



**Universidade de Brasília**  
**CET – Centro de Excelência em Turismo**

*Pós-graduação Lato Sensu*

Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos

**“PESQUISA DE *E. coli* EM QUEIJO MINAS FRESCAL ORIUNDOS DE FEIRAS  
LIVRES NO DISTRITO FEDERAL”**

**TATIANA GUSMÃO BARCELLOS**

Brasília – DF  
Março / 2006

**Universidade de Brasília  
CET – Centro de Excelência em Turismo**

Curso de Especialização em Qualidade em Alimentos

**“PESQUISA DE *E. coli* EM QUEIJO MINAS FRESCAL ORIUNDOS DE FEIRAS  
NO DISTRITO FEDERAL”**

**TATIANA GUSMÃO BARCELLOS**

---

Wilma Araújo  
Doutora  
Professor Coordenador

---

Ângela Patrícia Santana  
Doutora  
Professor Orientador

---

Wilma Araújo  
Doutora  
Professor Examinador

*“Trabalho apresentado em cumprimento às exigências acadêmicas parciais do curso de pós-graduação lato sensu em Qualidade em Alimentos para a obtenção do grau de Especialista”*

Barcellos, Tatiana Gusmão

Pesquisa de *E. coli* em queijo minas frescal oriundos de feiras no Distrito Federal / Tatiana Gusmão Barcellos.

Monografia – Curso de Qualidade em Alimentos  
Brasília – DF, março de 2006.

Área de Concentração: Microbiologia de Alimentos

Orientador: Ângela Patrícia Santana

1. Coliformes 2. Queijo Minas 3. Microbiologia



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha grande amiga Dani pela cumplicidade e dedicação a mim e a minha orientadora pela paciência.



## RESUMO

Com este trabalho pretendeu-se avaliar a qualidade higiênico-sanitária de 20 amostras de queijo minas frescal comercializadas no Distrito Federal. Tendo em vista que o leite não passa por nenhum tipo de redução da carga microbiana antes da elaboração do queijo e que o próprio processo pode aumentar essa contaminação, especialmente durante a produção caseira, foram coletados queijos comercializados em feiras livres do Distrito Federal e essas amostras foram submetidas às análises de NMP de coliformes a 45°C (termotolerantes) e presença de *Escherichia coli*. A metodologia utilizada foi a preconizada pela American Public Health Association. Foi evidenciado que 100% das amostras apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes e que 90% apresentaram *Escherichia coli*. Os resultados obtidos mostram que estes queijos encontram-se fora dos padrões estabelecidos na legislação vigente, podendo inclusive causar riscos à saúde do consumidor, e torna indispensável a reavaliação de todo processo, para a identificação do ponto de contaminação, e a utilização das boas práticas de fabricação.

1. Coliformes

2. Queijo Minas

3. Microbiologia

## ABSTRACT

With this work it was intended to evaluate the hygienical-sanitary quality of 20 samples of frescal cheese commercialized mines in the Distrito Federal. In view of that milk does not pass for no type of reduction of the microbiana load before the elaboration the cheese and that the proper process can increase this contamination, especially during the homemade production, cheeses commercialized in free fairs of the Federal District had been collected and these samples had been submitted to the analyses of NMP of coliformes 45°C (termotolerantes) and presence of *Escherichia coli*. The used methodology was the praised one for the American Public Health Association. It was evidenced that 100% of the samples had presented contamination for termotolerantes coliformes and that 90% had presented *Escherichia coli*. The gotten results show that these cheeses meet outside of the standards established in the current law, also being able to cause risks to the health of the consumer, and become indispensable the reevaluation of all process, for the identification of the point of contamination, and the use of good the practical ones of manufacture.

1. Coliforms

2. Frescal cheese

3. Microbiology

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	2
2.1 Breve histórico .....	2
2.2 Os microrganismos indicadores de contaminação fecal .....	4
2.3 O comércio de queijos nas feiras livres do Distrito Federal .....	5
3. METODOLOGIA .....	6
3.1 Delineamento da pesquisa .....	6
3.2 População e amostra .....	7
3.3 Plano e instrumentos de coleta de dados .....	7
3.4 Descrição dos procedimentos e técnicas .....	7
3.4.1 Preparação da amostra e diluições seriadas .....	7
3.4.2 Inoculação (teste presuntivo).....	8
3.4.3 Incubação .....	8
3.4.4 Contagem de coliformes totais .....	8
3.4.5 Contagem de coliformes a 45°C (termotolerantes).....	9
3.4.6 Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	9
4. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS .....	11
<b>Tabela 1.</b> Ocorrência de coliformes totais, coliformes termotolerantes e <i>Escherichia coli</i> em amostras de queijo minas comercializados em feiras livres do Distrito Federal.....	12
5. DISCUSSÃO .....	13
6. CONCLUSÃO.....	14
7. REFERÊNCIAS.....	16
8. ANEXOS .....	18

<b>Anexo A</b> – Número mais provável e intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade para diversas combinações de tubos positivos em séries de três tubos. Quantidade inoculada de amostra: 0,1- 0,01 e 0,001 g (BAM, 1984).....	18
<b>Anexo B</b> – Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001, ANVISA – Ministério da Saúde (BRASIL, 2000) .....	19
<b>Anexo C</b> – Portaria nº 146, de 07 de março de 1996, Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária (BRASIL, 1996) .....	26

**SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS**

ANVISA Agência Nacional de Vigilância Sanitária

APHA American Public Health Association

RDC Resolução da Diretoria Colegiada

## 1. INTRODUÇÃO

O queijo “Minas Frescal” é um produto que tem ampla aceitação no mercado e que faz parte do hábito alimentar das populações de várias regiões do país. Apesar da legislação brasileira exigir a utilização de leite pasteurizado no seu preparo, é bastante freqüente a comercialização do produto que não atende a esta especificação legal (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001).

Quando este produto é fabricado de forma artesanal, por pessoas inexperientes, pode ocorrer a contaminação por diversos microorganismos, comprometendo tanto a sua qualidade como a segurança da saúde do consumidor. Por este motivo, as práticas higiênicas devem ser observadas com rigor, para prevenir uma possível contaminação do produto (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001).

No entanto, cabe à população e aos órgãos de fiscalização cobrarem melhores condições higiênico-sanitárias dos produtos consumidos pela população. Nesse contexto, o controle microbiológico é uma das possíveis formas de avaliar a qualidade do produto.

Como indicador da qualidade microbiológica, os coliformes têm sido amplamente utilizados. Os coliformes fecais caracterizam um grupo de microorganismos cuja presença em alimentos é indicativa de contaminação fecal (PEREIRA *et al.*, 1999).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo pesquisar microorganismos indicadores de contaminação em queijos “Minas Frescal”, consumidos pela população do Distrito Federal comercializados em feiras livres

para que os resultados possam servir como base para melhorar o rigor da fiscalização sobre esses produtos.

Coletar amostras de queijos de feiras livres, realizar análise de coliformes totais e a 45°C (fecais) e *Escherichia coli* e avaliar a partir dos resultados obtidos a qualidade dos queijos Minas frescal no Distrito Federal são metas a se alcançar nesse trabalho.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

### **2.1 Breve histórico**

O leite tem sido considerado um alimento básico para crianças e um complemento indispensável na dieta dos adultos desde a antiguidade. Ao ser armazenado em condições ambientais, o leite sofre uma série de alterações devido, basicamente, à ação dos microorganismos contaminantes. Tais transformações levaram ao descobrimento de vários derivados do leite que passaram a ser utilizados como alimento (OLIVEIRA, 1986).

Foram assim desenvolvidas as diversas formas de preservar e, conseqüentemente, aproveitar o excesso de leite não consumido dentro de algumas horas após a ordenha. Desta forma, a coalhada, o iogurte e o queijo surgiram muito antes que a tecnologia fosse conhecida, e que se constituíram em variedades alimentícias de excelente valor nutritivo, amplamente consumidos até hoje (OLIVEIRA, 1986).

O queijo é um concentrado protéico-gorduroso resultante da coagulação do leite, seguida da dessoragem do coágulo que causa o decréscimo na umidade (OLIVEIRA, 1986) e, de acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA, queijo fresco é aquele que está pronto para o consumo logo após sua fabricação. Além disso, esse tipo de queijo é classificado como de muito alta umidade ou de massa branda ou “mole”, com umidade não inferior a 55,0% (BRASIL, 1996).

O queijo mineiro pode ser considerado um tipo desenvolvido no Brasil, que teve sua origem nas fabricações caseiras difundidas no estado de Minas Gerais (RIBEIRO, 1961).

Existem várias indústrias, principalmente aquelas de pequeno porte, que produzem queijos, dentre eles o tipo “Minas Fresco”, de fabricação relativamente simples e barata, que representa a maioria dos queijos comercializados em feiras livres, mercearias e açougues. São também de fabricação caseira, existindo a tendência de comercializá-los em sacos plásticos comuns, amarrados ou fechados com fecho metálico, porém sem usar vácuo. Durante a comercialização, esse saco plástico apresenta-se geralmente com um depósito de soro liberado pelo produto. Essa dessoragem, que acontece devido ao excesso de umidade nos queijos, além de proporcionar um aspecto depreciativo ao produto, favorece o crescimento microbiológico causando odores desagradáveis. Por essas razões, o queijo “Minas Fresco” apresenta, normalmente, um prazo de validade muito curto, no máximo de duas semanas, mesmo em temperaturas adequadas de refrigeração (OLIVEIRA, 1986).

A maioria dos queijos frescos tipo “Minas Frescal” consumidos pela população brasileira, são provenientes de fazendas onde o leite recém ordenhado é de fácil acesso e onde os queijos podem ser fabricados. Esse leite geralmente não recebe nenhum tratamento para reduzir sua carga bacteriana. Esta condição se agrava se não houver higiene durante a elaboração do queijo e se este for transportado ou armazenado sem refrigeração (ISEPON *et al.*, 2003).

## **2.2 Microrganismos indicadores de contaminação fecal**

Na perspectiva de avaliar a carga microbiana do queijo minas, torna-se necessária a utilização de um microrganismo indicador de contaminação cuja quantidade observada no alimento possa ser comparada com os parâmetros estabelecidos na legislação vigente.

Para tanto, a utilização dos coliformes tem se demonstrado representativa, especialmente no que se refere à detecção de *Escherichia coli* (SILVA *et al.*, 1997).

Os coliformes colonizam o trato intestinal de animais de sangue quente, incluindo os humanos, e são freqüentemente utilizados como indicadores higiênico-sanitários em controle de água e alimentos. Eles são representados pelos gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Hafnia* e *Citrobacter*, fermentadores de lactose, da família Enterobacteriaceae, que se distinguem em fecais e não fecais. O grupo coliforme fecal compreende, predominantemente, a população constituída por *Escherichia coli* (PEREIRA *et*

*al.*, 1999; LOGUERCIO & ALEIXO, 2001). Além disso, dentre as bactérias de habitat reconhecidamente fecal, dentro do grupo dos coliformes fecais, *E. coli* é a mais conhecida e mais facilmente diferenciada nos membros não fecais. Todos os demais membros do grupo têm uma associação duvidosa com a contaminação fecal e *E. coli*, embora também possa ser introduzida nos alimentos a partir de fontes não fecais, é o melhor indicador de contaminação fecal conhecido até o momento (SILVA *et al.*, 1997).

A ingestão de queijos com condições inadequadas para o consumo pode trazer graves conseqüências para a população, sendo, portanto, um problema de Saúde Pública (LOGUERCIO & ALEIXO, 2001).

### **2.3 O comércio de queijos nas feiras livres do Distrito Federal**

Os queijos são comercializados em vários tipos de locais, mercearias, supermercados, feiras livres. Estas últimas podem ser definidas como um equipamento varejista móvel, cuja principal característica é a circulação dentro da cidade, podendo ser instalação diária ou não de barracas, sendo responsável pelo suprimento de produtos alimentícios a uma parcela ponderável da população (CORREIA *et al.*, 1996).

Nas barracas abertas e sem refrigeração, os queijos ficam expostos por muito tempo e são vendidos em pedaços ou não, propiciando a contaminação com insetos, poeira, mãos sujas, além do transporte desses produtos ser realizado em caixas de madeira reutilizáveis e em caminhões abertos (CORREIA *et al.*, 1996).

Nos países em desenvolvimento, as diarreias agudas causadas por água ou alimentos contaminados constituem a principal síndrome das febres tifóide, paratifóide e das salmoneloses, que têm sido responsáveis por elevada taxa de mortalidade e morbidade infantil (AVILA *et al.*, 1996).

A alta concentração de coliformes em um determinado alimento indica as precárias condições higiênicas na fabricação do queijo e a permanência do produto desde a produção até a sua comercialização em temperaturas inadequadas. Com isso pode existir a possibilidade de se encontrar microrganismos patogênicos, como o *Staphylococcus aureus*, e que transmitem doenças como: disenteria bacilar e febre tifóide (CORREIA *et al.*, 1996; SABIONI *et al.*, 1998).

A maioria dos queijos comercializados no Brasil não apresentam qualidade microbiológica satisfatória sendo constantes os riscos de intoxicação (SABIONI *et al.*, 1988).

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1 Delineamento da pesquisa**

O presente trabalho visa a avaliação da ocorrência de coliformes a 45°C e de *Escherichia coli* em 20 amostras de queijo minas comercializadas no Distrito Federal.

### **3.2 População e amostra**

O Distrito Federal possui 19 regiões administrativas. Destas, foram sorteadas aleatoriamente 10, sendo elas Núcleo Bandeirante, Guará, Riacho Fundo, Taguatinga, Paranoá, Sobradinho, São Sebastião, Ceilândia, Brazlândia e Varjão. Em todas as cidades-satélites existem feiras livres de onde foram coletados 02 queijos de duas barracas diferentes.

### **3.3 Plano e instrumentos de coleta de dados utilizados**

As análises foram realizadas no Laboratório de Microbiologia da Gerência de Tecnologia de Alimentos da Secretaria de Estado de Agricultura do DF.

### **3.4 Descrição dos procedimentos e técnicas**

As amostras foram coletadas entre 29/01/06 e 12/02/06 e foram transportadas em caixa de isopor com gelo, sendo o gelo mantido dentro de sacos plásticos para assim evitar o acúmulo de líquido na caixa (SILVA *et al.*, 1997).

Para a análise, foi utilizado o método do número mais provável, da APHA. (SILVA *et al.*, 1997).

#### **3.4.1 Preparação da amostra e diluições seriadas**

As amostras foram preparadas para análise sendo higienizadas com álcool 70% e algodão hidrófilo. A unidade analítica utilizada na análise foi de 25g,

retirada assepticamente de várias partes da amostra e transferida para um frasco de homogeneização previamente esterilizado e tarado. A homogeneização foi conseguida por trituração em liquidificador (SILVA *et al.*, 1997).

A unidade analítica coletada foi homogeneizada para permitir diluição e inoculação nos meios de cultura. A homogeneização foi precedida de uma diluição inicial de 1: 10 ( $10^{-1}$ ), adicionando-se às 25g de amostra, 225ml de água peptonada (SILVA *et al.*, 1997).

A abertura das embalagens e a retirada e pesagem da unidade analítica foram feitas no interior de câmeras de fluxo laminar, para prevenir qualquer contaminação ambiente da amostra. Todos os instrumentos e utensílios utilizados na abertura das embalagens e retirada das unidades analíticas foram previamente esterilizados em autoclave (SILVA *et al.*, 1997).

Para a preparação da segunda diluição ( $10^{-2}$ ), foi transferido, assepticamente, 1,0ml da diluição  $10^{-1}$  para 9,0ml de diluente. A diluição  $10^{-3}$  foi obtida de maneira similar, porém retirando 1,0 da segunda diluição (SILVA *et al.*, 1997).

### **3.4.2 Inoculação (teste presuntivo)**

Foram selecionadas três diluições adequadas da amostra e, com uma pipeta de, no máximo, 10,0ml, foi inoculada uma série de três tubos de Caldo Lauril Sulfato Triptose (LST) por diluição, adicionando 1,0ml da diluição por tubo com 10,0ml de LST (SILVA *et al.*, 1997).

### **3.4.3 Incubação**

Os tubos de LST foram incubados a 35°C por 24 horas e foram observados para comprovar o crescimento com produção de gás. Em caso positivo, os tubos foram para a contagem de coliformes totais. Em caso negativo, foram reincubados até completar 48 horas e repetida a leitura, passando para a contagem de coliformes totais com e sem produção de gás anotados os dados (SILVA *et al.*, 1997).

### **3.4.4 Contagem de coliformes totais**

De todos os tubos de LST com produção de gás foi transferida uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de Caldo Verde Brilhante Bile (VB). Estes foram incubados a 35°C por 24-48 horas e observado se houve crescimento com produção de gás. Anotados o número de tubos de VB com gás, confirmativo da presença de coliformes totais, foi verificado o Número Mais Provável (NMP) /ml de acordo com o Anexo A (SILVA *et al.*, 1997).

### **3.4.5 Contagem de coliformes a 45°C (termotolerantes)**

Tomamos os tubos de LST com produção de gás e foi transferida uma alçada bem carregada de cada cultura para tubos de caldo *E. coli* (EC). Foram incubados em banho-maria a 45,5°C por 24 horas e assim observados se houve crescimento com produção de gás. Os tubos negativos foram reincubados para nova verificação em 24 horas. Foram anotados os tubos confirmados com

presença de coliformes fecais e determinados o NMP/ml de acordo com a mesma tabela utilizada anteriormente (SILVA *et al.*, 1997).

### **3.4.6 Contagem de *Escherichia coli***

De cada tubo de EC com produção de gás em 24 ou 48 horas, foi estriada uma alçada da cultura em placas de Agar Eosina Azul de Metileno (EBM). Foram incubadas a 35°C por 24 horas e observadas se houve desenvolvimento de colônias típicas de *E. coli* ( nucleadas, com centro preto, com ou sem brilho metálico). Confirmado as colônias típicas, duas destas eram transferidas para tubos de Agar Padrão para Contagem (PCA) inclinados e incubados a 35°C por 24 horas. A partir das culturas puras em PCA, eram feitas coloração de Gram para realização das provas bioquímicas de citrato, indol e caldo VM-VP (SILVA *et al.*, 1997).

Para o teste do citrato, foi inoculada uma alçada com inóculo leve da cultura e incubado a 35°C/ 72h a 96h e observado se houve crescimento (teste positivo) ou não (teste negativo), pois as cepas de *E. coli* são citrato-negativas (SILVA *et al.*, 1997).

No teste do indol, foi inoculada uma alçada com inóculo leve da cultura e incubado a 35°C por 24 horas. Foram adicionadas 5 gotas do reagente de Kovacs a cada 4,0ml de cultura e agitado levemente. Para o teste positivo, foi observado o desenvolvimento de um anel vermelho-violeta na superfície do meio de cultura e, para o teste negativo, foi observado se o anel permaneceu na cor amarela do reagente (SILVA *et al.*, 1997).

Para o teste de vermelho de metila e Voges-Proskauer (caldo VM-VP), foi inoculada uma alçada com inóculo leve da cultura e incubado a 35°C por 48 horas. Para o teste de VP, foi transferido assepticamente 1ml da cultura para um tubo de ensaio, adicionado 0,6ml de solução de  $\alpha$ -naftol 5 % e agitado. Em seguida, foi adicionado 0,2ml de solução KOH 40%, agitado e adicionado uma pitada leve de cristais de creatina para acelerar a reação. Foi colocado para descansar e observado, periodicamente, por até uma hora, o desenvolvimento de uma cor vermelha ou rósea no meio de cultura (teste positivo). A permanência do meio na cor do reagente indicaria teste negativo. Foi reincubada a cultura remanescente no caldo VM-VP por 48 horas adicionais e realizado o teste de VM com 96 horas de incubação. Para a realização do teste, foi adicionado, a cada 2,5ml da cultura, 5 gotas da solução de vermelho de metila, observando imediatamente se o meio adquiriu uma coloração vermelha (teste positivo) ou amarela (teste negativo) (SILVA *et al.*, 1997).

Foi considerado como *E. coli* todas as culturas com as seguintes características: bastonetes Gram negativos, indol (+) ou (-), citrato (-), VM (+) e VP (-), anotando quantos tubos de caldo EC foram confirmados como *E. coli* e determinado o NMP/ml de acordo com o anexo A (SILVA *et al.*, 1997).

#### **4. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS**

Para análise dos resultados, foi utilizada a tabela de Número Mais Provável, da APHA (anexo A). Os resultados obtidos foram comparados com as legislações da ANVISA (anexo B) e do Ministério da Agricultura (anexo C), mas a legislação da ANVISA só fornece os parâmetros para coliformes a 45°C, sendo

estes os mesmos nas duas legislações . Então, para os coliformes a 35°C foram utilizados os parâmetros do Ministério da Agricultura.

Fez-se a identificação da *E. coli* conforme metodologia apresentada por SILVA *et al.*, 1996.

A denominação de "coliformes a 45°C" é equivalente à denominação de "coliformes de origem fecal" e de "coliformes termotolerantes". Caso seja determinada a presença de *Escherichia coli*, deve constar no laudo analítico (BRASIL, 2001).

Conforme as legislações, a quantidade de coliformes a 45°C tem que ficar entre os valores 1.000 a 5.000/g, representados por m e M, respectivamente, não podendo ultrapassar a quantidade de 2 amostras dentro destes valores.

No caso de presença de *Escherichia coli* é importante lembrar que são considerados perigosos porque podem apresentar, também, salmonelas de origem fecal (BARROS *et al.*, 2004).

Foram detectadas 12 amostras contaminadas por coliformes a 45°C, perfazendo um percentual de 60% das amostras analisadas; a *Escherichia coli* foi encontrada em 18 amostras, condenando 90% dos queijos coletados.

**Tabela 1.** Ocorrência de coliformes totais, coliformes termotolerantes e *Escherichia coli* em amostras de queijo minas comercializados em feiras livres do Distrito Federal.

LOCAL DA COLETA	Data da coleta	Data da análise	RESULTADOS		
			C. a 35°C	C. a 45°C	<i>E. coli</i>
Núcleo					
Bandeirante	29/01	02/02	20	7	Sim
Núcleo					
Bandeirante	29/01	02/02	7	<3	Não
Guará	29/01	02/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Guará	29/01	02/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Ceilândia	29/01	02/02	>=2.400	1.100	Sim
Ceilândia	29/01	02/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Taguatinga	04/02	07/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Taguatinga	04/02	07/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Riacho Fundo	04/02	07/02	>=2.400	1.100	Sim
Riacho Fundo	04/02	07/02	7	<3	Não
Brazlândia	04/02	07/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Brazlândia	04/02	07/02	28	9	Sim
Paranoá	12/02	14/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Paranoá	12/02	14/02	150	93	Sim
São Sebastião	12/02	14/02	460	210	Sim
São Sebastião	12/02	14/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Sobradinho	12/02	17/02	15	3	Sim
Sobradinho	12/02	17/02	1.100	240	Sim
Varjão	12/02	17/02	>=2.400	>=2.400	Sim
Varjão	12/02	17/02	>=2.400	>=2.400	Sim

## 5. DISCUSSÃO

FILHO *et al.*, 2002, relataram, em sua pesquisa, valores entre 30% e 37,5% para coliformes fecais e *E. coli*, já CÂMARA *et al.*, 2002 detectaram coliformes em 75% das amostras e *E. coli* em 70%, resultado parecido com o encontrado por PEREIRA *et al.*, 1999, de 74,3% tanto para coliformes tanto para *E. coli*. ROSA *et al.*, 2005 também encontrou altos índices de coliformes e *E. coli* em seu estudo.

A maioria (72%) dos queijos minas frescal inspecionados e clandestinos analisados por ISEPON *et al.*, 2003 encontravam-se com valores acima do permitido, não havendo diferença entre produtos comercializados com ou sem registro no Serviço de Inspeção Federal (SIF).

Os resultados deste trabalho foram superiores aos relatados (80%), que pode ter sido provocado pela má qualidade da matéria-prima da região e pelas más condições de higiene durante o processamento e manipulação do produto.

Todos os autores concordam que os resultados encontrados são muito superiores aos permitidos pela legislação brasileira. A alta contagem de *E. coli* pode significar que há possibilidade de presença de microorganismos patogênicos, com risco à saúde dos consumidores, segundo ROSA *et al.*, 2005.

Estes resultados já eram esperados, uma vez que foram constatadas a falta de higiene das bancas das feiras e a manutenção do produto em temperatura ambiente durante todo o período de comercialização.

## 6. CONCLUSÃO

Os coliformes fecais, especialmente a *Escherichia coli*, caracterizam um grupo de microorganismos cuja presença em alimentos é indicativa de contaminação de origem fecal. A presença destes microorganismos em índices condenatórios, além de mostrar más condições higiênicas, evidencia, também, a possibilidade do produto veicular outros microorganismos patogênicos ao homem (PEREIRA *et al.*, 1999).

Apenas duas amostras foram consideradas próprias para o consumo. É preocupante o fato de que as feiras livres são locais onde muitas famílias escolhem para fazer suas compras pela facilidade de acesso e pelo preço, mas que os comerciantes não se preocupam em atender às exigências mínimas de higiene em seu local de trabalho.

É notado que a maioria das amostras são de queijo minas frescal de produção artesanal, refletindo as péssimas condições sanitárias em que são produzidos os queijos.

As análises microbiológicas permitem avaliar o monitoramento das medidas corretivas, tais como: limpeza e sanitização dos equipamentos, utensílios da unidade de fabricação, noções higiênicas para o manipulador do produto, confecção do queijo minas frescal apenas com leite de boa qualidade, distribuição e recepção realizada sob refrigeração.

Em síntese, nunca se fabrica um queijo bom a partir de um leite de má qualidade, mas é possível fabricar-se um queijo ruim partindo de um leite de ótima qualidade, pois pode haver falhas durante o processo.

Diante de tantas amostras contaminadas, é preciso atenção especial por parte dos órgãos de saúde pública e dos produtores de queijos.

## 7. REFERÊNCIAS

1. ÁVILA, C.R de; GALO, C.R. Pesquisa de *Salmonella spp.* Em leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo “Minas Frescal” comercializados no município de Piracicaba- SP. **Scientia Agrícola**. v. 53, n. 1, jan/abr, Piracicaba, 1996.
2. BAM, Bacteriological Analytical Manual. 2003. Appendix 2: **Most probable number determination for serial dilutions**. 8th ed. Disponível em <http://www.cfsan.fda.gov> Acesso em 23 de abril de 2006.
3. BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. **Diário Oficial da União**, Seção I, Brasília, DF, p. 3977- 3886, 1996.
4. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001
5. BARROS, P.C.O G.; NOGUEIRA, L.C.N.; RODRIGUEZ, E.M.; CHIAPPINI, C.C.J.C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município do Rio de Janeiro, R.J. **Revista Higiene Alimentar**. v. 18, n. 122, p. 57- 61, 2004.
6. CÂMARA, S.A V.; AMARAL, G.B do; MULLER, M.T.; SILVEIRA, K.C.S da; ALMEIDA, T.N de; MEDEIRO, C.F. Avaliação microbiológica de queijos tipo minas frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2000. **Revista Higiene Alimentar**. v. 16, n. 101, p. 32- 36, 2002.
7. CORREIA, MARLENE; GERMANO, PEDRO MANUEL LEAL; RONCADA, MARIA JOSÉ. Incidência de matérias estranhas em queijos de feiras livres da cidade de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. V. 6 n. 2, p. 57- 64, São Paulo, 1996.
8. FILHO, EDVALDO SAMPAIO DE ALMEIDA; FILHO, ANTONIO NADER. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo tipo minas frescal de produção artesanal, comercializado em Poços de Caldas, MG. **Revista Higiene Alimentar**. v. 16, n. 102/103, p. 71- 73, 2002.
9. ISEPON, JACIRA DOS SANTOS; SANTOS, PRISCILA ALONSO DOS; SILVA, MARCO ANTONIO PEREIRA DA. Avaliação microbiológica de queijos minas frescal comercializados na cidade de Ilha Solteira- SP. **Revista Higiene Alimentar**. v. 17, n. 106, p. 89- 94, 2003.

10. LOGUERCIO, ANDREA PINTO; ALEIXO, JOSE ANTONIO GUIMARAES. Microbiologia de queijo tipo minas frescal produzido artesanalmente. **Ciência Rural**, São Paulo, v. 31, n. 6, 2001.
11. OLIVEIRA, JOSE SATIRO. **Queijo: Fundamentos Tecnológicos**. São Paulo: Editora da Unicamp, 1986.
12. PEREIRA, M.L.; GASTELOIS, M.C.A.; BASTOS, E.M.A.F.; CAIAFFA, W.T.; FALEIRO, E.S.C. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* sp. em queijo Minas. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootecnia**. v. 51, n. 5, p. 427-431, 1999.
13. RIBEIRO, JOSÉ ASSIS. **Fabricação de Queijos**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1961.
14. ROSA, V.P da; PORTO, E.; SPOTO, M.H.F. Avaliação microbiológica e sensorial de queijos minas frescal embalados sob atmosfera modificada. **Revista Higiene Alimentar**. v. 19, n. 132, p. 58- 64, 2005.
15. SABIONI, JOSÉ GERALDO; HIROOKA, ELISA YONO; SOUZA, MARIA DE LOURDES. Intoxicação alimentar por queijo Minas contaminado com *Staphylococcus aureus*. **Revista Saúde Pública**. v. 22, n.5, out, São Paulo, 1988.
16. SILVA, N.; NETO, R. C.; JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997.

## 8. ANEXOS

**ANEXO A** - Número mais provável e intervalo de confiança a nível de 95% de probabilidade, para diversas combinações de tubos positivos em séries de três tubos. Quantidade inoculada de amostra: 0,1- 0,01 e 0,001 g (BAM, 1984)

Pos. tubos			MPN/g	Conf. lim.		Pos. tubos			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	<3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	--

## **ANEXO B – RESOLUÇÃO - RDC Nº 12, DE 2 DE JANEIRO DE 2001 – ANVISA – Ministério da Saúde**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária no uso da atribuição que lhe confere o art. 11, inciso IV, do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto 3029, de 16 de abril de 1999, em reunião realizada em 20 de dezembro de 2000, considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos; considerando a definição de critérios e padrões microbiológicos para alimentos, indispensáveis para a avaliação das Boas Práticas de Produção de Alimentos e Prestação de Serviços, da aplicação do Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC/HACCP) e da qualidade microbiológica dos produtos alimentícios, incluindo a elucidação de Doença Transmitida por Alimentos (DTA) considerando a importância de compatibilizar a legislação nacional com regulamentos harmonizados no Mercosul, relacionados aos critérios e padrões microbiológicos para alimentos - Resoluções Mercosul GMC nº 59/93, 69/93, 70/93, 71/93, 82/93, 15/94, 16/94, 43/94, 63/94, 78/94, 79/94, 29/96, 30/96, 31/96, 32/96, 42/96, 78/96, 81/96, 82/96, 83/96, 134/96, 136/96, 137/96, 138/96, 145/96, 01/97 e 47/97) adotou a seguinte Resolução e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar o REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS, em Anexo.

Art. 2º O descumprimento aos termos desta Resolução constitui infração sanitária, sujeitando os infratores às penalidades da Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, e demais disposições aplicáveis.

Art. 3º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

Art. 4º Fica revogada a Portaria SVS/MS 451, de 19 de setembro de 1997, publicada no DOU de 2 de julho de 1998.

GONZALO

VECINA

NETO

### **ANEXO**

#### **REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE OS PADRÕES MICROBIOLÓGICOS PARA ALIMENTOS**

##### **1. ALCANCE**

###### **1.1 OBJETIVO :**

Estabelecer os Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos especificados no Anexo I e determinar os critérios para a Conclusão e Interpretação dos Resultados das Análises Microbiológicas de Alimentos Destinados ao Consumo Humano especificados no Anexo II.

###### **1.2 ÂMBITO DE APLICAÇÃO**

Este Regulamento se aplica aos alimentos destinados ao consumo humano. Excluem-se deste Regulamento os produtos alimentícios e as toxinas de origem microbiana, como as micotoxinas, para os quais existem padrões definidos em legislação específica.

Excluem-se também matérias-primas alimentares e os produtos semi-elaborados, destinados ao processamento industrial desde que identificados com os seguintes dizeres: "inadequados para o consumo humano na forma como se apresentam" ou "não destinados para o consumo humano na forma como se apresentam".

## 2. CRITÉRIOS PARA O ESTABELECIMENTO DE PADRÕES MICROBIOLÓGICOS SANITÁRIOS EM ALIMENTOS.

Os critérios para estabelecimento de padrão microbiológico podem ser considerados isoladamente ou em conjunto conforme a seguir:

2.1. Caracterização dos microrganismos e ou suas toxinas considerados de interesse sanitário.

2.2. Classificação dos alimentos segundo o risco epidemiológico.

2.3. Métodos de análise que permitam a determinação dos microrganismos

2.4. Plano de Amostragem para a determinação do número e tamanho de unidades de amostras a serem analisadas.

2.5. Normas e padrões de organismos internacionalmente reconhecidos, Codex Alimentarius e outros organismos.

Outros critérios, quando evidências científicas o justifiquem.

## 3. DEFINIÇÕES

Para efeito deste regulamento adota-se as seguintes definições:

3.1. DTA: Doença Transmitida por Alimento causada pela ingestão de um alimento contaminado por um agente infeccioso específico, ou pela toxina por ele produzida, por meio da transmissão desse agente, ou de seu produto tóxico.

3.2. Amostra indicativa: é a amostra composta por um número de unidades amostrais inferior ao estabelecido em plano amostral constante na legislação específica.

3.3. Amostra representativa: é a amostra constituída por um determinado número de unidades amostrais estabelecido de acordo com o plano de amostragem.

3.4. Matéria-prima alimentar: toda substância de origem vegetal ou animal, em estado bruto, que para ser utilizada como alimento precise sofrer tratamento e/ou transformação de natureza física, química ou biológica.

3.5. Produto semi-elaborado: são aqueles produtos que serão submetidos a outras etapas de processamento industrial que não impliquem em transformação de sua natureza.

3.6. Alimentos comercialmente estéreis: alimentos processados em embalagens herméticas, estáveis à temperatura ambiente.

3.7. Unidade amostral: porção ou embalagem individual que se analisará, tomado de forma totalmente aleatória de uma partida como parte da amostra geral.

## 4. REFERÊNCIAS

4.1. BRASIL. Decreto-Lei nº 986, de 12/10/69. Institui Normas Básicas sobre Alimentos.

4.2. BRASIL. Lei nº 6437, de 24 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá providências.

4.3. BRASIL. Portaria nº1428, de 26/11/93. Aprova Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos, Diretrizes para o Estabelecimento de Boas

Práticas de Produção e de Prestação de Serviços na Área de Alimentos e Regulamento Técnico para o Estabelecimento de Padrão de Identidade e Qualidade para Serviços e Produtos na Área de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 de dezembro de 1993. Seção 1, pt.1.

4.4. BRASIL. Portaria SVS/MS nº 326, de 30/07/1997. Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de boas práticas de fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 01 de agosto de 1997. Seção 1, pt.1.

4.5. Codex Alimentarius Commission - Principles for the establishment and application of microbiological criteria for foods CAC/GL 21 -1997

#### 5. PROCEDIMENTOS E INSTRUÇÕES GERAIS

5.1. As metodologias para amostragem, colheita, acondicionamento, transporte e para análise microbiológica de amostras de produtos alimentícios devem obedecer ao disposto pelo Codex Alimentarius; "International Commission on Microbiological Specifications for Foods" (I.C.M.S.F.); "Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods" e "Standard Methods for the Examination of Dairy Products" da American Public Health Association (APHA); "Bacteriological Analytical Manual" da Food and Drug Administration, editado por Association of Official Analytical Chemists (FDA/AOAC), em suas últimas edições e ou revisões, assim como outras metodologias internacionalmente reconhecidas.

5.1.1. Caso sejam utilizados outros métodos laboratoriais, ou suas modificações, que não estejam referendados nos dispostos indicados no item 5.1., os mesmos devem ser validados por estudos comparativos intra e inter laboratoriais que certifiquem que os resultados obtidos por seu uso sejam equivalentes aos das metodologias citadas. Os registros dos processos de validação das metodologias também devem estar disponíveis sempre que necessário e devem cumprir com os expostos em 5.1.

5.2. Deve-se proceder a colheita de amostras dos alimentos em suas embalagens originais não violadas, observando a quantidade mínima de 200g ou 200mL por unidade amostral. Quando se tratar de produtos a granel, ou de porções não embaladas na origem, deve-se cumprir as Boas Práticas de Colheita constantes nas referências do item 5.1., respeitando-se a quantidade mínima necessária. Aceitam-se exceções para os casos relacionados a elucidação de DTA, e de rastreamento de microrganismos patogênicos. No caso de investigação de DTA devem ser colhidas as sobras dos alimentos efetivamente consumidos pelo(s) afetado(s).

5.2.1. No caso de alimentos comercialmente estéreis, cada unidade da amostra indicativa deve ser composta de no mínimo 3 (três) unidades do mesmo lote, para fins analíticos. Da mesma forma, quando se tratar da aplicação do plano de amostragem estatística, deve-se efetuar a colheita de, no mínimo, 3 conjuntos de unidades amostrais.

5.3. Dispensa-se a colheita da amostra sempre que o produto estiver alterado e ou deteriorado.

Entende-se por produto alterado ou deteriorado o que apresenta alteração(ões) e ou deterioração(ões) físicas, químicas e ou organolépticas, em decorrência da ação de microrganismo e ou por reações químicas e ou físicas.

5.3.1. Nestes casos, as intervenções legais e penalidades cabíveis não dependem das análises e de laudos laboratoriais. Excetua-se os casos em que a amostra

estiver implicada em casos de DTA para rastreamento de microrganismos patogênicos ou toxinas.

5.4. As amostras colhidas para fins de análise de controle e fiscal devem atender aos procedimentos administrativos estabelecidos em legislação específica.

5.5. A amostra deve ser enviada ao laboratório devidamente identificada e em condições adequadas para análise, especificando as seguintes informações: a data, a hora da colheita, a temperatura (quando pertinente) no momento da colheita e transporte, o motivo da colheita, a finalidade e o tipo de análise, as condições da mesma no ponto da colheita e outros dados que possam auxiliar as atividades analíticas.

5.5.1. Na emissão do laudo analítico, a conclusão e interpretação dos resultados das análises microbiológicas devem seguir o disposto no Anexo II.

5.6. No laboratório, a amostra é submetida à inspeção para avaliar se apresenta condições para a realização da análise microbiológica. Nas seguintes situações, a análise não deve ser realizada, expedindo-se laudo referente à condição da amostra:

- a) quando os dados que acompanham a amostra revelarem que a mesma, no ponto de colheita, se encontrava em condições inadequadas de conservação ou acondicionamento;
- b) quando a amostra embalada apresentar sinais de violação;
- c) quando a amostra não embalada na origem tiver sido colhida e ou acondicionada e ou transportada em condições inadequadas;
- d) quando a amostra apresentar alterações ou deterioração visível;
- e) quando a identificação da amostra não cumprir com o disposto no item 5.5. destes Procedimentos e Instruções Gerais.

5.6.1. Exceções são aceitas quando a amostra estiver implicada em casos de DTA para rastreamento de microrganismos patogênicos ou toxina. A amostra deve vir acompanhada de relatório adicional com informações que permitam direcionar a determinação analítica pertinente.

5.7. Para fins analíticos, os padrões microbiológicos descritos no Anexo I deste Regulamento referem-se aos resultados de análise de alíquotas obtidas da amostra, de acordo com as referências que constam do item 5.1 deste Regulamento.

5.8. Planos de amostragem

5.8.1. Para fins de aplicação de plano de amostragem entende-se:

- a) m: é o limite que, em um plano de três classes, separa o lote aceitável do produto ou lote com qualidade intermediária aceitável.
- b) M: é o limite que, em plano de duas classes, separa o produto aceitável do inaceitável. Em um plano de três classes, M separa o lote com qualidade intermediária aceitável do lote inaceitável. Valores acima de M são inaceitáveis
- c) n: é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. Nos casos nos quais o padrão estabelecido é ausência em 25g, como para *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* e outros patógenos, é possível a mistura das alíquotas retiradas de cada unidade amostral, respeitando-se a proporção p/v (uma parte em peso da amostra, para 10 partes em volume do meio de cultura em caldo).
- d) c: é o número máximo aceitável de unidades de amostras com contagens entre os limites de m e M (plano de três classes). Nos casos em que o padrão

microbiológico seja expresso por "ausência", c é igual a zero, aplica-se o plano de duas classes.

#### 5.8.2. Tipos de plano

a) Duas classes: quando a unidade amostral a ser analisada pode ser classificada como aceitável ou inaceitável, em função do limite designado por M, aplicável para limites qualitativos.

b) Três classes: quando a unidade amostral a ser analisada pode ser classificada como aceitável, qualidade intermediária aceitável ou inaceitável, em função dos limites m e M. Além de um número máximo aceitável de unidades de amostra com contagem entre os limites m e M, designado por c. As demais unidades, n menos c, devem apresentar valores menores ou iguais a m. Nenhuma das unidades n pode apresentar valores superiores ao M.

#### 5.8.3. Situações de aplicação dos planos de amostragem:

5.8.3.1. Para os produtos relacionados no Anexo I do presente Regulamento no caso de avaliação de lotes e ou partidas, adotam-se os planos estatísticos mínimos (planos de três classes), conforme constam no referido Anexo.

5.8.3.2. Nos casos onde o plano estatístico mencionado no item anterior não conferir a proteção desejada, devidamente justificada, pode-se recorrer a complementação de amostra, conforme as referências indicadas no item 5.1. destes Procedimentos.

5.8.3.3. Quando nos pontos de venda ou de qualquer forma de exposição ao consumo, o lote ou partida do produto alimentício estiver fracionado ou de alguma forma não disponível na sua totalidade ou quando o número total de unidades do lote for igual ou inferior a 100 (cem) unidades, ou ainda, o produto estiver a granel, pode-se dispensar a amostragem estatística e proceder a colheita de uma amostra indicativa, aplicando-se o plano de duas classes.

5.8.3.4. Quando da existência do plano de duas classes onde o c igual a zero, o resultado positivo de uma amostra indicativa é interpretado para todo o lote ou partida. O mesmo se aplica quando for detectada a presença de toxinas em quantidades suficientes para causar doença no consumidor.

#### 5.9. Considerações sobre os grupos de microrganismos pesquisados

5.9.1. A denominação de "coliformes a 45°C" é equivalente à denominação de "coliformes de origem fecal" e de "coliformes termotolerantes". Caso seja determinada a presença de Escherichia coli, deve constar no laudo analítico.

5.9.2. A determinação de clostrídio sulfito redutor a 46°C tem por objetivo a indicação de Clostridium perfringens. Caso seja determinada a presença de C.perfringens, deve constar o resultado no laudo analítico. Este critério consta como "C.sulfito redutor a 46°C" no Anexo I do presente Regulamento.

Nota: No que se refere à metodologia para clostrídios sulfito redutores a 46°C, adotam-se os meios de cultura para isolamento de Clostridium perfringens dos textos constantes no item 3.1. destes Procedimentos. São caracterizados por bactérias do grupo clostrídio sulfito redutor as que apresentarem desenvolvimento de colônias sulfito redutoras a 46°C por 24 horas; anaeróbios; bastonetes Gram positivos.

5.9.3. A enumeração de estafilococos coagulase positiva tem por objetivo substituir a determinação de Staphylococcus aureus. A determinação da capacidade de produção de termonuclease e quando necessário, a de toxina estafilocócica das cepas isoladas podem ser realizadas a fim de se obter de

dados de interesse à saúde pública. Este critério consta como "Estaf.coag.positiva" no Anexo I do presente Regulamento.

5.9.4. A determinação de *Pseudomonas aeruginosa* consta como *P.aeruginosa* nos padrões específicos constantes no Anexo I.

5.9.5. A determinação de *Vibrio parahaemolyticus* consta como *V. parahaemolyticus* nos padrões específicos constantes no Anexo I.

5.9.6. Quando os resultados forem obtidos por contagem em placa, estes devem ser expressos em UFC/ g ou mL (Unidades Formadoras de Colônias por grama ou mililitro). Da mesma forma, devem indicar NMP/ g ou mL (Número Mais Provável por grama ou mililitro), quando forem obtidos por esta metodologia.

5.9.7. Nos padrões constantes no Anexo I, a abreviatura "aus" significa "ausência". A abreviatura "pres" significa "presença". O símbolo "<" significa "menor que".

5.9.8. O resultado da determinação de *Salmonella* sp, *Listeria monocytogenes* deve ser expresso como Presença ou Ausência na alíquota analisada. No Anexo I, estes microrganismos constam, respectivamente, como *Salmonella* sp e *L. monocytogenes*.

5.9.9. Quando da elucidação de DTA, os resultados devem especificar o número de células viáveis do microrganismo agente da doença, conforme informações e metodologias constantes nas referências citadas no item 5.1. destes Procedimentos. Os valores estabelecidos para os padrões microbiológicos de cada grupo de alimento constantes no Anexo I não se aplicam para o diagnóstico de caso/surto de DTA.

5.9.10. Em situações de risco epidemiológico que justifique um ALERTA SANITÁRIO, podem ser realizadas outras determinações não incluídas nos padrões estabelecidos, em função do problema ou aplicado plano de amostragem mais rígido conforme I.C.M.S.F.

## ANEXO I

### Padrões Microbiológicos Sanitários para Alimentos

1. A tolerância é máxima e os padrões são mínimos para os diferentes grupos de produtos alimentícios, constantes no presente anexo, para fins de registro e fiscalização de produtos alimentícios. Estes limites e critérios podem ser complementados quando do estabelecimento de programas de vigilância e rastreamento de microrganismos patogênicos e de qualidade higiênica e sanitária de produtos (consultar Princípios e Procedimentos Gerais e os Anexos II).

2. No caso de análise de produtos não caracterizados nas tabelas especificadas neste Anexo, considera-se a similaridade da natureza e do processamento do produto, como base para seu enquadramento nos padrões estabelecidos para um produto similar, constante no referido Anexo I deste Regulamento.

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra	Tolerância para Amostra Representativa
--------------------	----------------	-------------------------	--

		INDICATIVA				
			n	c	m	M
d) de alta umidade: 46% de muito alta umidade: 55%, com bactérias lácticas abundantes e viáveis, incluído o Minas frescal correspondente	Coliformes a 45°C/g	5x10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>3</sup>	5x10 <sup>3</sup>
	Estaf.coag.positiva/g	10 <sup>3</sup>	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-
	L.monocytogenes/25g	Aus	5	0	Aus	-

## ANEXO II

### CONCLUSÃO E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ALIMENTOS DESTINADOS AO CONSUMO HUMANO

#### 1. Interpretação dos resultados:

Para interpretação dos resultados, compara-se os valores encontrados nas análises realizadas com os valores estabelecidos no Anexo I. De acordo com essa comparação, temos:

##### 1.1. Produtos em condições sanitárias satisfatórias

São aqueles cujos resultados analíticos estão abaixo ou igual aos estabelecidos para amostra indicativa ou amostra representativa, conforme especificado no Anexo I do presente Regulamento.

##### 1.2. Produtos em condições sanitárias insatisfatórias

1.2.1.São aqueles cujos resultados analíticos estão acima dos limites estabelecidos para amostra indicativa ou amostra representativa, conforme especificado no Anexo I do presente Regulamento.

1.2.2.São aqueles cujos resultados analíticos demonstram a presença ou a quantificação de outros microrganismos patogênicos ou toxinas que representem risco à saúde do consumidor.

#### 2.Conclusão

2.1. "PRODUTO OU LOTE (se amostra indicativa ou representativa, respectivamente) DE ACORDO COM OS PADRÕES LEGAIS VIGENTES" para as situações enquadradas no item 1.1 do Anexo II deste Regulamento.

2.2. "PRODUTO OU LOTE (se amostra indicativa ou representativa, respectivamente) IMPRÓPRIO PARA O CONSUMO HUMANO POR APRESENTAR ..." (citar o(s) resultado(s) analítico(s) e o(s) parâmetro(s) não atendido(s) do Anexo I) para as situações enquadradas no item 1.2.1. do Anexo II deste Regulamento.

2.3. "PRODUTO OU LOTE (se amostra indicativa ou representativa, respectivamente) IMPRÓPRIO PARA O CONSUMO HUMANO POR APRESENTAR ....(microrganismo patogênico ou toxina que representa perigo severo a saúde do consumidor).

## **ANEXO C – Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Ministério da Agricultura.**

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA.  
GABINETE DO MINISTRO.

PORTARIA Nº 146 DE 07 DE MARÇO DE 1996.

O MINISTRO DE ESTADO DA AGRICULTURA DO ABASTECIMENTO E DA REFORMA AGRÁRIA, no uso da atribuição que lhe confere a Art. 87, II, da Constituição da República, e que nos termos do disposto no Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, aprovado pelo Decreto nº 1.255, de 25 de junho de 1962, alterado pelo Decreto nº 1.812 de 08 de fevereiro de 1996 e

Considerando as Resoluções Mercosul/GMC números 69/93, 70/93, 71/93, 72/93, 82/93, 16/94, 43/94, 63/94, 76/94, 78/94 e 79/94 que aprovam os Regulamentos Técnicos de Identidades e Qualidades de Produtos Lácteos;

Considerando a necessidade de Padronização dos Métodos de Elaboração dos Produtos de Origem Animal no Tocante aos Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidades de Produtos Lácteos, Resolve;

Art. 1º Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos em anexo.

Art. 2º Os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidades dos Produtos Lácteos aprovados por esta Portaria, estarão disponíveis na Coordenação de Informação Documental Agrícola, da Secretária de Documental Agrícola, da Secretaria do Desenvolvimento Rural do Ministério da Agricultura e do Abastecimento e da Reforma Agrária.

Art. 3º Esta Portaria entra em vigor 60 (sessenta) dias após a data de sua publicação.

JOSÉ EDUARDO DE ANDRADE VIEIRA

## **REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE DE QUEIJOS**

### **1. ALCANCE.**

1.1. Objetivo: Fixar a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deverão possuir os queijos, com exceção dos Queijos Fundidos, Ralados, em Pó e Requeijão.

Sem prejuízo do estabelecimento no presente padrão, os padrões técnicos individuais poderão conter disposições em que sejam mais específicas e, em tais casos,

aquelas disposições mais específicas se aplicarão à variedade individual ou aos grupos

de variedade de queijos.

### **2. DESCRIÇÃO.**

2.1. Definição: Entende-se por queijo o produto fresco ou maturado que se obtem por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou

totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do calho, de

enzimas específicas, de bactéria específica, de ácido 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.

Entende-se por queijo fresco o que está pronto para consumo logo após sua fabricação.

Entende-se por queijo maturado o que sofreu as trocas bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo.

A denominação QUEIJO está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea.

2.2. Classificação: A seguinte classificação se aplicará a todos os queijos e não impede o estabelecimento de denominação e requisitos mais específicos, característicos de cada variedade de queijo que aparecerá, nos padrões individuais.

2.2.1. De acordo com o conteúdo de matéria gorda no extrato seco, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Extra Gordo ou Duplo Creme: quando contenham o mínimo de 60%.
- Gordos: quando contenham entre 45,0 e 59,9%.
- Semigordo: quando contenham entre 25,0 e 44,9%.
- Magros: quando contenham entre 10,0 e 24,9%.
- Desnatados: quando contenham menos de 10,0%.

2.2.2. De acordo com o conteúdo de umidade, em percentagem, os queijos classificam-se em:

- Queijo de baixa umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa dura): umidade de até 35,9%.

- Queijos de média umidade (geralmente conhecidos como queijo de massa semidura): umidade entre 36,0 e 45,9%.
- Queijos de alta umidade (geralmente conhecido como de massa branda ou "macios"): umidade entre 46,0 e 54,9%.
- Queijos de muita alta umidade (geralmente conhecidos como de massa branda ou "mole"): umidade não inferior a 55,0%.

2.2.2.1. Quando submetidos ou não a tratamento térmico logo após a fermentação, os queijos de muita alta umidade se classificarão em:

- Queijos de muita alta umidade tratados termicamente.
- Queijos de muita alta umidade.

2.3. DESIGNAÇÃO (denominação de venda): Todos os produtos denominados QUEIJO incluirão o nome da variedade correspondente, sempre que responda às características da variedade de que trata, especificadas em um padrão individual. O nome poderá ser acompanhado das denominações estabelecidas na classificação.

### 3. REFERÊNCIAS

- Normas FIL 4A: 1982. Queijo e queijos processados. Determinação do conteúdo de sólidos totais (Métodos de referência).
- Norma FIL 5B: 1986. Queijo e Produtos Processados de Queijo. Conteúdo da Matéria Gorda.
- Norma FIL 50B: 1985. Leite e Produtos Lácteos – Métodos de Amostragem.
- Norma FIL 99A: 1987. Avaliação Sensorial de Produtos Lácteos.
- Norma A6: do Codex Alimentarius. Norma Geral para Queijo.
- Catálogo de Queijo. Documento FIL 141: 1981.
- A.O.A.C. 15º Ed. 1990, 979.13, p.823.

### 4. COMPOSIÇÃO E REQUISITOS.

#### 4.1. Composição.

##### 4.1.1. Ingredientes Obrigatórios.

4.1.1.1. Leite e/ou Leite Reconstituído (integral), semidesnatado, desnatado e/ou soro lácteo.

Entende-se por leite o proveniente das espécies bovinas, caprina, ovina ou bubalina. Quando não existe uma referência específica, entende-se como leite da espécie bovina.

4.1.1.2. Coagulante apropriado (de natureza física e/ou química e/ou bacteriana e/ou enzimática).

4.1.2. Ingredientes Opcionais: Cultivos de bactérias lácteas ou outros microorganismos específicos, cloreto de sódio, cloreto de cálcio, caseína, caseinatos, sólidos de origem láctea, condimentos ou outros ingredientes opcionais permitidos somente conforme o previsto, explicitamente, nos padrões individuais definidos para variedade de queijo.

#### 4.2. Requisitos.

4.2.1. Os queijos deverão obedecer aos requisitos físicos, químicos e sensoriais próprios de cada variedade, estabelecidos no padrão individual correspondente.

4.2.2. Acondicionamento: poderão ser acondicionados ou não, e, dependendo da variedade de queijo de que se trata, apresentarão envases ou envoltórios bromatologicamente aptos recobrando a sua casca, aderindo ou não à mesma.

## 5. ADITIVOS E COAJUVANTES E TECNOLOGIA OU ELABORAÇÃO.

### 5.1 Aditivos.

Poderão ser utilizados na elaboração de queijos e aditivos relacionados na lista a que indica a classe de queijo para a qual ou as quais estão autorizadas. A utilização

de outros aditivos poderá estar autorizada nos padrões individuais de certas variedades particulares de queijos.

## 6. CONTAMINANTES.

Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não devem estar presentes em quantidades superiores aos limites estabelecidos pela legislação vigente.

## 7. HIGIENE.

7.1. Considerações Gerais: As práticas de higiene para elaboração do produto estarão de acordo com o estabelecimento no Código Internacional Recomendado de

Práticas Gerais de Higiene dos Alimentos.

(CAC/VOL A.1985).

O leite a ser utilizado deverá ser higienizado por meio mecânicos e submetidos à pasteurização ou tratamento térmico equivalente para assegurar a fosfatase residual

negativa (A.O.A.C. 15º Ed. 1990, 979. 13, p.823) combinado ou não com outros processos físicos ou biológicos que garantam a inocuidade do produto.

Fica excluído da obrigação de ser submetido à pasteurização ou outro tratamento térmico o leite higienizado que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação a uma temperatura superior aos 5º C, durante um tempo não inferior a 60 dias.

### 7.2. Critérios macroscópicos.

O produto não deverá conter substâncias estranhas de qualquer natureza.

### 7.3. Critérios microscópicos.

O produto não deverá apresentar substâncias microscópicas estranhas de qualquer natureza.

### 7.4. Critérios Microbiológicos.

Os queijos deverão obedecer ao estabelecido na legislação específica.

## 8. PESOS E MEDIDAS.

Será aplicada a legislação específica.

## 9. ROTULAGEM.

Será aplicada a legislação específica.

Será denominado "Queijo..." seguido da variedade ou nome de fantasia, se existir, de acordo com o padrão individual que corresponda às características da variedade de queijo.

Padrão individual que corresponda às características da variedade de queijo.

Poderão incluir-se denominações estabelecidas na classificação.

Nos queijos com adição de substâncias alimentícias, condimentos ou outras substâncias aromatizantes naturais, deverá indicar-se na denominação de venda o

nome da ou das adições principais, exceto no caso dos queijos em que a presença

destas substâncias constitua uma característica tradicional.

No caso do emprego de leites de mais de uma espécie animal, deverá ser

declarado na lista de ingredientes os leites das diferentes espécies e seu percentual relativo.

#### 10. MÉTODOS DE ANÁLISE.

Umidade: FIL 4A: 1982.

Matéria Gorda: FIL 5B: 1986.

#### 11. AMOSTRAGEM

Serão seguidos os procedimentos recomendados na Norma FIL 50B: 1985.

### **REGULAMENTO TÉCNICO GERAL PARA A FIXAÇÃO DOS REQUISITOS MICROBIOLÓGICOS DE QUEIJO**

#### 1. ALCANCE

1.1. Objetivo: Fixa os requisitos microbiológicos que deverão obedecer os queijos.

#### 2. DEFINIÇÃO

Os requisitos microbiológicos definitivos nesta norma foram estabelecidos de acordo com critério e planos de amostragem para aceitação de lotes da Comissão Internacional de Especificações Microbiológicas dos Alimentos ICMSF

Os métodos analíticos especificados respondem à metodologia internacional aceita.

Os queijos foram classificados segundo o conteúdo de umidade da massa, outras características próprias e tecnologias de fabricação.

#### 3. REQUISITOS

##### 3.4. Queijo Quatiolo, Cremoso, Criolo e Minas frescal(46% < umidade < 55%)

Microorganismos	Crítérios de Aceitação	Categoria ICMSF	Método de Ensaio
Coliforme/g(30°C)	n=5 c=2 m=10.000 M=100.000	5	FIL 73A: 1985
Coliforme/g(45°C)	n=5 c=2 m=1.000 M=5.000	5	APHA 1992 c.24(1)
Estafilococos/Coag.pos./g	n=5 c=2 m=100 M=1.000	5	FIL 145: 1990
Salmonella sp/25g	n=5 c=0 m=0	10	FIL 93A: 1985
Listeria monocytogenes 25g	n=5 c=0 m=0	10	FIL 143: 1990