor 1 e 2 duas amostras de cada um, com um intervalo de tempo de 40 dias).

As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas, imediatamente, para o Laboratório de microbiologia da Faculdade Horizontina, conforme as orientações contidas no Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e

água de Da Silva et al., (2017).

## 2.2 Análises microbiológicas

Em função da classificação do queijo colonial se enquadrar como sendo queijo de média umidade, as análises exigidas pela Instrução Normativa nº 161 de 01 de julho de 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2022) correspondem à contagem de coliformes termotolerantes (*E. coli*), *Staphylococcus coagulase positiva* e *Salmonella sp.*

As metodologias de análise adotadas foram as descritas por Da Silva et al., (2017) e a preparação das amostras, seguiu os passos de higienização da embalagem, pesagem da unidade analítica e homogeneização em *stomacher* por 1 minuto.

### 2.2.1 Avaliação de Coliformes totais e termotolerantes

Foi pesado em saco estéril uma amostra de 11g de queijo e foi diluída em 99 mL de água peptonada 0,1% (sendo essa a diluição  $10^{-1}$ ). Em seguida realizou-se suas diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

As análises de coliformes foram realizadas pela técnica de fermentação em tubos múltiplos. Para os testes de coliformes, volumes de 1 mL das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  foram inoculados em triplicata em séries de três tubos contendo 10 mL de Caldo Lauril Triptose (LST) contendo um tubo de Durham invertido. O LST contém lactose e a observação de crescimento com produção de gás a partir da lactose se dá após 24 - 48h de incubação a 35°C, e é tida como suspeita da presença de coliformes totais.

Para a confirmação dos coliformes totais e termotolerantes, uma alçada de cada tubo suspeito (com formação de gás e aparência turva) foi transferida para tubos contendo 10 mL de Caldo Verde Brilhante Bile 2% (VB) e então incubados por 24 horas a 35°C. A observação de crescimento com produção de gás nos tubos de VB, é considerada confirmativa da presença de coliformes totais. Dos tubos com característica confirmativa foi transferida uma alçada para tubos contendo 10 mL Caldo *E. coli* (EC) e então incubadas por mais 24 horas a 45°C. O crescimento com produção de gás nos tubos de EC, foram considerados confirmativos da presença de coliformes termotolerantes.

### 2.2.2 Avaliação de *Staphylococcus coagulase positiva*

Foi pesado em saco estéril uma amostra de 11g de queijo e foi diluída em 99 mL de água peptonada 0,1% (sendo essa a diluição  $10^{-1}$ ). Em seguida realizou-se suas diluições  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada 0,1%.

Das diluições  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  foi inoculado 0,1 mL de cada diluição na superfície de placas contendo Ágar Baird-Parker (BP). Utilizou-se a técnica de espalhamento em superfície e foi aguardado até que as placas estivessem completamente secas e então

incubadas invertidas, a 35°C por 48h.

Após incubação foi realizada a contagem das colônias típicas de *S.aureus*, estas apresentam formato circular, coloração preta ou cinza, com 2-3mm de diâmetro, lisas, com bordas, rodeadas por uma zona opaca e, regularmente, contendo um halo transparente. Destas colônias foram selecionadas 2 colônias típicas para realizar o teste de coagulase. Para o teste de coagulase, foi transferido a colônia com auxílio de uma alça para um tubo contendo Caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), e então incubados a 35°C por 24h. Após o tempo de incubação foi realizado o teste de coagulase, transferindo 0,2 ml de cada cultura obtida em BHI, para um tubo estéril. A este tubo foi adicionado 0,5 ml de Coagulase Plasma EDTA (plasma de coelho com EDTA) e incubado a 35°C, observando frequentemente até um período máximo de seis horas. A cada observação foi cuidado para não agitar os tubos, para que não causasse o rompimento do coágulo. Ao final do tempo decorrido, foi observado a formação ou não de coágulo, inclinando o tubo. Para isso, foi utilizado uma amostra positiva para *S.aureus*, para fazer a comparação com as amostras de queijo, facilitando a visualização de tubos positivos ou negativos.

### 2.2.3 *Salmonella sp.*

Para análises de *Salmonella*, foi pesado 25g de amostra de queijo em saco estéril e diluído em 225 mL de água peptonada tamponada. O saco contendo a porção de 25g da amostra e 225 mL de água peptonada foi homogeneizado em *stomaker* por 1 minuto e fechado bem com fita e grampo e então levado para estufa de incubação por 24h a 35°C. Após a incubação foi transferido 0,1 ml para um tubo contendo 10 ml de Caldo Rappaport-Vassiliadis Modificado (RVS) e 1 ml para outro tubo contendo 10 ml de Caldo Tetracionato (TT) (enriquecido com 2 mL de solução de iodo). Então foi incubado o RVS a 42 °C e o TT a 35°C ambos por 24 horas.

Após as 24h os tubos foram agitados e estriados (estrias de esgotamento), pegando uma alçada do caldo TT, em placas de Ágar Entérico de Hectoen (HE), e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD). Repetindo esse procedimento com o caldo RVS. As placas foram incubadas invertidas a 35 ± 2°C 24h. Após o período foi verificado se houve desenvolvimento de colônias típicas de *Salmonella*. No ágar HE as colônias apresentam-se transparentes, verde-azuladas, com ou sem centro preto. Em Ágar XLD as colônias são cor de rosa escuro, com centro preto e uma zona avermelhada levemente transparente em redor.

Depois de 24h foi feita a confirmação preliminar das colônias típicas de *Salmonella*. Quando apresentou colônias típicas foi selecionado duas colônias típicas de cada placa, para confirmação preliminar. Se não apresentou colônias típicas, foi selecionado as atípicas com características descritas nas observações acima. Com o auxílio de uma agulha de inoculação, foi tocado levemente no centro da colônia e inoculado em um tubo contendo Ágar Tríplice Açúcar Ferro (TSI) inclinado, por estrias na rampa e picada no fundo. Com o

mesmo inóculo, sem flambar a agulha, foi inoculado a cultura em um tubo de Ágar Lisina Ferro (LIA), com duas picadas no fundo e estrias na rampa e incubar os tubos a  $35 \pm 2^\circ\text{C}/24 \pm 2\text{h}$ .

Seguido o período de incubação, foi observado se houve ocorrência de reação típica de *Salmonella*: nos tubos de TSI a rampa deve ser vermelha e com fundo amarelo, com ou sem produção de  $\text{H}_2\text{S}$ . Nos tubos contendo LIA o fundo e rampa roxo, sem apresentar alteração da cor do meio, com ou sem produção de  $\text{H}_2\text{S}$ .

### 2.3 Avaliação microscópica

As avaliações microscópicas foram realizadas no laboratório de microbiologia e microscopia da Faculdade Horizontina - FAHOR. Devido ao fato das amostras apresentarem elevado número visível de sujidades, optou-se pela realização da técnica do exame a fresco (PIRES et al., 2014). Nesta técnica, a sujidade é retirada da amostra e é observada diretamente em microscópio estereoscópio e/ou microscópio óptico, com ampliações de até 40x, sem sofrer qualquer tipo de tratamento.

### 2.4 Avaliação Do Teor De Umidade

O teor de umidade dos queijos coloniais foi determinado através do método gravimétrico que consiste na medida da perda de água por secagem direta em estufa a  $105^\circ\text{C}$  até peso constante, segundo metodologia descrita nos Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos 012/IV do IAL (2008).

### 2.5 Análise dos dados

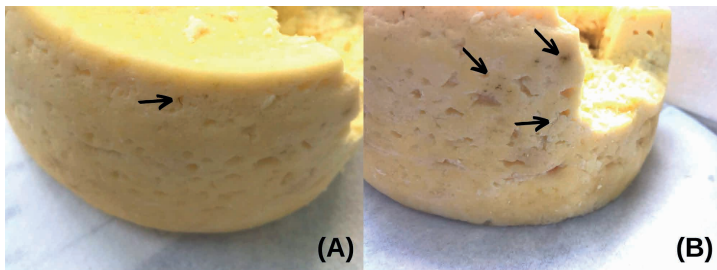
Os resultados das avaliações microbiológicas foram expressos conforme a Resolução RDC nº 724 de 01 de julho de 2022 da ANVISA (BRASIL 2022a) e seus padrões comparados com a IN nº 161 de 01 de julho de 2022 (BRASIL, 2022b).

Os materiais estranhos localizados tanto internamente quanto externamente foram retirados, com o auxílio de uma pinça de ponta fina, contados e o resultado apresentado como o somatório das sujidades para cada amostra.

## 3 | RESULTADOS

Após a determinação do teor de umidade dos produtos, constatou-se que todas as amostras encaixaram-se no teor de umidade entre 46% e 55%, ou seja, são considerados queijos de alta umidade (massa branda ou macios) (BRASIL, 1996).

Apesar da boa aparência visual de grande parte das amostras, mais de 90% delas continham algum tipo de sujidade ou material estranho visível. Na Figura 1 pode-se ver claramente uma destas amostras que apresentavam sujidades visíveis.

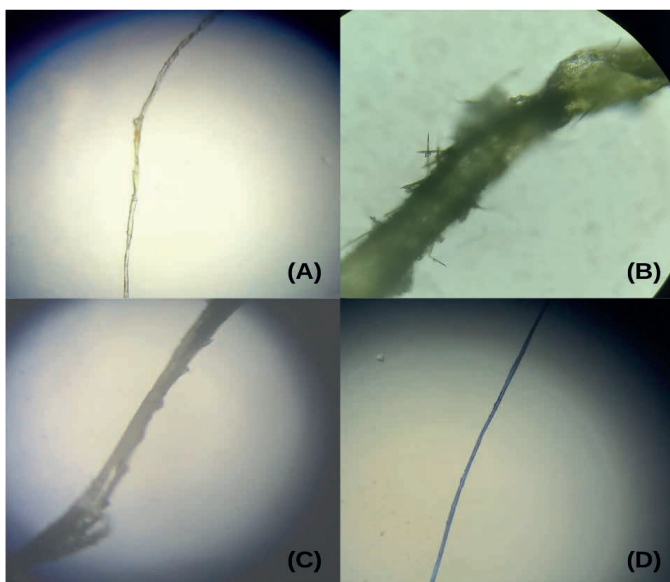


Legenda: (A) Fragmento de inseto. (B) Cabelo e pontos pretos (provavelmente fungos).

Figura 1 - Imagens de matérias estranhas em queijo colonial vendido informalmente na região Noroeste do RS.

No Quadro 1 estão apresentados os somatários das contagens, interna e externa, de matérias estranhas das amostras de queijo colonial avaliada. Apenas uma amostra, do produtor 2 do Município D, não foi observada a presença de qualquer tipo de sujeira visível. Nas demais amostras, verificou-se a presença de inúmeros fragmentos estranhos, desde pelos de animais, cabelos, insetos e fibra sintética (Quadro 1).

Da mesma forma, quantificou-se a presença de fragmentos de insetos não identificados (Quadro 1 e Figura 2) em 53% das amostras e a presença de fibra sintética em 80% das amostras avaliadas.



Legenda: (A) Fragmento de pelo de animal não identificado. (B) e (C) Fragmento de inseto não identificado. (D) Fragmento de fibra sintética.

Figura 2 - Imagens de algumas matérias estranhas detectadas em queijo colonial obtidas em microscópio óptico.



Apenas as amostras de um produtor do Município D não apresentaram pelo ou cabelo, enquanto que nos produtos oriundos dos produtores dos Municípios B (amostra 1/a) e Município C (amostra 1/a) estes números foram de 13 e 7 fragmentos, respectivamente.

A presença de pontos pretos e marrons pôde ser visualizada em 20% das amostras.

Município	Produtor / coleta	Números encontrados por amostra			
		Fragmentos de pelos de animais/ cabelos	Fragmentos de insetos	Fibra Sintética	Ponto preto /Ponto Marrom
A	1/a	5	-	8	-
	1/b	3	3	7	4
	2/a	5	1	-	-
	2/b	2	2	-	-
	3/a	2	-	2	-
B	1/a	13	15	5	>50
	1/b	3	4	2	-
C	1/a	7	-	2	-
	1/b	5	3	3	-
	2/a	5	2	5	-
	2/b	4	-	2	8
D	1/a	3	2	>70	-
	1/b	5	-	3	-
	2/a	-	-	2	-
	2/b	-	-	-	-

Quadro 1 - Resultados macroscópicos obtidos nas análises de queijos coloniais comercializados de forma informal na região Noroeste do RS. 1º semestre de 2022.

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas encontram-se no Quadro 2. Considerando os padrões estabelecidos pela Instrução Normativa nº 161 de 01 de julho de 2022, nove (60%) amostras estavam insatisfatórias com qualidade inaceitável, ou seja, com pelo menos um parâmetro alterado. Das 15 amostras avaliadas, apenas uma apresentou dois parâmetros alterados (Município B - 1/b). Quatro amostras (27%) apresentaram *Staphylococcus coagulase* positiva (amostra 2/a do Município C, e as amostras 1/b, 2/a e 2/b do Município D) e uma amostra (7%) (1/b do Município B) apresentou *Salmonella*.

Ainda considerando os parâmetros da IN nº 161, pode-se dizer que dois produtores produzem queijo colonial em condições satisfatórias e com qualidade aceitável, o produtor 1 do Município A e o produtor 1 do Município C.

A avaliação de coliformes totais não consta na instrução normativa, porém, mesmo

assim, optou-se por demonstrar os resultados obtidos por se tratar de um indicativo de condições higiênicas. Deste aspecto, percebe-se que 87% das amostras apresentaram altas contagens de coliformes totais.

Município	Produtor/ coleta	Valor encontrado por amostra			
		Enumeração			Detecção
		UFC/g		NMP/ml	em 25g
		Coliformes Totais	Coliformes Termotolerantes	<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	<i>Salmonella sp.</i>
A	1/a	9,3x10 <sup>1</sup>	<3.0	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	1/b	2,4x10 <sup>1</sup>	<3.0	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	2/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>3nc</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	2/b	>1,1x10 <sup>3</sup>	>1,1x10 <sup>3nc</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	3/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	1,5x10 <sup>3nc</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
B	1/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	<3.0	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	1/b	>1,1x10 <sup>3</sup>	1,1x10 <sup>3nc</sup>	<10 <sup>2</sup>	PRESENTE
C	1/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	2,8x10 <sup>1</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	1/b	>1,1x10 <sup>3</sup>	9,3x10 <sup>1</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	2/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	9,3x10 <sup>1</sup>	3,8x10 <sup>5nc</sup>	AUSENTE
	2/b	>1,1x10 <sup>3</sup>	9,3x10 <sup>1</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
D	1/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	2,4x10 <sup>3nc</sup>	<10 <sup>2</sup>	AUSENTE
	1/b	>1,1x10 <sup>3</sup>	<3.0	7,0x10 <sup>4nc</sup>	AUSENTE
	2/a	>1,1x10 <sup>3</sup>	<3.0	1,4x10 <sup>6nc</sup>	AUSENTE
	2/b	>1,1x10 <sup>3</sup>	2,8x10 <sup>1</sup>	2,12x10 <sup>6nc</sup>	AUSENTE
<b>Padrão microbiológico IN nº 161 – número máximo permitido</b>		-	1,0 x 10 <sup>3</sup>	1,0 x 10 <sup>3</sup>	AUSENTE
<b>Porcentagem de amostras não conformes</b>		-	33%	27%	7%

Legenda: nc = não conforme

Quadro 2 - Resultados microbiológicos obtidos nas análises de queijos coloniais comercializados de forma informal na região Noroeste do RS.

Observou-se ainda uma relação entre a contaminação microbiológica com a presença de sujidades, indicando que quanto maior for a quantidade de sujidades encontrada, maior será a contagem microbiana.

## 4 | DISCUSSÃO

O queijo colonial não tem um regulamento técnico com informações de identidade e qualidade, uma vez que é caracterizado como queijo artesanal e, por tanto, tem suas características variáveis conforme a região onde é produzido. Para Lucas et al. (2012) é um queijo muito semelhante ao queijo Minas Padrão, porém com um tempo de maturação maior.

O teor de umidade, constatou que as amostras se encaixaram como queijos de alta umidade conforme o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) (BRASIL, 1996), assim como nos estudos com queijo colonial de Fernandes et al. (2011), Lucas et al. (2012) e Tavares et al., (2019). A umidade dos queijos, segundo Fernandes et al. (2011) é um indicio de maturação. A falta de maturação relacionada diretamente com a alta umidade e atividade de água interferem na multiplicação microbiana, principalmente daqueles microrganismos patogênicos, fator de risco para quem a consome. Da Silva et al. (2016) mostraram em seu trabalho que os queijos com maiores níveis de contaminação também eram aqueles com maiores teores de umidade. Da mesma forma, o estudo realizado por Tamankievies e Zampieron (2019) demonstraram que queijos frescos apresentam contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do permitido, enquanto que os queijos que foram maturados por 60 dias não apresentaram contaminação por estes microrganismos, demonstrando que a maturação é eficiente no controle de microrganismos patogênicos. Também, Brant et al. (2007) detectaram diminuição na contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva após os queijos permanecerem estocados por 30 dias.

Logo, um dos pontos que se pode concluir é que os produtores precisam obrigatoriamente respeitar o processo de maturação, de pelo menos 60 dias, como preconiza a legislação (BRASIL, 1996), pois desta forma poderiam diminuir a chance de crescimento e contaminação microbiana.

Considerando os resultados obtidos para a avaliação microscópica observou-se um grande número de sujidades visíveis nos produtos. Segundo a Resolução nº 623, de 9 de março de 2022, os queijos não devem apresentar qualquer material estranho que possam ser indicativos de riscos à saúde humana, sejam eles macroscópicos ou microscópicos, como por exemplo partes de insetos (vivos ou mortos), roedores e outros animais (inteiros ou em partes), excrementos de animais, parasitos, objetos rígidos, pontiagudos ou cortantes maiores ou iguais a 7 mm e objetos rígidos com diâmetro igual ou superior a 2 mm. Além disso, a Resolução prevê que a presença de pelos humanos e/ou de animais (Figura 2) são indicativos de falhas das Boas Práticas, o que pôde ser observado em 86% das amostras avaliadas no presente estudo.

Para Lucas et al. (2012) a presença de fragmentos de insetos e pelos de animais, por exemplo, se deve ao fato dos produtos artesanais não possuírem embalagem, o que os torna mais vulneráveis à contaminação por materiais estranhos. Em contrapartida,

Fernandes et al. (2011) atribuem a presença de pelos, tanto humanos quanto de animais e de insetos pela falta de boas práticas de fabricação e manipulação e a presença de fragmentos de tecido ou fibra sintética pela utilização de tecido de fácil fragmentação para a filtração do leite e enformagem.

A origem de pontos pretos e marrons, segundo Fernandes et al. (2011), pode estar associada a uma ordenha em condições insatisfatórias (materiais terrosos suspensos) ou mesmo pelo uso incorreto dos materiais e equipamentos.

Trabalhos semelhantes vêm sendo realizados há bastante tempo, mostrando que a pesquisa de materiais estranhos é tão importante quanto as pesquisas sobre contaminação microbiológica. Em 1997, Correia e Roncada haviam identificado que 75,9% dos queijos comercializados em feiras livres da cidade de São Paulo continham pelo menos um tipo de material estranho, sendo resíduo vegetal e pelos de vaca os mais presentes. Similarmente, Souza et al. (2008) identificou que 100% das amostras de queijo Minas Frescal comercializadas no Rio de Janeiro continham materiais estranhos e sujidades. Pereira et al. (2018) avaliando queijo artesanal Serrano observou que as sujidades estavam presentes em 100% das amostras analisadas com prevalência de fibras sintéticas, insetos e pelos.

No entanto, sabe-se que, por se tratar de queijo colonial comercializado informalmente, estes não possuem fiscalização e conseqüentemente não possuem padronização nem normas de fabricação. Além do fato de muitos produtores nunca terem tido treinamento sobre a manipulação e produção de alimentos, o que acaba refletindo na qualidade dos produtos.

Algumas das sujidades identificadas podem não estar associadas diretamente à ocorrência de toxinfecções alimentares, porém provocam “repulsa” nos consumidores, prejudicando muito a imagem do produto e do produtor.

Assim, se considerarmos a Resolução, todas as amostras avaliadas estariam em desacordo com a legislação, pois além de apresentarem matérias estranhas indicativas de falhas das boas práticas, encontrou-se indícios de sujidade que são veículos de riscos à saúde humana, como os fragmentos de insetos.

Com relação às contaminações microbiológicas propriamente ditas, a legislação brasileira estabelece os parâmetros justamente de acordo com a classificação do teor de umidade do queijo. Assim, para queijos com umidade entre 46% e 55%, que é onde os queijos coloniais comercializados geralmente se enquadram, os limites máximos permitidos para *E.coli*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp. são de  $1,0 \times 10^3$  UFC/g,  $1,0 \times 10^3$  UFC/g e ausência em 25g, respectivamente.

É de conhecimento comum que inúmeros são os fatores que levam a contaminação de queijos produzidos artesanalmente, desde casos de mastite, falta de higiene na ordenha, equipamentos e instalações, falta de higiene durante a produção e no armazenamento além de transporte inadequado e exposição e manuseio impróprio durante a comercialização.

A etapa de comercialização, no entanto, é considerada um ponto crítico por

Amaral et al. (2020) e Paim e Baratto (2021) pois por tratar-se de produtos produzidos e comercializados pelos pequenos agricultores, estes não possuem equipamentos de refrigeração para o transporte nem protegem os produtos do calor e da luz solar. Em muitos casos, o que se observa, é que os queijos são transportados dentro de caixas de papel juntamente com outros produtos produzidos pelos agricultores ou mesmo sobre os bancos dos carros, somente envoltos com sacos plásticos de polietileno. Amaral et al. (2020) ressaltam em seu estudo que 67% das amostras de queijo avaliadas não eram mantidas sob refrigeração e estavam próximas a outros produtos como carnes, ovos e hortaliças, o que pode ter contribuído para o aumento das contaminações. Além disso, durante o processo de venda, tanto o produtor quanto o comprador manipulam o produto ao mesmo tempo que manipulam o dinheiro, estando ambos privados de equipamentos de proteção individual.

Assim como no presente estudo, Paim e Baratto (2021) identificaram que das 18 amostras analisadas, 38,89% não estavam conformes em pelo menos um dos parâmetros microbiológicos, ou seja, estavam impróprios para o consumo. E, das 30 amostras de queijo colonial analisadas por Tavares et al. (2019) apenas 13,33% estavam de acordo com os parâmetros microbiológicos enquanto que 86,66% foram consideradas fora do padrão aceitável. Além disso, 38,46% dos queijos avaliados por Tavares e colaboradores estavam com pelo menos dois parâmetros alterados, superior ao determinado no presente estudo (27%).

Apesar da IN nº 161 não informar os limites máximos permitidos de coliformes totais (35 °C) nos queijos, conforme já mencionado anteriormente, estes microrganismos são considerados importantes indicadores de higiene. A presença de bactérias do grupo coliformes indica falha no processo ou recontaminação após o processamento, sendo um indicador das condições sanitárias (LUCAS et al., 2012; PAIM; BARATTO, 2021). Assim, como no presente estudo, onde 87% das amostras apresentaram contaminação por este patógeno, o estudo de Villas Boas et al. (2020) quantificaram 100% das amostras contaminadas, tanto de queijos artesanais quanto de queijos industrializados e Lucas et al. (2012) verificaram que 87,5% dos queijos coloniais estavam com contagens acima de 10<sup>6</sup> UFC/g.

Entretanto, os coliformes termotolerantes (45 °C) indicam contaminação de origem fecal, sendo o *E. coli* o principal causador de DTAs (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Dessa forma, grandes contagens evidenciam o alto risco de consumo do alimento. Estudos como os de Lucas et al. (2012), Tavares et al., (2019) e Paim e Baratto (2021) obtiveram 62,5%, 43,33% e 27,78% das amostras não conformes ou acima do limite máximo permitido pela legislação, respectivamente, assim como no presente estudo. Estes dados demonstram que este é um problema recorrente e preocupante, devendo ser, portanto, foco de qualificações junto aos produtores.

Em relação ao *Staphylococcus* coagulase positiva, vários estudos demonstram a

presença deste microrganismo em queijos oriundos de produtores artesanais (TAVARES et al., 2019; VILLAS BOAS et al., 2020; PAIM; BARATTO, 2021; BENINCÁ, 2021). Nos estudos citados os autores chegaram a quantificar de 33% à 80% das amostras provenientes de produtores artesanais com a bactéria em questão. Como o *Staphylococcus aureus* é um microrganismo que faz parte da microbiota da nossa pele e mucosas, sua presença nos alimentos pode ser atribuída à falhas durante o processamento ou mesmo após, durante o manuseio para armazenamento e transporte (PAIM; BARATTO, 2021). Cabe ressaltar que populações de *Staphylococcus* coagulase positiva acima de  $10^5$  UFC/g tem maior capacidade de produzir toxinas estafilocócicas (FDA, 2012). Logo, duas das amostras analisadas, uma do produtor 2 de Boa Vista do Buricá e uma do produtor 1 e duas do produtor 2 de Horizontina, poderiam apresentar grande risco à saúde de quem consumiu o produto.

Outro aspecto relevante, apresentado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2018), diz respeito aos surtos de DTAs entre os anos de 2009 a 2018. Segundo o Ministério, neste período, foram relatados 2.350 surtos de doenças transmitidas por alimentos, sendo 7,80% envolvendo leite e derivados. O Ministério revelou ainda que dentre os microrganismos identificados como causadores, em 1º lugar tem-se a *E. coli*, presente em 23,40% dos casos e em 3º lugar o *Staphylococcus aureus*, em 9,40%. No Rio Grande do Sul quem relata situação semelhante é Lima et al. (2013), porém durante os anos de 2000 e 2002. Durante este período, Lima e colaboradores citam que foram registrados 57 surtos de doenças transmitidas por alimentos onde o agente causador da doença foi o *Staphylococcus aureus*. Estes surtos, segundo os autores citados, atingiram 1.222 pessoas. Assim, pode-se dizer que este é um dos principais agentes causadores de doenças de origem alimentar (TAVARES et al., 2019).

A determinação de *Salmonella* sp. no presente estudo foi detectada apenas em uma amostra, na segunda coleta do produtor de Independência (Quadro 2). A Instrução Normativa nº 161 é bem clara quando diz que o padrão é a ausência do microrganismo em 25 g de produto. A maioria dos estudos de queijos coloniais ou artesanais não detectaram a presença de *Salmonella* em suas amostras, como os casos dos estudos de Lucas et al. (2012), Tavares et al. (2019) e Paim e Baratto (2021). Há estudos demonstrando que altas concentrações de bactérias ácido-láticas, presente no leite cru, afetam a *Salmonella* sp., provocando atividade antagonista (NERO et al., 2009; MELO et al., 2013). Já no estudo de Villas Boas et al. (2020) os autores detectaram *Salmonella* em amostras de 3 produtores rurais dos cinco produtores avaliados. Os autores atribuem tal fato a formação de biofilmes provenientes da má higienização e sanitização dos equipamentos, utensílios e superfícies que entram em contato com o produto durante o processo produtivo.

Apesar de haver contaminação microbiológica em 60% das amostras avaliadas, a produção e comercialização do queijo colonial é de extrema importância para os pequenos produtores de leite que viram neste nicho de mercado uma grande oportunidade de gerar

renda extra, conforme pôde-se observar através das falas dos produtores transcritas no corpo do trabalho. Além disso, fica evidente que devido ao fato do “saber-fazer” passado ao longo do tempo, torna-os patrimônio das comunidades que produzem (AMBROSINI et al., 2020). Outrossim, Ambrosini e colaboradores afirmam que o consumo de queijo colonial ativaria os valores de consumo funcionais, emocionais e sociais.

Por outro lado, tem-se a perspectiva dos consumidores que apreciam o fato do queijo colonial ser um alimento de produção artesanal, ignorando a gravidade de consumir um produto que não passou por nenhum controle sanitário (TAVARES et al., 2019). Da mesma forma, Ambrosini et al. (2020, p. 215) relata que as principais motivações para o consumo de queijo colonial são o sabor, apoiar a economia local, valorização da forma de produção (artesanalmente) e o benefício ao meio ambiente.

No entanto, por mais relevante que seja a produção e comercialização deste tipo de produto, tanto para os produtores quanto para a sociedade, identifica-se a necessidade de regulamentação técnica específica, além de maiores investimentos em assistência técnica com o objetivo de promover maiores informações e orientações sobre as boas práticas de produção, manipulação e higiene. Somente com ações de apoio aos produtores é que poderão ser produzidos queijos coloniais artesanais de qualidade, sem colocar em risco a saúde dos consumidores.

## 5 | CONCLUSÃO

Somente dois produtores avaliados fornecem queijos em condições satisfatórias e com qualidade aceitável, segundo a legislação vigente.

Visualmente, 90% dos queijos avaliados neste trabalho apresentaram-se fora dos padrões estabelecidos pela legislação para contaminantes físicos, estando impróprio para o consumo.

Os produtores precisam respeitar o processo de maturação, de pelo menos 60 dias o que diminui as chances de crescimento e contaminação microbiana.

Por se tratar de queijos sendo comercializados informalmente, percebe-se a necessidade de mais e melhores capacitação aos produtores com relação a forma correta de produção, armazenamento e transporte, além de políticas que visem a conscientização e a capacitação dos produtores para que desta forma estes tenham condições de produzir queijos com maior qualidade e segurança alimentar aos consumidores.

## REFERÊNCIAS

AMARAL, José Wilker et al. Avaliação da qualidade de queijos de produção informal. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 27, p. e020016-e020016, 2020.

AMBROSINI, L. et al. Sabor, história e economia local: percepções dos consumidores gaúchos sobre o Queijo Colonial. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, v. 26, n. 1, p. 201-221. 2020.

BENINCÁ, T. Queijo colonial artesanal no Vale do Taquari: numa perspectiva social, sanitária e microbiológica. Orientador: Voltaire Sant'Anna. 85 f. Dissertação (Mestrado) - Mestrado Profissional em Ambiente e Sustentabilidade, Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Unidade Hortênsias, 2021.

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, p. 1570-1574, 2007.

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Inspeção de Produtos de Origem Animal. **Portaria n. 146, de 07 de março de 1996**. Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre os limites de tolerância para matérias estranhas em alimentos, os princípios gerais para seu estabelecimento e os métodos de análise para fins de avaliação de conformidades. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 623**, de 09 de março de 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação. **Resolução da Diretoria Colegiada nº 724**, de 01 de julho de 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. **Instrução normativa nº 161**, de 01 de julho de 2022. 2022b.

BRASIL. Secretaria Geral. **Lei nº 13.680 de 14 de junho de 2018**. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal.

CORREIA, M.; GERMANO, P. M. L.; RONCADA, M. J. Incidência de matérias estranhas em queijos de feiras livres da cidade de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 56, n. 2, p. 47-52, 1996.

CORREIA, M.; RONCADA, M. J. Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em feiras livres da Cidade de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 3, p. 296-301, 1997.

DA SILVA, FRANCIELE et al. Qualidade microbiológica e físico-química de queijos coloniais com e sem inspeção, comercializados no sudoeste do Paraná. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 33, n. 2, 2016.

DA SILVA, N. D. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher, 2017.

FERNANDES, R.V.B 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, 2011.

FRANCO, B.D.G.M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2008. 182 p.



GERMANO, P. M. L. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**: qualidade das matérias primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. 5. ed. Barueri: Manole, 2015.

IAL, Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). **Métodos físico-químicos para análise de alimentos** / coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea -- São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008.

IBGE – Instituto Brasileiro De Geografia E Estatística. **Censo Agropecuário 2017**. Rio de Janeiro: IBGE, 2019.

LIMA, G. C. et al. Avaliar os dados epidemiológicos da intoxicação alimentar por *Staphylococcus aureus* ocorrida no Estado do Rio Grande do Sul, Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Microbiologia**, v. 44, p. 759-763, 2013.

LUCAS, Shaiane DM et al. Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de Medianeira-PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 386, p. 38-44, 2012.

MARIOT, E. J. Produtos agroalimentares típicos (colonial): situação e perspectivas de valorização no município de Urussanga, Santa Catarina, Brasil. 2002. 115p. **Dissertação** (Mestrado em Gestão do Desenvolvimento Rural) - Programa Internacional em Gestão do Desenvolvimento Rural. Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Universidade de Santiago de Compostela, Vila Real, 2002.

MELO, F. D. et al. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas eo período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, n. 1, p. 1-7, 2013.

MICRO, SERVIÇO BRASILEIRO DE APOIO ÀS; EMPRESAS, E. PEQUENAS. Técnicas e boas práticas na produção de queijo. 2014. 6p. **Available from: [http://www.sebraemercados.com.br/wp-content/uploads/2015/12/2014\\_02\\_27\\_RT\\_Agron\\_QueijoIN30\\_pdf.pdf](http://www.sebraemercados.com.br/wp-content/uploads/2015/12/2014_02_27_RT_Agron_QueijoIN30_pdf.pdf)**. Accessed: Jul, v. 11, 2018.

NERO, L. A. et al. Autochthonous microbiota of raw milk with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes* and *salmonella enteritidis*. **Journal of Food Safety**, v. 29, n. 2, p. 261-270, 2009.

OLIVIERI, D. de A. **Avaliação da qualidade microbiológica de amostras de mercado de queijo mussarela, elaborado a partir de leite de búfala (*Bubalus bubalis*)**. 2004. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

PAIM, S. M.; BARATTO, C. M. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos coloniais comercializados em feira livre na cidade de Fraiburgo, SC. **Evidência**, p. 1-10, 2021.

PEREIRA, M. N. et al. Qualidade do queijo artesanal serrano catarinense quanto à contagem fúngica, aflatoxina M1 e sujidades. **Pubvet**, v. 12, p. 138, 2018.

PIMENTEL, T. C.; OLIVEIRA, M. N. de; CRUZ, A. G.da. Premiumização e Sensorialidade. *In*: ZACARCHENCO, P. B.; VAN DENDER, A. G. F.; REGO, R. A. (ed.). **Brasil Dairy Trends**. 1. ed. cap. 8, p. 211 - 239. Campinas: ITAL, 2017.

PIRES, C. B. M.; ALMEIDA, L. M. D.; COELHO, A. B. **Microscopia**: Contexto Histórico, Técnicas e Procedimentos para Observação de Amostras Biológicas. São Paulo: Editora Saraiva, 2014.

REGO, R. A.; RUFFI, C. R. G.; AUGUSTO, P. P. C. Premiumização e experiência. *In*: Queiroz, G.C.; Rego, R.A.; Jardim, D.C.P. (Ed.). **Brasil Bakery and Confectionery Trends** 2020. cap. 7, pp. 199-233. Campinas: ITAL, 2014.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura. Portaria nº 55. **Dispõe de normas técnicas relativas a instalações e equipamentos para microqueijarias**. Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul, 31 de mar. 2014.

SILVEIRA, P.R.C da; TREVISAN, A. P. A produção e comercialização de queijos coloniais: dinâmicas de validação social da qualidade. *In*: **Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural**. 2007.

TAMANKIEVIES GP, ZAMPIERON M. Caracterização da maturação do queijo colonial de leite cru produzido em São Miguel do Oeste – SC. **Tese**. São Miguel do Oeste: Instituto Federal de Santa Catarina; 2019. 30 p.

VILLAS BOAS, A. F. et al. Qualidade microbiológica de queijos minas frescal artesanais e industrializados. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 83536-83552, 2020.