### AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE *ESCHERICHIA COLI* EM QUEIJO MINAS FRESCAL NA REGIÃO DE LONDRINA - PARANÁ

Isabela Cocenso de Brito Silva<sup>1</sup>
Camila Andressa Bulle<sup>1</sup>
Giovana Ribeiro Rosa<sup>1</sup>
Fernanda Pinto-Ferreira<sup>2</sup>

#### **RESUMO**

O queijo Minas frescal, popular no Brasil, é valorizado por seu sabor suave e textura macia, mas apresenta uma vida útil curta devido à sua alta umidade e necessidade de refrigeração. Essa característica o torna altamente suscetível à contaminação microbiana, que pode ocorrer durante a ordenha ou processamento. A pasteurização do leite é fundamental para eliminar microrganismos patogênicos, mas a adoção de boas práticas higiênicas ao longo de toda a cadeia produtiva é imprescindível para evitar recontaminações. A presença de Escherichia coli, uma bactéria frequentemente associada à má higiene na produção de alimentos, pode provocar infecções intestinais graves, como diarreias, quando consumida em produtos contaminados. Sua detecção em queijos indica falhas nos processos sanitários, tornando necessárias medidas rigorosas para assegurar a segurança alimentar. O objetivo deste estudo foi avaliar a presença de E. coli em queijos Minas frescal comercializados clandestinamente no município de Londrina. A coleta das amostras foi realizada por meio da compra de queijos provenientes de feiras livres, mercearias e pequenos produtores que fabricam o produto em casa, sem a devida fiscalização. Utilizou-se o método de placas 3M<sup>TM</sup>Petrifilm<sup>TM</sup> para a contagem das colônias bacterianas. Foram analisadas um total de 20 amostras de queijo Minas frescal, das quais 11 apresentaram contaminação por E. coli em níveis superiores aos permitidos pela legislação. Diante desses resultados, é imperativo adotar medidas preventivas, dado o risco que a contaminação bacteriana representa para a saúde pública.

Palavras-chave: higiene; contaminação; segurança alimentar; saúde pública; E. coli.

#### **ABSTRACT**

Minas frescal cheese, popular in Brazil, is valued for its mild flavor and soft texture, but it has a short shelf life due to its high moisture content and need for refrigeration. This characteristic makes it highly susceptible to microbial contamination, which can occur during milking or processing. Milk pasteurization is essential to eliminate pathogenic microorganisms; however, adopting good hygiene practices throughout the entire production chain is crucial to prevent recontamination. The presence of *Escherichia coli*, a bacterium often associated with poor hygiene in food production, can cause severe intestinal infections, such as diarrhea, when

Discente do curso de Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Filadélfia – UniFil. E-mail: camilabulle@edu.unifil.br

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Docente do curso de Medicina Veterinária pelo Centro Universitário Filadélfia – UniFil.

87

## $m{R}$ evista $m{T}$ erra & $m{C}$ ultura: $m{C}$ adernos de $m{E}$ nsino e $m{P}$ esquisa

ISSN 2596-2809

consumed in contaminated products. Its detection in cheese indicates sanitary failures, necessitating strict measures to ensure food safety. The objective of this study was to evaluate the presence of *E. coli* in Minas frescal cheese sold clandestinely in the municipality of Londrina. Samples were collected by purchasing cheese from open-air markets, small grocery stores, and small producers who make the product at home without proper inspection. The 3M<sup>TM</sup>Petrifilm<sup>TM</sup> plates method was used to count the bacterial colonies. A total of 20 samples of Minas frescal cheese were analyzed, of which 11 showed *E. coli* contamination levels exceeding those permitted by law. Given these results, preventive measures must be taken, considering the risk that bacterial contamination poses to public health.

**Keywords:** hygiene; contamination; food safety; public health; *E. coli*.

### INTRODUÇÃO

A produção de queijo Minas no Brasil possui grande relevância econômica e cultural, especialmente devido à sua origem em Minas Gerais, de onde deriva seu nome. Este queijo é amplamente consumido em todo o país, apreciado por seu sabor suave e textura macia. No entanto, o queijo Minas, particularmente em sua forma frescal, é caracterizado por uma vida útil curta em razão de sua alta umidade, o que o torna um produto de consumo imediato. Para manter sua qualidade e segurança alimentar, o queijo deve ser comercializado e consumido rapidamente após a fabricação e armazenado sob refrigeração constante até o momento do consumo (Silva, 2005).

Atualmente, o queijo Minas é produzido em diferentes variações, muitas vezes em contextos informais e sem a devida fiscalização sanitária. Essa produção informal acarreta um risco elevado de contaminações microbianas, especialmente em queijos frescos como o Minas frescal, que são altamente suscetíveis a contaminações que podem ocorrer tanto a partir do leite cru quanto por contaminações cruzadas durante ou após o processamento. Rocha *et al.* (2006) indicam que essas contaminações podem tornar o queijo impróprio para consumo em poucos dias, sendo os coliformes fecais indicadores importantes de más condições sanitárias, além de sugerirem a presença de patógenos entéricos como *Escherichia coli*.

O leite, embora reconhecido por seu alto valor nutricional, é igualmente suscetível à contaminação por microrganismos que podem comprometer a qualidade dos queijos e provocar doenças. A pasteurização do leite é, portanto, uma etapa essencial na produção de queijos, pois elimina microrganismos patogênicos, incluindo bactérias e fungos. Contudo, ao eliminar os microrganismos nocivos, a pasteurização também inativa aqueles benéficos, essenciais para a fermentação do queijo, o que requer a adição de culturas de fermentação após o processo. Para

# **R**evista **T**erra & **C**ultura: **C**adernos de **E**nsino e **P**esquisa ISSN 2596-2809

garantir a eficácia da pasteurização, é indispensável a manutenção de rigorosas práticas de higiene, a fim de evitar a recontaminação do leite após o aquecimento. Os dois principais métodos de pasteurização empregados são o método lento, no qual o leite é aquecido a 65°C por 30 minutos, e o método rápido, no qual o leite é aquecido a temperaturas mais elevadas por um curto período (Embrapa, 2005).

A *E. coli* é uma bactéria gram-negativa, anaeróbia facultativa, presente no intestino de humanos e animais. Embora a maioria das cepas de *E. coli* seja inofensiva, algumas, como a cepa O157:H7, podem causar doenças graves, incluindo gastroenterite e síndrome hemolítico-urêmica. A presença de *E. coli* no queijo Minas frescal é frequentemente associada a falhas nas práticas sanitárias ao longo da cadeia produtiva, desde a ordenha até o armazenamento, e pode indicar contaminação fecal. Para evitar essa contaminação, é essencial a adoção de boas práticas de fabricação, incluindo a higienização adequada de equipamentos, utensílios e das mãos dos manipuladores. Estabelecimentos de produção e comercialização de alimentos devem ser mantidos em boas condições de limpeza e desinfecção regular para garantir a segurança do produto. A ingestão de alimentos contaminados com *E. coli* pode resultar em infecções intestinais, frequentemente manifestadas como quadros de diarreia, que podem ser provocados por vírus, parasitas e bactérias.

Diante da importância de detectar contaminações microbianas como indicadores da qualidade dos produtos lácteos, o objetivo deste estudo foi realizar a contagem de microrganismos em queijos Minas frescal vendidos de maneira clandestina na região de Londrina, com foco na identificação da presença de *E. coli*.

### MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram compradas em mercearias, feiras livres e produtores clandestinos, locais caracterizados por um elevado fluxo de pessoas. O processamento das amostras foi feito na Universidade Estadual de Londrina (UEL), no laboratório de inspeção de produtos de origem animal (LIPOA). Todo o processo descrito a seguir foi realizado perto do fogo oriundo do bico de Bunsen. Os materiais utilizados foram, uma pinça anatômica, faca e tesoura devidamente esterilizados com álcool 70 e flambados no bico de Bunsen. As embalagens originais das amostras foram descontaminadas com álcool iodado e abertas com o auxílio de tesoura e pinça. O queijo foi colocado em papel alumínio estéril e cortado em vários pedaços com auxílio de

uma faca e pinça previamente esterilizada. Usando a pinça, foram colocados 25 gramas de queijo em uma bolsa estéril (bag) contendo 225 mL de solução salina. A amostra foi homogeneizada por 3 minutos no *Stomacher*, resultando em uma diluição de 10<sup>-1</sup>. Em seguida, 1 mL da amostra foi diluído em 9 mL de solução salina, realizando diluições de 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-4</sup> em tubos de ensaio.

#### Método Petrifilm

Para a contagem de *E.coli* e coliformes (EC) foram utilizadas, placas 3M<sup>TM</sup>Petrifilm<sup>TM</sup>. Em sua composição, estão presentes nutrientes do meio Vermelho Violeta Bile (VRB), um agente gelatinoso solúvel em água fria, é um marcador de atividade glicuronidásica e um elemento que auxilia na contagem da colônia. Cerca de 97% dessas bactérias produzem betaglicuronidase, que resulta na formação de um precipitado azul associado à colônia. O revestimento superior mantém o gás produzido pelos coliformes e *E.coli*, responsáveis pela fermentação da lactose. Cerca de 95% das *E.coli* produzem gás, evidenciado pelas colônias azuis a vermelhoazuladas e pelo gás retido na Placa Petrifilm EC. A placa foi colocada em uma bancada de superfície plana, levantando a folha superior, adicionando 1 mL da solução das amostras previamente diluídas. Foram colocados 1 mL das amostras diluídas no centro do filme inferior, recobrindo-a delicadamente com filme superior para não formar bolhas, espalhando a amostra com um difusor plástico próprio, para o líquido se distribuir uniformemente e esperar de dois a cinco minutos para solidificar o gel.

#### Incubação

As placas de Petrifilm inoculadas foram a 35°C por 48 horas na incubadora. Após a incubação, foi realizada a contagem das colônias de *E. coli*, caracterizadas por pontos azuis ou vermelho-azulados com bolhas de gás.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das 20 amostras de queijo Minas frescal produzidas por pequenos produtores na região de Londrina, sem a presença de selos do Sistema de Inspeção Federal (SIF), revelou

uma situação preocupante em termos de segurança alimentar. De acordo com a Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o limite máximo permitido para contaminação por *Escherichia coli* em queijos de alta umidade é de 1×10³ UFC/g. No entanto, 11 das 20 amostras analisadas ultrapassaram esse limite, com valores que variaram de 2.000 até mais de 1.500.000 UFC/g, representando 55% do total de amostras (Tabela 1).

**Tabela 1 -** Contagem de *E. coli.* a 35°C em queijos Minas frescal produzidos na cidade de Londrina, Paraná, 2024.

Amostra dos queijos	Contagem de unidade formadora de colônia (UFC/ml) de Escherichia coli
1	2.000
2	490.000
3	80.000
4	<100
5	3.000
6	1.300
7	<10
8	50.000
9	7.000
10	100
11	<100
12	<100
13	>1.500.000
14	9.000
15	<100
16	<100
17	41.000
18	<100
19	190.000
20	<100

Fonte: arquivo pessoal

## **R**evista **T**erra & **C**ultura: **C**adernos de **E**nsino e **P**esquisa ISSN 2596-2809

A presença de coliformes é um indicativo confiável de contaminação e de práticas sanitárias inadequadas na produção de queijos, sinalizando a possível utilização de ingredientes de qualidade inferior e a adoção de higiene deficiente durante a manipulação e distribuição do produto (Mohamed et al., 2022). A detecção desses microrganismos também pode sugerir contaminação fecal e a presença potencial de patógenos entéricos, como a Escherichia coli, que é comumente encontrada no intestino de humanos e animais. A identificação de E. coli em alimentos representa um risco significativo à saúde, uma vez que certos sorotipos são reconhecidos como patogênicos e podem causar doenças graves (Saleh et al., 2019). Os resultados indicam falhas substanciais no controle higiênico-sanitário ao longo da cadeia de produção de queijos, desde a manipulação inadequada do leite até deficiências no processo de refrigeração e armazenamento. A presença elevada de E. coli em produtos lácteos é frequentemente associada à contaminação fecal, que pode resultar de práticas inadequadas de higiene durante a ordenha ou falhas no tratamento térmico, como a pasteurização (Rocha et al., 2006). Esse cenário é particularmente alarmante em contextos de produção artesanal sem inspeção oficial, como acontece com pequenos produtores que não seguem as diretrizes do Sistema de Inspeção Federal (SIF).

Os dados reforçam a importância de se adotar medidas corretivas urgentes para mitigar os riscos associados ao consumo desses produtos. A fiscalização mais rigorosa e a educação dos pequenos produtores sobre boas práticas de fabricação (BPF) são estratégias essenciais para reduzir a contaminação microbiológica nos queijos frescos. Além disso, os consumidores precisam ser mais bem informados sobre os perigos do consumo de alimentos sem inspeção, uma vez que a ingestão de produtos contaminados por *E. coli* pode causar sérias doenças transmitidas por alimentos (DTA), como gastroenterites, e, em casos extremos, condições mais graves como a síndrome hemolítico-urêmica (SHU) (Planzer *et al.*, 2009; Heiman *et al.*, 2015).

Esses achados também ressaltam a importância da microbiologia na segurança dos alimentos, visto que a detecção precoce de contaminantes pode prevenir surtos de doenças (Degenhardt *et al.*, 2023). A análise microbiológica de alimentos é uma ferramenta essencial para garantir que os padrões sanitários sejam mantidos, especialmente em produtos de origem animal, que apresentam maior risco de contaminação. A implementação de regulamentações mais estritas e de programas de educação contínuos para produtores artesanais pode ajudar a assegurar que a produção de alimentos em pequena escala atenda aos requisitos sanitários e reduza os riscos à saúde pública. Assim, promover o consumo responsável e garantir que os

## **R**evista **T**erra & **C**ultura: **C**adernos de **E**nsino e **P**esquisa ISSN 2596-2809

produtos vendidos no mercado sigam as normas de segurança alimentar é fundamental para proteger tanto os consumidores quanto o desenvolvimento sustentável da produção de alimentos.

### **CONCLUSÃO**

Este estudo identificou a presença de *Escherichia coli* em 11 das 20 amostras de queijo Minas Frescal analisadas na região de Londrina, Paraná, excedendo os limites regulatórios estabelecidos. Esses resultados destacam a vulnerabilidade deste tipo de queijo à contaminação microbiológica, devido à sua alta umidade e ao processo de produção sensível.

A detecção de *E. coli* em níveis elevados sublinha a necessidade urgente de implementar medidas rigorosas de higiene em todas as etapas da produção e armazenamento do queijo e a fiscalização de vendas. O cumprimento das normas estabelecidas pela ANVISA, conforme a Instrução Normativa n° 161, de 1° de julho de 2022, é essencial para garantir a segurança alimentar e prevenir infecções associadas ao consumo de alimentos contaminados.

Portanto, é importante que os produtores adotem práticas higiênicas estritas, incluindo a pasteurização eficaz do leite, para reduzir o risco de contaminação por microrganismos patogênicos. A vigilância contínua e o cumprimento dos padrões microbiológicos são fundamentais para assegurar que o queijo Minas Frescal seja seguro para o consumo público.

Este estudo contribui para a compreensão dos desafios enfrentados na produção de queijos frescos no Brasil e ressalta a importância da implementação de boas práticas de fabricação e monitoramento sanitário para proteger a saúde dos consumidores.

#### REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Dispõe sobre padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial da União, 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa nº 161, de 1º de julho de 2022. Estabelece os limites microbiológicos de *Escherichia coli* em alimentos. Diário Oficial da União, 2022.

DEGENHARDT, R.; CARVALHO, M. M.; VOIDALESKI, M. F.; DAROS, G. F.; GUARAGNI, A.; MELO PEREIRA, G. V.; DE DEA LINDNER, J. Brazilian artisanal Colonial cheese: characterization, microbiological safety, and survival of Salmonella enterica

serovar Enteritidis during ripening. *Brazilian Journal of Microbiology*, 54(3), 2129-2135, 2023.

HEIMAN, K. E.; MODY, R. K.; JOHNSON, S. D.; GRIFFIN, P. M.; GOULD, L. H. Escherichia coli O157 outbreaks in the United States, 2003–2012. *Emerging Infectious Diseases*, 21(8), 1293–1301, 2015.

MOHAMED, E. EL-PRINCE; A., W. FAROUK; MOHAMED, M. R.; NAN, M. G. Y. Incidence of coliforms in white soft cheese with special reference to *E. coli. Assiut Veterinary Medical Journal, Assiut*, v. 68, n. 175, p. 97-105, out. 2022.

PLANZER JR, S. B.; CRUZ, A. G.; SANT´ANA, A. S.; SILVA, R.; MOURA, M. R. L.; CARVALHO, L. M. J. Food safety knowledge of cheese consumers. *Journal of Food Science*, 74(1), M28-M30, 2009.

ROCHA, J. S.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Condições de processamento e comercialização de queijo Minas Frescal. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 58, n. 2, p. 236-272, 2006.

SALEH, M. M.; VARGAS, D. de F. M.; BASTOS, I. S.; BAPTISTA, R. F.; COSTA, A. P.; KASNOWSKI, M. C.; FRANCO, R. M. Avaliação microbiológica de queijo Minas Frescal comercializado no município de Duque de Caxias/RJ. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 13, n. 1, p. 78-88, jan. 2019.