

**Isolamento e identificação presuntiva de *Staphylococcus coagulase positiva* e coagulase negativa em queijos minas frescal artesanal comercializados em feiras livres de Ipatinga – MG**

**Isolation and presucific identification of positive coagulase and negative coagulase *Staphylococcus* in artisanal minas fresh cheeses marketed at fairs in Ipatinga - MG**

DOI:10.34117/bjdv8n4-462

Recebimento dos originais: 21/02/2022

Aceitação para publicação: 31/03/2022

**Ana Carolina Vale Campos Lisboa**

Professor Medicina Univaco/IMES

Instituição: União Educacional do Vale do Aço/IMES

Endereço: Antares, 444, Castelo – Ipatinga – MG, CEP: CEP:35160-069

E-mail: ana.LISBOA@univaco.edu.br

**Maria Emília de Oliveira**

Professor Medicina Univaco/IMES

Instituição: União Educacional do Vale do Aço/IMES

Endereço: Martim Afonso de Souza, 61, Bom Retiro – Ipatinga – MG, CEP: 35160-235

E-mail: oliveirame@gmail.com

**Ana Beatriz Campos Gomes**

Graduanda em Medicina pela UNIVAÇO - União Educacional do Vale do Aço/IMES

Instituição: Faculdade de Medicina do Vale do Aço (UNIVAÇO)/IMES

Endereço: Eclesiastes, n 547, apto 401, Residencial Ayrton Senna – Ipatinga - MG

CEP: 35164-392

E-mail: a.beatrizgomes@hotmail.com

**Danielle Pereira Vieira**

Graduanda em Medicina pela UNIVAÇO - União Educacional do Vale do Aço/IMES

Instituição: Faculdade de Medicina do Vale do Aço (UNIVAÇO)/IMES

Endereço: Luiz Cerqueira, 180, apto 08, Centro – Manhuaçu – MG

CEP: 36900-085

E-mail: daniellepereiravieira@hotmail.com

**Gabriel Fernandes Ramos**

Graduando em Medicina pela UNIVAÇO - União Educacional do Vale do Aço/IMES

Instituição: Faculdade de Medicina do Vale do Aço (UNIVAÇO)/IMES

Endereço: Afonso Pena, 2598/601, Centro - Governador Valadares – MG

CEP: 35010-000

E-mail: gabrielramosgvbh@gmail.com

**Matheus Fernandes Lopes Martins**

Graduando em Medicina pela UNIVAÇO- União Educacional do Vale do Aço/IMES

Instituição: Faculdade de Medicina do Vale do Aço (UNIVAÇO)/IMES

Endereço: Paquetá, 155, Vila Ipanema– Ipatinga – MG, CEP: 35160061

E-mail: matheus\_flm@hotmail.com

**Pedro Henrique Menezes Ribeiro**

Graduando em Medicina pela UNIVAÇO- União Educacional do Vale do Aço/IMES  
Instituição: Faculdade de Medicina do Vale do Aço (UNIVAÇO)/IMES  
Endereço: Oitenta e Cinco, 88, Novo Horizonte – Timóteo – MG  
CEP: 35180268  
E-mail: phmenezesr@gmail.com

**Samara Custódio Vieira Pinto**

Graduanda em Medicina pela UNIVAÇO- União Educacional do Vale do Aço/IMES  
Instituição: Faculdade de Medicina do Vale do Aço (UNIVAÇO)/IMES  
Endereço: Rua Petrópolis, 100, ap 305, Veneza 1 — Ipatinga – MG  
CEP: 35164-258  
E-mail: samaracvieira@hotmail.com.br

**RESUMO**

Introdução: dentre os diferentes tipos de queijos existentes no Brasil, o Minas Frescal Artesanal destaca-se por ser um produto alimentício bastante consumido e frequentemente fabricado com higiene precária. Por apresentar alto teor de umidade e baixo teor de sal, o queijo Minas Frescal Artesanal é susceptível a contaminações microbianas resultantes, tanto do leite utilizado como matéria-prima, como de contaminações cruzadas na manipulação e no pós-processamento. Os microrganismos contaminantes podem causar deterioração do produto ou até doenças em quem ingerir, como a intoxicação alimentar. Objetivos: o estudo objetiva verificar de forma presuntiva a existência de *Staphylococcus* coagulase positiva e negativa por meio do isolamento em uma amostragem de queijos Minas Frescal Artesanal comercializados em feiras livres do Município de Ipatinga, Minas Gerais. Método: foram coletadas amostras de 6 queijos Minas Frescal Artesanal de feiras livres de Ipatinga-MG, sendo cada um deles pertencentes aos seguintes locais: Canaã, Veneza 2, Bom Jardim, Bom Retiro, Ipatingão e Cariru. A partir destas amostras foi isolado o microrganismo *Staphylococcus* coagulase positiva e negativa por meio de cultura e identificação da bactéria pelo método de Gram e das provas de catalase e coagulase. Resultados: foi constatado que 100% das amostras de queijo Minas Frescal Artesanal apresentaram contaminação em relação à contagem e análise presuntiva de *Staphylococcus sp.* Conclusão: os produtos analisados obtiveram valores de contaminação por *Staphylococcus sp.* acima do permitido pela legislação vigente, demonstrando uma precariedade nas boas práticas de fabricação. Dessa forma, entende-se que a fiscalização pelos órgãos competentes precisa ser mais eficaz e rigorosa nas feiras livres do município de Ipatinga.

**Palavras-chave:** contaminação, intoxicação alimentar, leite, virulência.

**ABSTRACT**

Introduction: among the different types of cheese existing in Brazil, the Artesanal Minas Frescal stands out for being a food product widely consumed and frequently manufactured with precarious hygiene. Because it has high moisture content and low salt content, the Artesanal Minas Frescal cheese is susceptible to microbial contaminations resulting both from the milk used as raw material and from crossed contaminations during

handling and post-processing. The contaminating microorganisms can cause deterioration of the product or even diseases in those who ingest it, such as food poisoning. Objectives: The study aimed to verify presumptively the existence of coagulase-positive and negative *Staphylococcus* by isolation in a sample of artisanal Minas Frescal cheeses sold in open markets in the city of Ipatinga, Minas Gerais. Method: samples of 6 Artesanal Minas Frescal cheeses were collected from free markets of Ipatinga-MG, each of them belonging to the following locations: Canaã, Veneza 2, Bom Jardim, Bom Retiro, Ipatingão and Cariru. From these samples the microorganism *Staphylococcus* coagulase positive and negative was isolated through culture and identification of the bacteria by Gram's method and the catalase and coagulase tests. Results: it was found that 100% of the samples of Artesanal Minas Frescal cheese presented contamination in relation to the count and presumptive analysis of *Staphylococcus* sp. Conclusion: the analyzed products had contamination values by *Staphylococcus* sp. above the allowed by the current legislation, showing a precariousness in the good manufacturing practices. Thus, it is understood that the inspection by the competent bodies needs to be more effective and rigorous in the open fairs of the city of Ipatinga.

**Keywords:** Contamination, Food poisoning, Milk, Virulence.

## 1 INTRODUÇÃO

O queijo é um alimento muito utilizado na dieta humana, apresenta ampla comercialização e faz parte do hábito alimentar de grande parte da população e da cultura nacional. Em diversas pesquisas analisadas, este produto foi considerado um dos principais veiculadores de intoxicação alimentar estafilocócica (PERIN *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2019). Além disso, o leite destinado à fabricação de queijos deve ser de boa qualidade e livre de contaminações bacterianas (APOLINÁRIO, SANTOS, LAVORATO, 2014).

Reconhecido como Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro, o queijo Minas Frescal Artesanal (QMFA) é produzido a partir de leite cru, geralmente em pequenas propriedades rurais. Por não possuir período de maturação, é um produto perecível que deve ser consumido rapidamente, sendo necessária a manutenção em ambiente refrigerado. As contaminações e as alterações causadas por microrganismos indesejáveis tornam o produto impróprio para o consumo (PERIN *et al.*, 2017).

A falta de critérios de qualidade do leite utilizado como matéria-prima, associadas ao método de produção, na maioria das vezes sem seguir as boas práticas de fabricação, permitem que queijos Minas Frescal Artesanal de baixa qualidade higiênico-sanitária e sem padrões, atinjam o mercado (ARAÚJO, 2015). A contaminação microbiológica desse produto assume destacada relevância tanto para os produtores, pelas perdas econômicas,

como para a saúde pública, pelo risco de causar doenças transmitidas por alimentos (DTA's)(OLIVEIRA *et al.*, 2019). Em Minas Gerais, entre os anos de 2000 a 2017 foram notificados 1164 casos de DTA's em 81 surtos, sendo destes, 14 comprovadamente causados por leite e seus derivados (BRASIL, 2019).

Dentre os vários tipos de microrganismos patogênicos que podem ser transmitidos por alimentos, destaca-se o gênero *Staphylococcus*, sendo responsável por 17% dos casos em todo Brasil, representando o terceiro principal agente etiológico dessa afecção. Além disso, leite e derivados ocupam a sétima colocação entre os alimentos com potencial de veicular DTA's (FEITOSA *et al.*, 2017; BRASIL, 2019).

O gênero *Staphylococcus* pertence à família *Staphylococcaceae*, sendo composto por 52 espécies e 28 subespécies (EUZÉBY, 2018). Estes microorganismos apresentam-se como cocos Gram-positivos, que se dividem em grupos, assemelhando a cachos de uvas e produzem enterotoxinas nocivas ao ser humano. Possuem a enzima coagulase, um importante fator de virulência, que ao entrar em contato com o fibrinogênio o transforma em fibrina insolúvel e coagula o plasma. O grupo dos *Staphylococcus* coagulase positiva é composta por 8 espécies, sendo uma delas o *S. aureus*. As demais espécies que não produzem essa enzima são denominadas de *Staphylococcus* coagulase negativa (SILVA, 2017). A presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em alimentos, quando em condições adequadas (temperatura, pH, atividade de água e oxigênio), é considerado um fator preocupante quando atingem contagens superiores a  $10^6$  UFC/g (Unidade formadora de colônia por grama), pois considera-se que a partir deste valor a quantidade de toxina produzida será suficiente para causar sintomas de gastroenterite, aumentando o risco de ocorrência de diarreia e vômitos, uma das doenças alimentares mais comuns no mundo (ANDRADE *et al.*, 2019).

As doenças alimentares causadas por *Staphylococcus* fazem parte de duas grandes divisões: intoxicações e infecções alimentares. A primeira é quando a doença se origina após ingerir toxinas bacterianas, já produzidas no alimento, resultantes da proliferação desse microrganismo. Já a segunda é causada quando se consome produtos contendo células ativas de patógenos, que se proliferam após se incorporarem na mucosa intestinal, causando penetração nos tecidos e lesões ou produzem no local toxinas que desregulam o funcionamento de todo sistema gastrointestinal (SILVA, 2018). O período de incubação e severidade dos sintomas observados dependem da quantidade de enterotoxinas presentes

no alimento ingerido e a questões inerentes ao indivíduo, como estado nutricional e imunológico (VIEIRA, 2017).

Considerando o produto em análise um veículo de disseminação de microrganismos, este estudo busca avaliar de forma presuntiva a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva e negativa em queijos Minas Frescal Artesanal, comercializados em feiras livres no município de Ipatinga, Minas Gerais, com o objetivo de observar a contaminação do produto final e avaliar a qualidade dos queijos consumidos pela população descrita.

## 2 MÉTODO

Foi realizada uma pesquisa de campo do tipo quantitativa descritiva, durante o mês de julho de 2021. Foram obtidas amostras de 6 queijos Minas Frescal Artesanal, cada um disponível nas seguintes feiras livres dos bairros da cidade de Ipatinga-MG: Canaã, Veneza 2, Bom Jardim, Bom Retiro, Novo Cruzeiro e Cariru. Todos os queijos avaliados, no presente trabalho, estavam sendo vendidos sob refrigeração em caixas térmicas. As amostras foram transportadas em caixas térmicas até o Laboratório de Microbiologia do Instituto Metropolitano de Ensino Superior, sendo mantidas em geladeira, por sete dias, até o momento da análise microbiológica. Foi realizado a desinfecção de todas as embalagens de cada amostra de queijo com álcool 70%, antes do rompimento.

A partir de cada queijo foi obtida uma amostra de 25,0 g pesada em balança de precisão digital, conforme descrito na Instrução Normativa Nº 62/2003 do Ministério da Agricultura-MAPA. Em seguida, cada amostra foi triturada em uma placa de petri estéril, com auxílio de um garfo também estéril. A esta amostra foi adicionada uma solução de 250 mL de Soro fisiológico 0,9% estéril em um balão estéril de 500 mL para obtenção da diluição inicial  $10^{-1}$ . A partir da diluição  $10^{-1}$ , com auxílio de uma pipeta automática, foi coletado 1 mL e o mesmo foi diluído em 9 mL de solução fisiológica 0,9%, em um tubo de ensaio de vidro estéril, obtendo-se a diluição  $10^{-2}$ . A diluição seriada foi realizada até a obtenção da diluição  $10^{-6}$  (BRASIL, 2003).

Para o isolamento de microrganismos, com o auxílio de uma pipeta automática, alíquotas de 0,1 mL de cada diluição foram semeadas, utilizando alça de Drigalski, em placas de Petri contendo o meio de cultura sólido ágar manitol da marca KASVI. A seguir, as placas foram incubadas a 35,5 °C por 48 horas, em uma estufa automática (BRASIL, 2003).

Após o tempo estimado, as placas em que se notou crescimento sugestivo de *Staphylococcus* foram analisadas quanto à mudança da coloração do meio de cultura. A modificação da cor do ágar de vermelho para amarelo caracteriza a presença de ácido proveniente de fermentação, processo que apenas sugere a presença do *Staphylococcus aureus* (KONEMAN *et al.*, 2018).

Após essa fase, foi executado o método de coloração de Gram e as provas da coagulase e catalase para confirmação da presença do microrganismo estudado.

O teste de coloração de Gram consiste na identificação de bactérias Gram positivas e Gram negativas. Os reagentes utilizados são: cristal violeta, lugol, éter/cetona e safranina, sobre esfregação das colônias em lâmina. O cristal violeta e o lugol impregnam tanto em bactérias Gram positivas como em Gram negativas, criando um agrupamento arroxeado. O éter/cetona é a fase diferencial, pois nas Gram positivas, não retira o complexo cristal violeta-lugol, já nas Gram negativas, o agrupamento corado é extraído, descolorando as células. Finalmente, aplica-se a fucsina, que não altera a cor roxa das Gram positivas, ao mesmo tempo que as Gram negativas, desbotadas pelo éter/cetona, tornam-se rosas. As lâminas coradas são levadas ao microscópio óptico para verificação de suas características morfológicas (TRENTO, 2018).

A prova de catalase é utilizada para diferenciar integrantes do gênero *Staphylococcus* do gênero *Streptococcus*, uma vez que pela coloração de Gram essas bactérias podem se apresentar de forma semelhante. A catalase é uma enzima que decompõe as moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio) em água e oxigênio. Sendo assim, quando adicionado peróxido de hidrogênio à 3% diretamente sobre as colônias da placa de manitol, observa-se o borbulhamento, configurando um teste positivo ou o não borbulhamento, resultando em um teste negativo (MENDES *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2019).

O teste da coagulase avalia a capacidade do microrganismo de coagular o plasma de coelho, o qual é acrescido de colônias típicas e incubado em estufa. Através da produção da enzima coagulase, observa-se a formação de um coágulo firme, que não se rompe quando o tubo é ligeiramente inclinado. Isto permite a separação das espécies de *Staphylococcus* coagulase positivas das negativas (MENDES *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2019).

Os dados foram descritos por meio de tabelas e quantificados por frequências e comparados de acordo com Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, de 2001, da Anvisa.

Foram utilizadas como referências neste artigo treze revistas científicas classificadas com Qualis A1 a B5 (Apêndice).

### 3 RESULTADO

Nessa pesquisa, 100% das amostras (6) estudadas de queijo Minas Frescal Artesanal de feiras livres do município de Ipatinga-MG apresentaram contaminação em relação à contagem e análise presuntiva de *Staphylococcus sp.*, de acordo com a tabela 1. Observa-se que a amostra da feira 1 apresentou menor contaminação, enquanto a amostra da feira 6 não apresentou *Staphylococcus* coagulase positiva, representando maior segurança para o consumo. A amostra da feira 4 foi aquela com maior crescimento de *Staphylococcus* coagulase positiva, ou seja, valor maior que  $10^3$  UFC/g, permitido pela legislação.

Tabela 1. Contagem de *Staphylococcus sp.*, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Staphylococcus* coagulase negativa das amostras de queijo Minas Frescal artesanal comercializado nas feiras livres de Ipatinga

Amostras de queijo Minas Frescal artesanal das feiras livres de Ipatinga-MG	Contagem de <i>Staphylococcus sp.</i>	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase positivo	Contagem de <i>Staphylococcus</i> coagulase negativo
Feiras	UFC/g	UFC/g	UFC/g
Feira 1	$0,4 \times 10^7$	$0,4 \times 10^7$	0
Feira 2	$19,0 \times 10^7$	$19,0 \times 10^7$	0
Feira 3	$4,0 \times 10^7$	$4,0 \times 10^7$	0
Feira 4	$30,0 \times 10^7$	$30,0 \times 10^7$	0
Feira 5	$2,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	0
Feira 6	$1,0 \times 10^7$	0	$1,0 \times 10^7$

Dentre essas amostras, 5 de 6 (83,3%) fermentaram o manitol, caracterizado pela mudança da cor do meio de vermelho para amarelo (Figura 1) e foram submetidas à caracterização morfológica e fisiológica para detecção do gênero *Staphylococcus* e em seguida de *Staphylococcus* coagulase positivo.

FIGURA 1: Fermentação do ágar sais manitol, observada pela mudança da coloração no ágar após o crescimento bacteriano



Foto: Acervo pessoal

Todas as amostras selecionadas para a coloração de Gram apresentaram cocos isolados, aos pares ou em grupos de cor roxa, confirmando assim a característica Gram positiva das colônias (Figura 2)

FIGURA 2: Observação da coloração de Gram.

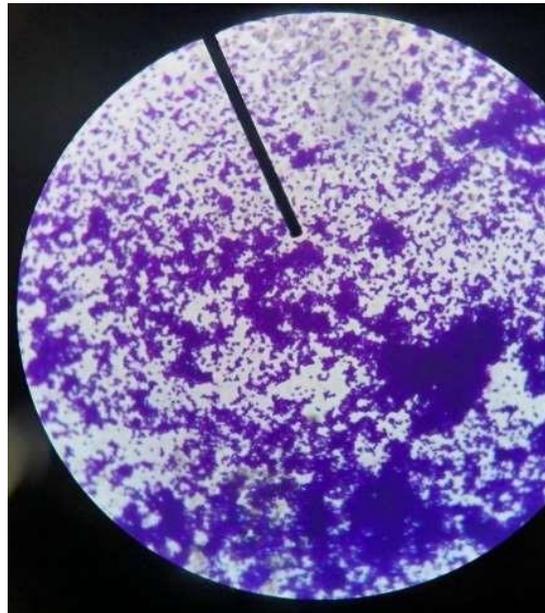


Foto: Acervo pessoal.

Além disso, foi empregado o teste de catalase para confirmação da produção dessa enzima. Conforme descrito na tabela 2, 100% das amostras apresentaram efervescência ao adicionar água oxigenada, o que caracteriza um resultado positivo para a atividade de catalase (Figura 3). Em todas as amostrasas bactérias presentes foram identificadas como cocos gram positivos (tabela 2).

FIGURA 3: Teste catalase positivo com observação de efervescência imediata.



Foto: Acervo pessoal.

Tabela 2. Resultados dos testes bioquímicos de Coloração de GRAM e Catalase em amostras de queijo Minas Frescal artesanal comercializado nas feiras livres de Ipatinga.

Teste	Feira 1	Feira 2	Feira 3	Feira 4	Feira 5	Feira 6
<b>Bioquímico</b>						
<b>Coloração Gram</b>	Cocos Gram Positivos					
<b>Catalase</b>	+	+	+	+	+	+

Ademais, 5 das 6 amostras dos QMFA (83,3%) coagularam o plasma de coelho, formando um coágulo rígido que não se rompeu quando o tubo foi ligeiramente inclinado, detectando a enzima coagulase (Figura 4). Apenas uma amostra resultou em contaminação por *Staphylococcus* coagulase negativo (16,7%).

FIGURA 4: Observação do resultado positivo ao teste da coagulase.



Foto: Acervo pessoal.

#### 4 DISCUSSÃO

O crescimento bacteriano encontrado nesta pesquisa sugere a presença do gênero *Staphylococcus*, uma vez que altas concentrações de sais, presente no ágar manitol, inibem o crescimento da maioria dos microrganismos e isola de forma seletiva as bactérias deste gênero. Isto ocorre porque este grupo de microrganismos tem a capacidade de sobreviver e multiplicar em uma concentração de cloreto de sódio alta, entre 10% a 20%. Nesse contexto, vale ressaltar, que a produção de enterotoxina acontece em concentrações de sal até 10%, o que permite sua colonização inclusive em alimentos curados, como o leite, favorecendo assim que esse produto seja um potencial veículo de intoxicação (DIAS *et al.*, 2016; FEITOSA *et al.*, 2017; KONEMAN *et al.*, 2018).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* produzem enzimas catalases que decompõem o peróxido de hidrogênio, uma substância tóxica à bactéria, em oxigênio e água. Por meio da realização do teste da catalase foi possível diferenciar estas bactérias de outras que, pela coloração de Gram podem se apresentar parecidas com os *Staphylococcus*, mas não possuem a capacidade de sintetizar tal enzima, como, por exemplo, *Streptococcus* (CÂNDIDO, 2019).

Neste estudo foi realizado o teste da coagulase, pois este é o principal método para confirmar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva (MENDES *et al.*, 2018; COSTA *et al.*, 2019). Dentre os fatores de virulência, a produção de coagulase é tão importante que divide essas bactérias em dois grandes grupos: *Staphylococcus* coagulase

positiva e *Staphylococcus* coagulase negativa. A coagulase é considerada a primeira linha de defesa dessas bactérias e o principal fator de virulência, pois por meio dela é possível dificultar a ação do sistema imune. Nesse contexto, essa enzima cria uma deposição de fibrina ao redor do patógeno, protegendo toda a área infectada. Além disso, as espécies que produzem coagulase estão cada vez mais relacionadas com o potencial de produção de enterotoxinas, o que indica uma grande possibilidade de se tratar de um microrganismo com maior patogenicidade (SANTIAGO, 2019). Neste trabalho, dentre as amostras contaminadas por *Staphylococcus* coagulase positivo, todas apresentaram valores acima dos padrões legais preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), cujo limite é de  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001).

Em trabalho semelhante, Scher *et al.*, em 2018, constatou que 83,3% dos queijos Minas Frescal Artesanal coletados em cidades da região Oeste do Paraná apresentaram valores compatíveis de contaminação de *Staphylococcus* coagulase positivo, superiores aos padrões legais. Do mesmo modo, Dias *et al.*, em 2016, verificaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva em desacordo com o limite aceito pela ANVISA em 70% das amostras de queijo Minas Frescal Artesanal e industrial, fabricado na região sul do estado de Goiás.

Os resultados do presente estudo são similares aos que Komatsu *et al.* (2010) observaram ao analisarem 50 amostras de queijo Minas Frescal Artesanal, produzidos na cidade de Uberlândia-MG. Em sua pesquisa, 88% do alimento examinado apresentou padrões de contaminação por *Staphylococcus*

coagulase positivo acima do permitido pela legislação.

Na pesquisa de Tavares *et al.* (2019) foram analisadas 30 amostras de queijos Coloniais, fabricados artesanalmente e comercializados nas cidades de Canguçu, Rio Grande, Pelotas, São Lourenço do Sul, Pedro Osório e Morro Redondo, localizadas na região Sul do Rio Grande do Sul. Pôde-se observar que apenas 13,3% estavam dentro dos padrões microbiológicos exigidos pela legislação. Das 26 (86,7%) amostras consideradas fora do padrão aceitável, 24 (80%) apresentaram contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva superior ao permitido. Dessa forma, os resultados obtidos refletem uma contaminação acima do aceito pelo Ministério da Saúde e compatível para produção de enterotoxinas. Assim, esse produto pode ser considerado um veículo de propagação de DTA's, representando risco iminente à população. De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention (CDC), crianças, idosos, gestantes e imunocomprometidos são

considerados o grupo de maior risco a desenvolver problemas relacionados a doenças veiculadas por alimentos (CDC,2017).

Nesse contexto, alguns estudos citam taxas de contaminação menores do que as encontradas no presente trabalho, como, por exemplo, o de Ferreira e Silva (2021). Estes autores relataram que de cinco amostras de queijos do tipo Minas Frescal na cidade de Uberlândia-MG, duas (40%) amostras apresentaram contaminação por *Staphylococcus* coagulase positiva acima do valor permitido pela ANVISA. Já a pesquisa realizada por Vinha, Pinto e Chaves (2018) evidenciou *Staphylococcus* coagulase positivo em 39,7% de queijo Minas Frescal produzidas em agroindústrias informais de Viçosa. Ambas as pesquisas evidenciaram menores taxas de contaminação, sugerindo melhores práticas no processamento e produção de QMFA.

Mendes *et al.*, (2018) realizaram um experimento, em cinco amostras de QMFA frescos, sem selo de certificação, produzidos na microrregião de Bom Despacho, pertencente à mesorregião Central Mineira. Das cinco amostras analisadas, foram encontrados *Staphylococcus* coagulase positiva em três, e destas, apenas uma excedeu a quantidade limite de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva permitidas conforme padrões da RDC n.º 12. Entretanto, a ausência ou presença de pequenos números de *Staphylococcus* coagulase positiva não é garantia de que o alimento seja seguro para consumo, pois se quantidades consideráveis de enterotoxinas já tiverem sido produzidas, elas podem provocar intoxicações alimentares (SÁ, 2012).

Em contrapartida aos resultados obtidos no presente estudo, Lima e Fogaça (2019) avaliaram nove amostras de queijos do tipo Minas Frescal produzidos de forma industrial, comercializados na Central de Abastecimento (CEASA), no município de Vitória da Conquista – Bahia, foram observados que 100% das amostras atenderam a legislação vigente para contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, apresentando ausência de *Staphylococcus*. Portanto é possível inferir que queijos produzidos de forma industrial possuem melhores práticas de processamento e entregam produtos mais seguros para os consumidores, quando comparados a queijos artesanais.

A alta taxa de contaminação dos queijos pode ser justificada pela carência de boas práticas na fabricação de produtos frescos, bem como matéria de qualidade higiênico sanitária insatisfatória dos equipamentos e das pessoas que os manipulam, podendo oferecer riscos à saúde do consumidor. Essas contaminações sugerem falhas durante e após a preparação do alimento, temperatura e condições de conservação inadequadas. Além disso, outras medidas são essenciais para a produção de queijos livres de patógenos,

como a pasteurização que, quando aplicada ao leite cru, diminui a população de microrganismos, além de manter condições adequadas durante a fabricação até a venda aos consumidores (KOMATSU et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2015; MOTTIN et al., 2016; SOBRAL et al., 2017).

Acredita-se que a principal forma de contaminação por *Staphylococcus* nos QMFA ocorre durante o manuseio do produto em sua fabricação, entre esses patógenos o mais prevalente é o *Staphylococcus aureus*, pois é uma bactéria presente na microbiota da pele e mucosas humanas (ALMEIDA et al., 2016; SCHER et al., 2018). Além disso, a falta de fiscalização na comercialização em feiras livres por ambulantes, muitas vezes em condições de higiene e sanitária irregulares, pode corroborar para uma redução da qualidade dos queijos Minas Frescal Artesanal (AMORIM et al., 2014).

Os manuseadores de alimentos podem ser carreadores assintomáticos de *Staphylococcus* coagulase positiva nas cavidades nasais e mãos, o que contribui para contaminação do alimento e conseqüentemente na produção de enterotoxinas, uma vez que produzidas podem permanecer ativas no queijo, mesmo após processos de tratamento térmico, como a pasteurização, o que pode desencadear no consumidor final uma intoxicação alimentar (NECIDOVA et al., 2016; SOUZA et al., 2017). As enterotoxinas estafilocócicas, podem ser divididas sorologicamente em cinco grupos distintos: A, B, C, D e E, sendo o tipo A responsável por cerca de 77% dos casos (FORSYTHE, 2013).

No contexto fisiopatológico, uma hipótese defendida atualmente é que as enterotoxinas produzidas por *Staphylococcus aureus* atuam diretamente no trato gastrointestinal, causando uma resposta inflamatória, danificando principalmente o jejuno e o íleo. Alguns outros estudos defendem que as enterotoxinas, de forma indireta, ativam células T, macrófagos, monócitos e mastócitos, que expressam citocinas e metabólitos prejudiciais ao sistema gastrointestinal (WU et al., 2016).

A intoxicação estafilocócica é uma das causas mais frequentes de doenças transmitidas por alimentos em vários países. Os casos estão relacionados principalmente pelo consumo de produtos lácteos, entre eles, os queijos possuem maior prevalência (SILVA, 2017). Os principais sintomas da intoxicação são náusea, vômito, diarreia, dor abdominal, prostração, que podem se manifestar entre 30 minutos a 8 horas após a ingestão do alimento contaminado. Além disso, à medida que se torna mais grave, podem surgir outras queixas como cefaleia, câibras musculares, e sinais como oscilações da pressão arterial e frequência cardíaca (VIEIRA, 2017).

Essa doença é subnotificada, pois na maioria das vezes é autolimitada, tendo sua resolução em 24-48 horas, sem a necessidade de procurar o serviço de saúde. Em alguns casos está indicado a hidratação, reposição da flora intestinal, sintomáticos e antibioticoterapia, nas manifestações graves a hospitalização pode ser necessária. A morte é rara, mas em grupos de risco, os agravos podem ocorrer (VIEIRA, 2017; ANDRADE et al., 2019).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera as DTA's uma grande preocupação de saúde pública global e estima que, a cada ano, causem o adoecimento de uma a cada 10 pessoas e 33 milhões de anos de vida perdidos. No Brasil, de acordo com dados publicados pelo Ministério da Saúde, entre o ano de 2009 a 2018, foram notificados 6930 surtos de DTAs. Esse número equivale a 122.000 doentes, com 16.817 hospitalizados e 99 óbitos (BRASIL, 2020), portanto é importante promover a profilaxia das DTA's.

Dessa forma, durante a produção de queijo Minas Frescal Artesanal é necessário um processo rigoroso de controle durante a execução, armazenamento, embalagem até a venda do produto, levando em consideração a higiene, temperatura e validade para comercialização desse alimento. Assim é possível reduzir os riscos de contaminação, por meio da identificação etiológica do patógeno causador da doença (WHO, 2013).

Além disso, a fiscalização das feiras livres que comercializam queijos Minas Frescal Artesanal é de responsabilidade dos órgãos competentes. Assim, a Secretaria Municipal de Saúde, em parceria com a Vigilância Sanitária, necessita visitar periodicamente esses locais, a fim de identificar possíveis contaminações acima dos valores permitidos pela ANVISA que coloquem em risco a saúde do consumidor.

## 5 CONCLUSÃO

A partir da análise dos resultados observou-se que 100% das amostras foram contaminadas com *Staphylococcus sp.*, caracterizadas por bactérias Gram positivas e produtoras da enzima catalase. Além disso, 83,3% das amostras de queijo Minas Frescal Artesanal, comercializados em feiras livres do município de Ipatinga-MG, apresentaram baixa qualidade microbiológica, por não seguir a determinação da ANVISA que proíbe a comercialização deste alimento se valores de *Staphylococcus* coagulase positiva estiverem acima de  $10^3$  UFC/g, indicando um risco à saúde humana.

Ademais, vale a pena ressaltar que todas as amostras contaminadas por *Staphylococcus* coagulase positiva (83,3%) apresentaram valores de UFC/g acima de  $10^6$ . Entende-se que essa concentração de microrganismos é capaz de promover uma elevada produção de enterotoxinas, intensificando os riscos de intoxicação estafilocócica nos consumidores de queijo Minas Frescal Artesanal comercializados nas feiras livres avaliadas.

Estes resultados apontam prováveis erros no controle de qualidade e irregularidades sanitárias durante a produção, processamento, manuseio, armazenamento e refrigeração dos queijos Minas Frescal Artesanal. Além disso, questiona-se a qualidade do leite cru amplamente utilizado na preparação desse produto.

Contudo, a amostra coletada na feira 6, foi a única que apresentou contaminação apenas por *Staphylococcus* coagulase negativa, o que, de acordo com as normas da RDC pela ANVISA, não é abordado como um fator de risco para desenvolvimento de intoxicação alimentar.

Portanto, nota-se a necessidade de uma fiscalização mais eficaz e rigorosa pelos órgãos competentes, visando garantir a qualidade e segurança do produto final ao consumidor, evitando a propagação de surtos de intoxicações alimentares e um real risco à saúde pública do Município de Ipatinga.

## REFERÊNCIAS

ALMEIDA, M. S. C.; MENDONÇA, R. L.; FREITAS, M. Z. C.; VANDESMET, L. C. Staphylococcus Aureus. *Mostra Científica em Biomedicina*, v. 1, n. 1, p. 1- 7, 2016.

AMORIM, A. L. B. C.; COUTO, E. P.; SANTANA, A. P.; RIBEIRO, J. L.; FERREIRA, M. D. A. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão de produção industrial, artesanal e informal. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, v. 73, p. 364- 367, 2014.

APOLINÁRIO, T. C. C.; SANTOS, G. S.; LAVORATO, J. A. A. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo minas frescal produzido por laticínios do estado de Minas Gerais. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes, Juiz de Fora*, v. 69, n. 6, p. 433-442, 2014.

ARAÚJO, G. B. Detecção de resíduo de antibiótico em leite in natura em laticínio sob inspeção federal. *Scientia Plena*, v. 11, n. 4, p. 1-6, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, jan. 2001.*

BRASIL. Ministério da Agricultura. Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003. Oficializa os métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas e para controle de produtos de origem animal e águas. *Brasília, DF, 2003.*

BRASIL. Ministério da Saúde. Surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil. 2019. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>>. Acesso em: 22 jul. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças transmitidas por alimentos. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/doencas-transmitidas-por-alimentos>>. Acesso em: 27 ago 2021.

CÂNDIDO, T. J. S. Fatores de virulência e subtipagem de Staphylococcus aureus isolados de laticínios orgânicos e convencionais no Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.

CDC. Surtos de Alimentos. 2017. Disponível em:<<https://www.cdc.gov>>. Acesso em: 16 mai. 2021.

COSTA, R. G. B. C.; MARTINS, M.F.; MENDONÇA, J.F. M.; BORGES, M. F. Controle de qualidade em queijo minas padrão: métodos físico-químicos, microbiológicos e moleculares. *Embrapa, Brasília, DF, 2019.*

DIAS, B. F.; FERREIRA, S. M.; CARVALHO, V. S.; SOARES, D. S. B. Qualidade microbiológica e físico-química de queijo minas frescal artesanal e industrial. *Revista de Agricultura Neotropical, Cassilândia-MS*, v. 3, n. 3, p. 57-64, jul./set. 2016.

EUZÉBY, J. P. List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature –Genus Staphylococcus. LPSN, 2013. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/s/Staphylococcus.html>>. Acesso em: 10 jun. 2021.

FEITOSA, A. C.; RODRIGUES, R. M.; TORRES, E. A. T. T.; SILVA, J. F. M. Staphylococcus aureus em alimentos. Revista Desafios, Tocantins, v. 04, n. 04, p. 15-31, 2017.

FERREIRA, A. C. M.; SILVA, H. A. Indicadores higiênicos sanitários em queijos do tipo minas frescal na cidade de Uberlândia-MG. Revista Brasileira Multidisciplinar, vol. 24, n. 1, 2021.

FORSYTHE, S. J. Microbiologia da segurança dos alimentos. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 607 p.

JÚNIOR, F. J. T. M. S. Pesquisa de staphylococcus coagulase positivo em Queijos tipo coalho produzidos com leite cru e comercializados em três municípios do agreste paraibano. 2017. 27 f. Monografia (Curso de bacharelado em medicina veterinária) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia Paraíba, 2017.

JÚNIOR, F. P. A. I.; LIMA, B. T. M.; ALVES, T. W. B.; MENEZES, M, E. S. Fatores que propiciam o desenvolvimento de Staphylococcus aureus em alimentos e riscos atrelados a contaminação: uma breve revisão. Revista de Ciências Médicas e Biológicas, Salvador, v. 18, n. 1, p. 89-93, jan/abr. 2019.

KOMATSU, R. S.; RODRIGUES, M. A. M.; LORENO, W. B. N.; SANTOS, K. A. Queijo artesanal comercializado em Uberlândia-MG. Bioscience Journal., Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 311-315, março/abril, 2010.

KONEMAN, E. W.; ALLEN, S. D.; JANDA, W. M.; PROCOP, G. W.; CHURCH, D. L.; WOODS, G. L. et al. Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido. 7ª ed. Guanabara Koogan, 2018. p. 1860.

LIMA, M. L.; FOGAÇA, L. C. S. Ocorrência de Staphylococcus aureus em Queijos Minas Padrão comercializados no município de Vitória da conquista – Bahia. Id on Line Revista de Psicologia., vol. 13, n. 43, p. 819-827, 2019. Disponível em: <Ocorrência de Staphylococcus aureus em Queijos Minas Padrão Comercializados no Município de Vitória da Conquista - Bahia | Lima | ID on line. Revista de psicologia (emnuvens.com.br)>. Acesso em: 25 ago. 2021.

MENDES, L. A. B.; PAULA, D. S.; GOMES, J. O.; OLIVEIRA, L. G.; MORAIS, M. G. CORTEZ, E. N. et al. Avaliação da presença de estafilococos coagulase positiva em “queijo minas artesanal” comercializados na microrregião de Bom Despacho-MG. Formiga, v.13, n.1, p. 18-26, 2018.

MOTTIN, V. D.; SILVA, L. L.; ROCHA, J. N.; TEIXEIRA NETO, M. R. Quantificação e correlações de parâmetros microbiológicos em queijos minas frescal no Sudoeste da Bahia. Revista Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia, Umuarama, v.19, n.3, p.137-142, 2016.

NECIDOVA, L.; BOGDANOVICOVA, K; HARUSTIAKOVA, D.; BARTOVA, K. Short communication: Pasteurization as a means of inactivating staphylococcal enterotoxins A, B, and C in milk. *Journal of Dairy Science*, Lancaster, v. 99, n.11, p. 8638–8643, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11252>> Acesso em: 28 ago. 2021.

OLIVEIRA, K. M. L.; CARVALHO, J. B.; RAMOS, L. P. S.; GELATTI, L. C. Presença de *Staphylococcus aureus* em queijos artesanais comercializados na cidade de Uruaçu-Goiás. *Ciências Humanas, saúde e tecnologia*. 2015.

OLIVEIRA, F. I. P.; COSTA, M. T. P.; FRAGA, A. C. A.; OBERG, M. L. B. M.; VASCONCELOS, M. P.; COSTA, T. E. S. et al. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo coalho. *Cadernos ESP*, Ceará, v. 13, n. 2, p. 82-93, 2019.

PERIN, L. M.; SARDARO, M. L. S.; NERO, L. A.; NEVIANI, E. GATTI, M. et al. Bacterial ecology of artisanal Minas cheeses assessed by culture-dependent and independent methods. *Food Microbiology*, v. 65, p. 160-169, 2017.

SÁ, J. F. O. Caracterização Microbiológica de Doce de Leite, Leite Condensado e Queijo Minas Padrão por Metodologia Clássica e Padronização de Multiplex para Detecção de Patógenos por PCR em Tempo Real. 2012. Dissertação (Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia do Leite e Derivados) – Área de concentração: Qualidade de Leites e Derivados, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

SANTIAGO, M. C. L. Pesquisa de *Staphylococcus coagulase positiva* produtor da toxina 1 da síndrome do choque tóxico (tsst-1) em amostras de queijo minas artesanal. 2019. 47 f. (Monografia de Pós-Graduação para Título de Especialista em Microbiologia Aplicada) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2019.

SCHER, D. D.; LIMA, A. P. F.; FIGUEIRA, P. T.; HOSCHEID, J. Ocorrência de *Escherichia coli* e *Staphylococcus sp.* em queijos do tipo Minas Frescal comercializados em feiras livres e supermercados no Oeste do Paraná. *Brazilian Journal of Food Research*, v. 9, n. 4, p. 105- 115, 2018.

SILVA, R. O. J. Caracterização fenotípica de resistência antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* e termotolerantes isolados de queijos de Coalho. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) - Universidade Federal de Pernambuco, Vitória de Santo Antão, 2018.

SOBRAL, D.; COSTA, R. G. B.; PAULA, J. C. J. TEODORO, V. A. M.; MOREIRA, G. M. M.; PINTO, M. S. Principais defeitos em queijo Minas Artesanal: Uma revisão. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 72, n. 2, p. 108-120, abr/jun, 2017.

SOUZA, I. A.; GIOVANNETTI, A. C. S.; SANTOS, L. G. F.; GANDRA, S. O. S.; MARTINS, M. L.; RAMOS, A. L. S. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.72, n.3, p. 152-162, 2017.

TAVARES, A. B.; CAVALCANTI, E. A. N. L. D.; TIMM, C. D.; LIMA, H. G.; CERESER, N. D. Queijo artesanal produzido no sul do Rio Grande do Sul: avaliação físico-química, microbiológica e suscetibilidade a antimicrobianos isolados de *Staphylococcus coagulase positiva*. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 20, p 1-10, 2019.

TRENTO, A. Colorações usadas em microbiologia. 2018. 13 f. Artigo Científico apresentado a ACT – Academia de Ciência e Tecnologia para a obtenção do grau de Especialista em Microbiologia Clínica. São José do Rio Preto, 2018.

VIEIRA, T. R. Pesquisa de *Staphylococcus spp.* coagulase negativa em queijo colonial inspecionado: identificação, perfil de genes de enterotoxinas clássicas e de resistência à penicilina e à meticilina. 2017. 85f. Dissertação – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, RS, 2017.

VINHA, M. B.; PINTO, C. L. O.; CHAVES, J. B. P. Estafilococos coagulase positiva em queijos minas frescal produzidos em agroindústrias familiares. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v. 73, n. 2, p. 62-72, abr/jun 2018.

WHO - World Health Organization. Prevention of foodborne disease: Five keys to safer food. 2013. Disponível em: <<http://www.who.int/foodsafety/consumer/5keys/en/>>. Acesso em: 20 jul 2021.

WU, S.; DUAN, N.; GU, H.; HAO, L.; Y.E, H.; GONG, W. et al. A Review of the Methods for Detection of *Staphylococcus aureus* Enterotoxins. *Toxins*. v.8, n. 7, 2016. Disponível em: <[doi:10.3390/toxins8070176](https://doi.org/10.3390/toxins8070176)>. Acesso em: 28 ago 2021.