

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n5a332.1-5>

## Detecção de *escherichia coli* pelo sistema petrifilm™ em queijo minas frescal embalados à vácuo

Anderson de Araújo Silva<sup>1\*</sup>, Bruno Campos Storti<sup>2</sup>, Márcia de Lima Ferreira<sup>1</sup>, Stefania Marcia de Oliveira Souza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduando em Medicina Veterinária, centro universitário ICESP, Águas Claras-DF, Brasil

<sup>2</sup>Médico veterinário, Brasília-DF, Brasil;

<sup>3</sup>Professora de Medicina Veterinária, Centro Universitário ICESP, Águas Claras-DF, Brasil,

\*Autor para correspondência, E-mail: [chrys.aa92@gmail.com](mailto:chrys.aa92@gmail.com)

**Resumo.** Queijo Minas Frescal é um alimento muito consumido no Brasil, muito perecível e susceptível a contaminação. Este trabalho teve como objetivo detectar a presença de *E. coli* através da técnica Petrifilm™ em produtos embalados à vácuo. Os resultados encontrados foram satisfatórios, pois na contagem de *E. coli* apenas duas unidades, 6,6% das amostras, apresentaram contagem superior ao permitido pela legislação, 63,3%, dezenove amostras, apresentaram contagem negativa e 30%, nove unidades apresentaram contagem para *E. coli* dentro do valor permitido. Já os coliformes totais também detectáveis pelo sistema Petrifilm™ mostraram um resultado preocupante quanto à qualidade higiênico-sanitária na fabricação dos queijos, onde 43,3%, treze amostras, apresentaram alta contagem de colônias e 56,7%, dezessete amostras, foram negativas. Esses resultados demonstram que, ainda há falhas no processo de fabricação, frisando à necessidade de controle em todos os pontos críticos de controle na indústria além de eficiente sistema de fiscalização

**Palavras chaves:** embalagem, qualidade higiênico-sanitária, coliformes

## *Detection system for escherichia coli petrifilm™ in cheese minas frescal packaged vacuum*

**Abstract.** Minas cheese is a food widely consumed in Brazil, very perishable and susceptible to contamination. This study aimed to detect the presence of *E. coli* by Petrifilm technique in vacuum packed products. The results were satisfactory, since the *E. coli* count only two units, 6.6% of the samples showed higher score than allowed by law, 63.3%, nineteen samples showed negative score and 30%, nine units had *E. coli* count within the allowable value. Already total coliforms also detectable by Petrifilm™ system showed a worrying result as the sanitary conditions in the manufacture of cheese, where 43.3%, thirteen samples showed high colony count and 56.7%, seventeen samples were negative. With these results it is concluded that despite efforts to maintain the quality, there are still flaws in the manufacturing process, stressing the need to control all critical control points in the industry as well as effective monitoring system.

**Keywords:** packaging, sanitary conditions, coliforms

## *DetECCIÓN de escherichia coli por el sistema petrifilm™ en queso Minas Frescal envasado al vacío*

**Resumen.** Queso Minas Frescal es un alimento muy consumido en Brasil, muy perecedero y susceptible a la contaminación. Este trabajo tuvo como objetivo detectar la presencia de

*E. coli* a través de la técnica petrifilm™ en productos envasados al vacío. Los resultados encontrados fueron satisfactorios, pues en el recuento de *E. coli* sólo dos unidades, el 6,6% de las muestras, presentaron un recuento superior al permitido por la legislación, el 63,3%, diecinueve muestras, presentaron conteo negativo y el 30%, nueve unidades presentaron cuenta para *E. coli* dentro del valor permitido. Los coliformes totales también detectables por el sistema petrifilm™ mostraron un resultado preocupante en cuanto a la calidad higiénico-sanitaria en la fabricación de los quesos, donde el 43,3%, trece muestras, presentaron un alto conteo de colonias y el 56,7%, diecisiete muestras, fueron negativas. Estos resultados demuestran que, todavía hay fallas en el proceso de fabricación, subrayando la necesidad de control en todos los puntos críticos de control en la industria además de eficiente sistema de fiscalización

**Palabras claves:** Embalaje, calidad higiénico-sanitaria, coliformes

## Introdução

Segundo a portaria n° 146, de 1996, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o queijo apresenta a seguinte definição:

*Entende-se por queijo produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes.*

Segundo o Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade do Queijo Minas Frescal “entende-se por Queijo Minas Frescal, o queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite com coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com ação de bactérias lácticas específicas” (Santos & Hoffmann, 2010).

O queijo Minas frescal é altamente susceptível, por ter umidade elevada e sofrer grande manipulação, possuindo condições favoráveis para contaminação (Câmara et al., 2002; Feitosa et al., 2016). Dentre os microrganismos que se encontra no ambiente, o grupo dos coliformes é a principal preocupação dos produtores e da indústria, pois representa uma das maiores fontes de contaminação para o queijo, sendo um grande indicador de qualidade higiénico-sanitária do leite/queijo, pois indica a contaminação pós-processamento, tratamento térmico ineficiente, maus procedimentos da indústria, ou má estocagem (Germano & Germano, 2008). Se destacando nesse grupo a *Escherichia coli* por seu alto poder patogênico (Mittelstaedt & Carvalho, 2006).

O presente estudo teve como objetivo, detectar a presença de *Escherichia coli* pelo sistema petrifilm™ em queijo minas frescal, embalados a vácuo, analisando a influência da embalagem no crescimento bacteriano.

## Materiais e métodos

Foram utilizadas 30 unidades de queijo Minas Frescal submetidos ao sistema de fiscalização federal (SIF), embalados a vácuo produzido industrialmente em instalações reconhecidas e autorizadas pelos órgãos competentes. As amostras foram recolhidas dentro do prazo de validade, estocadas sob-refrigeração até o momento das análises (4 graus). As amostras foram acondicionadas em caixas isotérmicas e transportadas imediatamente para o laboratório de microbiologia de alimentos do ICESP, as quais foram analisadas de acordo com a técnica Petrifilm™ *E. coli* e coliformes pelo método oficial AOAC 99114 de acordo com os procedimentos determinados pelo guia de interpretação, 3M™ Petrifilm.

De cada amostra de queijo foram retiradas asepticamente 25 gramas do produto com o auxílio de placa de Petri estéril e balança de precisão (Shimadzu, modelo: AX 200 Máx: 200g Min:0,01g), sendo transferidos para um Erlenmeyer estéril com 225 ml de solução salina 0,85%. Amostra e diluente foram homogeneizados, a fim de obter-se a diluição inicial  $10^{-1}$ , seguidas de diluições decimais seriadas até a concentração  $10^{-2}$ , onde foram inoculadas nas placas e levadas à estufa a 35 graus. As Placas Petrifilm™

contém nutrientes do meio Vermelho Violeta Bile (VRB), geleificante solúvel em água fria, um indicador de atividade glicuronidásica que é um indicador de cor onde as colônias que possuem esta enzima se coram de azul.

### Resultados e discussão

Os resultados das análises estão demonstrados na [tabela 1](#).

Tabela 1. Contagem de *E. coli* em queijos Minas Frescal em método Petrifilm™

Nº da Amostras	Coliformes Totais UFC/g	Coliformes fecais UFC/g
1	2,3x10 <sup>3</sup>	6,2x10 <sup>3</sup>
2	0	0
3	0	1,0x10 <sup>2</sup>
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	1,1x10 <sup>3</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>
9	0	1,3x10 <sup>3</sup>
10	0	0
11	1,1x10 <sup>2</sup>	0
12	8,0x10 <sup>2</sup>	2,0x10 <sup>2</sup>
13	8,0x10 <sup>2</sup>	6,0x10 <sup>2</sup>
14	5,2x10 <sup>3</sup>	0
15	0	0
16	0	0
17	9,0x10 <sup>2</sup>	1,0x10 <sup>2</sup>
18	0	5,4x10 <sup>3</sup>
19	2,7x10 <sup>3</sup>	6,0x10 <sup>2</sup>
20	6,0x10 <sup>2</sup>	4,0x10 <sup>2</sup>
21	Incontável	1,0x10 <sup>2</sup>
22	0	0
23	0	0
24	0	0
25	0	0
26	3,0x10 <sup>2</sup>	0
27	8,0x10 <sup>2</sup>	0
28	0	0
29	1,0x10 <sup>2</sup>	0
30	0	0

Os resultados demonstraram que as amostras 1 e 18 (6,6%), apresentaram valores de respectivamente 6,2 x 10<sup>3</sup> e 5,4 x 10<sup>3</sup> UFC, contagem esta superior à permitida pela legislação, estipulada pela RDC 12 (ANVISA) com valor máximo de 5x 10<sup>3</sup>, para contagem de *E. coli* o que caracteriza condição de impróprio ao consumo humano devendo estas serem descartadas. Em 63,3% das amostras (19) apresentaram resultado negativo no sistema Petrifilm™ para detecção de *E. coli* sugerindo um processamento em condições higiênicas adequadas no preparo do produto. No entanto, 30% das amostras (9) apresentaram baixa contagem para presença de *E. coli*, não sendo necessário o descarte dos produtos. A amostra 9 apresentou 1,3 x 10<sup>3</sup> UFC, que apesar de apresentar valor permitido, deve-se ter uma maior atenção pois apresentava prazo de validade estendida o que pode proporcionar o crescimento de tais microrganismo devido a riqueza de nutrientes presentes no alimento, favorecendo seu desenvolvimento. Tal resultado chama a atenção pelo fato de o produto ter sido produzido a partir de leite tipo A que deve apresentar baixa contagem bacteriana e por serem embalados a vácuo o que prorroga o prazo de validade do produto além de dificultar desenvolvimento de bactérias aeróbias mesófilas.

Em relação aos coliformes totais 13 unidades ou 43,3% dos queijos apresentaram altas contagens, sugerindo procedimentos higiênico-sanitários inadequados que propiciam a contaminação dos queijos por microrganismos o que pode diminuir a prazo de validade do alimento. Em 17 unidades (56,6%), não foram detectados desenvolvimento de microrganismos sugerindo que as boas práticas de fabricação foram aplicadas também na planta de processamento do produto. Além disso, o envase a vácuo também é um fator que diminui a possibilidade de desenvolvimento microbiano nos produtos assim embalados.

Analisando os resultados percebemos que o processo de fabricação do queijo Minas Frescal produzido a partir de leite tipo A, associado à embalagem a vácuo, melhoram a condição do produto prorrogando a durabilidade do mesmo.

Este invólucro dificulta o desenvolvimento de microrganismos patogênicos que em sua grande maioria necessitam de grande concentração de oxigênio que é diminuída com a utilização desta embalagem. Já as unidades que indicaram um alto valor nas contagens mostram que existem falhas pontuais na indústria que não garantem a efetiva qualidade dos produtos no fim do processo. Os problemas com a produção de queijo no Brasil estão relacionados às péssimas condições do leite produzido, às condições de fabricação dos queijos e a falta ou ineficiência do sistema de refrigeração ao longo da cadeia produtiva, que agravam a situação e criam condições de contaminação e multiplicação de micro-organismos (Rocha et al., 2006).

A contaminação na indústria é algo preocupante e gera perigo para a população, pois a produção em grande escala, torna mais favorável a ocorrência de enfermidades transmitidas por alimentos (ETA), onde pequenas falhas podem gerar grandes prejuízos para a indústria e problemas de saúde ao consumidor. Pesquisas relatam que a maioria dos problemas encontrados se dá por falhas nos procedimentos na indústria, protocolos e pontos críticos de controle (PCC). Pesquisa realizada por Melo et al. (2011) sobre a dinâmica microbiana em contrafilés bovinos embalados a vácuo e pesquisas realizadas por Martins et al. (2008) sobre análise de salsichas embaladas a vácuo, obtiveram uma alta contagem de coliformes fecais mesmo em atmosfera modificada, sendo impróprios para o consumo. Existindo assim no comércio alimentos que é um real risco a saúde, as causas são fatores como, falhas de processamento de embutidos, contaminações cruzadas, podendo ser apenas uma dessas causas ou a associação destas. Tais resultados corroboram com a presente pesquisa, pois sugerem que os fatores para contaminação podem ter acontecido na etapa do processamento e envase do produto indicando possíveis falhas nos PCC's.

Sousa et al. (2012) demonstraram a presença de microrganismos em amostras de carne moída, pertencentes à família dos coliformes totais e termotolerantes. Os autores relataram em sua pesquisa que problemas desde o descarte do animal, utensílios utilizados, superfície de contato que passaram a carne do animal, processamento dos embutidos, até condições de temperatura e acondicionamento na indústria e transporte, demonstrando que em qualquer ponto do processo pode haver comprometimento higiênico-sanitário propiciando o desenvolvimento microbiano e comprometendo o produto. Seus resultados sugerem que a detecção dos coliformes em produtos alimentícios de origem animal, como nos queijos embalados a vácuo analisados neste trabalho, podem estar vinculadas a falhas no controle de temperatura e acondicionamento o que favorece o desenvolvimento de *E. coli*.

Este trabalho comprova a irrefutável eficiência das embalagens à vácuo, que funcionam como auxílio importante para a indústria. De acordo com Okura & Moacir (2010), a embalagem à vácuo mantém a qualidade almejada em todo processo. Estes autores demonstraram que o vácuo diminui a intensidade de crescimento da população de microrganismos, prolongando assim a sua vida de prateleira consideravelmente. Araújo et al. (2005) utilizaram o sistema Petrifilm™ EC para detecção de *E. coli* em queijo Minas Frescal embalados a vácuo com diluição até  $10^{-4}$ . A embalagem foi de suma importância para produtos de alta perecibilidade, pois o vácuo cria um ambiente desfavorável ao desenvolvimento bacteriano, aumentando consideravelmente a duração do produto. Os autores relataram que todas as amostras se encontravam com os valores de *E. coli* dentro dos padrões permitidos pela RDC 12 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Os autores justificam tais resultados pela utilização adequada das boas práticas de fabricação na produção do alimento. Na fase de processamento do queijo temos pontos críticos que propiciam a contaminação, como enformagem e embalagem, pois, é onde ocorre contato manual com o alimento o que favorece a contaminação.

Tais trabalhos assemelham-se aos resultados desta pesquisa, onde a utilização da embalagem a vácuo demonstrou uma qualidade do produto em relação a detecção de *E.coli* pelo sistema Petrifilm™, demonstrando que sua utilização pode melhorar a qualidade do produto bem como aumentar o tempo de prateleira pela baixa contagem de *E.coli*. Além disso, ressalta a importância da aplicação de Boas Práticas de Fabricação na produção de produtos de origem animal.

## Conclusão

Os queijos do tipo Minas Frescal embalados à vácuo apresentaram contaminação por *Escherichia coli* através de análise pelo sistema Petrifilm™. Apesar da presença do microrganismo a pesquisa demonstrou que o produto embalado a vácuo tem uma boa qualidade microbiológica sendo sua qualidade influenciada também pela execução de ações fiscalizadoras pelo Serviço de Inspeção Federal. O alimento demonstrou valores dentro dos padrões legais vigentes o que demonstrou a importância da aplicação de procedimentos de boas práticas de fabricação nos estabelecimentos industriais e que falhas nos Pontos críticos de controle como, acondicionamento e refrigeração, podem influenciar na qualidade microbiológica do produto.

## Referências bibliográficas

- Araújo, P. F., Okura, M. H., Rezende, R., Jardim, F. B. B., Finzer, J. R. D. & Franzé, S. F. (2005). Influência da atmosfera modificada na composição de queijo Minas Frescal. *FAZU em Revista*, 2144-155.
- BRASIL. (1996). Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Portaria nº 146, de 07/03/96. *Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos*. Brasília: Ministério da Agricultura e do Abastecimento, 1996
- Câmara, S. A. V., Muller, M. T., Silveira, K. C. S., Almeida, T. N. & Medeiro, C. F. (2002). Avaliação microbiológica de queijos tipo Minas frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2000. *Higiene Alimentar*, 16(101):32-36.
- Feitosa, S. B., Borges, M. P., Paula, P. A., Barbosa, M. S., Bitencourt, C. A. & Carneiro, L. C. (2016). Caracterização microbiológica do queijo Minas frescal comercializado em feiras livres. *Saúde & Ciência em Ação*, 2(2):1-14.
- Germano, P. M. L. & Germano, P. M. L. (2008). *Higiene e vigilância sanitária de alimentos*. São Paulo, Brasil: Manole.
- Martins, L. L., Santos, I. F., Franco, R. M., Oliveira, L. A. T. & Bezz, J. (2008). Avaliação do perfil bacteriológico de salsichas tipo "hot dog" comercializadas em embalagens a vácuo e a granel em supermercados dos municípios Rio de Janeiro e Niterói, RJ/Brasil. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 67(3):215-220.
- Melo, C. S., Mesquita, A. J., Rezende, C. S. M., Seraphin, J. C., Oliveira, M. B. & Bueno, C. P. (2011). Dinâmica microbiana em contrafilés bovinos embalados a vácuo: sistemas de terminação e tempo de estocagem. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 70(4):528-533.
- Mittelstaedt, S. & Carvalho, V. M. (2006). *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) O157: H7-revisão. *Journal Health Science Institute*, 24(3):175-182.
- Okura, M. H. & Moacir, J. (2010). Avaliação das condições higiênico-sanitárias de queijos Minas frescal produzidos com leite cru, leite pasteurizado e de queijo temperado em alguns municípios da região do triângulo mineiro. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, 65(375):33-42.
- Rocha, J. S., Buriti, F. C. A. & Saad, S. M. I. (2006). Condições de processamento e comercialização de queijo-de-Minas frescal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 58(2):263-272.
- Santos, V. A. Q. & Hoffmann, F. L. (2010). Avaliação das boas práticas de fabricação em linha de processamento de queijos Minas frescal e ricota. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 67(387):222-228.
- Sousa, T. M., Neto, A. C., Hernandez, T. & Souto, P. C. S. (2012). Microrganismos patogênicos e indicadores de condições higiênico-sanitárias em carne moída comercializada na cidade de Barra do Garças, MT. *Acta Veterinária Brasilica*, 6(2):124-130.

**Recebido:** 28 de março, 2019.

**Aprovado:** 30 de abril, 2019.

**Publicado:** 3 de junho, 2019.

**Licenciamento:** Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados