

**BACTÉRIAS PATOGENICAS EM RICOTAS: VERIFICAÇÃO DA PRESENÇA DE
Listeria monocytogenes E *Salmonella* sp.**

DANILO FLORISVALDO BRUGNERA¹, MAÍRA MACIEL MATTOS DE OLIVEIRA²,
NATÁLIA GONÇALVES CAMARGOS³, NÁDIA NARA BATISTA⁴, TENILLE RIBEIRO
DE SOUZA⁵, ROBERTA HILSDORF PICCOLI⁶

RESUMO

Devido as suas características intrínsecas, a ricota fresca é um dos alimentos que apresentam as melhores condições para o desenvolvimento de microrganismos, tanto deterioradores como patogênicos, o que reduz sua vida de prateleira, além de colocar em risco a saúde do consumidor. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica das ricotas com certificação do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) ou Serviço de Inspeção Federal (SIF) comercializadas em Lavras - MG, quanto à presença de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. Foram analisadas um total de 28 amostras de 10 marcas diferentes. Com exceção de uma das marcas, para qual foi realizada a coleta de apenas 1 amostra, para as demais foram coletadas 3 amostras por marca. As coletas foram realizadas no período de Setembro de 2009 a Fevereiro de 2010. As análises microbiológicas de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que as ricotas apresentaram qualidade microbiológica satisfatória, uma vez que todas as amostras apresentaram ausência tanto de *L. monocytogenes* quanto de *Salmonella* sp., estando de acordo com a legislação brasileira. No entanto, devido à alta patogenicidade dos microrganismos em questão, monitoramentos periódicos devem ser realizados pelos órgãos competentes para garantir o fornecimento de um produto que não ofereça riscos a saúde do consumidor.

Palavras-chave: ricota, qualidade microbiológica, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp.

INTRODUÇÃO

A ricota é um queijo suave, não maturado, tradicionalmente produzido na Itália a partir do leite de ovelha. Na atualidade, atingiu maior popularidade, sendo elaborada de soro ou de uma mistura de soro e leite bovino pasteurizado integral ou desnatado (FARKYE, 2004). Pode ser comercializada fresca, condimentada ou até mesmo defumada. É considerada um produto de alto valor protéico, apresenta textura delicada, sabor típico (suave, levemente ácido e adocicado) e elevada porcentagem de lactose em comparação a outros tipos de queijos (WHITNEY, 1988; FOX et al., 2000).

Devido as suas características intrínsecas, a ricota fresca é um dos alimentos que apresentam as melhores condições para o desenvolvimento de microrganismos, tanto deterioradores como patogênicos, o que reduz sua vida de prateleira, além de colocar em risco a saúde do consumidor (MAIA et al., 2004). Além disso, apesar da elevação da temperatura

¹ Mestrando em Ciência dos Alimentos, DCA/UFLA, danilobrugnera@hotmail.com

² Doutoranda em Ciência dos Alimentos, DCA/UFLA, mmacielmattos@yahoo.com.br

³ Graduanda em Engenharia de Alimentos, UFLA, natycamargos@yahoo.com.br

⁴ Graduanda em Engenharia de Alimentos, UFLA, ndianara.batista@gmail.com

⁵ Graduanda em Agronomia, UFLA, tenilleribeirokz@hotmail.com

⁶ Professora Adjunto, DCA/UFLA, rhpicoli@dca.ufla.br

do soro ou mistura durante a fabricação da ricota favorecer a obtenção de uma massa com baixa contagem microbiana, sabe-se que após sua obtenção essa massa fica exposta a inúmeros pontos de contaminação, principalmente por ser excessivamente manipulada (RIBEIRO et al., 2005).

Dentre os microrganismos capazes de contaminar a ricota durante seu processamento, encontram-se *Salmonella* sp. e *Listeria monocytogenes*. Segundo De Buyser et al. (2001), essas espécies de bactérias são patógenos que constituem grande ameaça à segurança de queijos. De acordo com Costa et al. (2002), diversos surtos de toxinfecções alimentares têm sido associados à ingestão de produtos lácteos.

O gênero *Listeria* é constituído por bastonetes Gram-positivos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, móveis por flagelos peritríquios, catalase positiva e oxidase negativa. Apresenta temperatura de crescimento de 2,5 à 44°C, sendo capaz de se desenvolver sob refrigeração, multiplicando-se em alimentos mantidos nestas condições. A faixa de pH para seu desenvolvimento varia de 4,5 a 9,5 (ICMSF, 1996; FRANCO & LANDGRAF, 2002).

L. monocytogenes é um dos microrganismos patogênicos de maior severidade à saúde humana. Tem sido associada à vários surtos de origem alimentar, tendo como veículo o ambiente e alimentos (vegetais, carnes, leite e derivados), destacando-se os queijos (LONCAREVIC et al., 1998).

A ingestão de alimentos contaminados por *L. monocytogenes* pode ocasionar uma infecção de origem alimentar denominada listeriose, que acomete, principalmente, gestante, idosos, recém-nascidos e pacientes imunodeprimidos. No entanto, há relatos de surtos de gastroenterite febril envolvendo indivíduos saudáveis. A listeriose destaca-se por sua elevada taxa de mortalidade (25-30%) e baixa dose infectiva (LADO & YOUSEF, 2006).

Salmonella sp. são bacilos retos, Gram-negativos, não esporulados, anaeróbicos facultativos, pertencentes à família *Enterobacteriaceae*. São bactérias mesófilas, com crescimento entre 30-40 °C. Contudo, há relatos de sorotipos psicotróficos. Crescem em ampla faixa de pH (4,5 a 8,0), com ótimo de 6,0 a 7,5. A atividade de água (a_w) para crescimento varia de 0,93 a 0,96, mas podem sobreviver por longo período em alimentos com baixa a_w . São capazes de crescer em concentrações moderadas de cloreto de sódio (3-5%) (D'AOUST et al., 2001; BOPP et al., 2003). Sabe-se que *Salmonella* sp. mantém-se viável em queijo contaminado por longo período de tempo (MODI et al., 2001), tal fato ressalta a importância do controle de qualidade microbiológica do produto.

A salmonelose, geralmente, é causada pelo consumo de alimentos de origem animal contaminados por *Salmonella* sp., como aves, ovos carnes, e leite e seus derivados, embora muitos outros alimentos, incluindo vegetais contaminados, têm sido implicados na transmissão da doença. Este patógeno ocorre desde a cadeia de produção primária de alimentos até o ambiente doméstico ou estabelecimentos e instituições de serviços de alimentação. *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium são os sorotipos de maior importância na transmissão de salmonelose humana (D'AOUST et al., 2001).

Diante do exposto, verifica-se a necessidade de monitoramento da qualidade microbiológica de ricotas, com intuito de garantir a segurança alimentar deste produto. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica das ricotas com certificação do Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) ou Serviço de Inspeção Federal (SIF) comercializadas em Lavras - MG, quanto à presença de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta das amostras

Amostras de ricota com selo inspeção federal ou estadual foram coletas no comércio de Lavras - MG, acondicionadas em caixa isotérmica e imediatamente levadas ao laboratório para realização das análises microbiológicas. Foram analisadas um total de 28 amostras de 10 marcas diferentes. Com exceção de uma das marcas, para qual foi realizada a coletas de apenas 1 amostra, para as demais foram coletadas 3 amostras por marca. As coletas foram realizadas no período de Setembro de 2009 a Fevereiro de 2010. Todas as amostras analisadas estavam dentro do prazo de validade estabelecido pelo fabricante e eram pertencentes a diferentes lotes de fabricação. As análises microbiológicas de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. foram realizadas no Laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciências dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, segundo metodologias da US *Food and Drug Administration* (FDA) (Hitchins, 2003) e ISO 6579 (2007), respectivamente.

Análises microbiológicas

As embalagens das amostras foram cuidadosamente limpas com detergente neutro e sanitizadas com álcool 70% (v/v). A retirada da unidade analítica foi realizada com auxílio de facas e espátulas estéreis.

Listeria monocytogenes

Inicialmente, foi realizada a etapa de enriquecimento, que consistiu na homogeneização de 25 g da amostra em *Stomacher* (490 golpes/minuto, durante 2 minutos) com 225 mL do caldo Universidade de Vermont (UVM) e incubação a 30 °C por 24, 48 e 168 horas. Após esses períodos, alíquotas foram estriadas em placas de Petri contendo ágar Palcam e ágar Oxford, as quais foram incubadas a 35 °C por 48 horas. Em seguida, colônias típicas foram transferidas para tubos contendo caldo *Brain Heart Infusion* (BHI), com incubação a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, foram realizadas estrias em ágar Palcam e ágar Oxford para obtenção de culturas puras. As colônias características foram transferidas para tubos contendo BHI, com incubação a 37 °C por 24 horas. Posteriormente, as cepas suspeitas foram submetidas aos seguintes testes bioquímicos: motilidade, catalase, oxidases, urease, fermentação, manitol, xilose e rhamnose.

***Salmonella* sp.**

Para o pré-enriquecimento, amostra de 25 g foram adicionadas em água peptonada tamponada e homogeneizadas em *Stomacher* (490 golpes/minuto, durante 2 minutos) e incubadas a 35 °C por 18 horas. Para o enriquecimento, utilizaram-se os caldos Tetrionato (TT) e Rappaport (RR), com incubação a 35 °C por 24 horas. Após o enriquecimento, alíquotas dos Caldos TT e RR foram estriadas em ágar Hecktoen e ágar Rambach, sendo estes incubados por 24 horas a 37 °C. Colônias suspeitas de *Salmonella* sp. foram retiradas e transferidas para tubos contendo ágar Ferro Tríplice Açúcar (TSI) e ágar Lisina Ferro (LIA). Para confirmação da presença de *Salmonella* sp., cepas suspeitas foram submetidas a coloração de Gram, teste de oxidase e provas bioquímicas utilizando Bactray ® I e II.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi detectadas a presença de *L. monocytogenes* e *Salmonella* sp. em nenhuma das 28 amostras analisadas. Este resultado indica que as ricotas estavam dentro dos padrões estabelecidos pela legislação brasileira (BRASIL, 2001), ou seja, ausência em 25 g do produto, não oferecendo riscos a saúde do consumidor quanto à presença destes microrganismos.

No que diz respeito à ausência de *L. monocytogenes* e *Salmonella* sp. em ricota, resultados semelhantes foram encontrados por Cosseddu et al. (1998), Paris et al. (2004) e

Santos et al. (2008). Embora Esper (2006), avaliando 45 amostras de ricotas comercializadas na cidade de Campinas -SP, tenha encontrado ausência de *Salmonella* sp. em todas as amostras analisadas, *L. monocytogenes* foi detectada em 6,7% das amostras. Enquanto Zaffari et al. (2007) isolaram três cepas de *L. monocytogenes* a partir de queijos tipo ricota, comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul.

CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que as ricotas apresentaram qualidade microbiológica satisfatória, uma vez que todas as amostras apresentaram ausência tanto de *L. monocytogenes* quanto de *Salmonella* sp., estando de acordo com a legislação brasileira. No entanto, devido à alta patogenicidade dos microrganismos em questão, monitoramentos periódicos devem ser realizados pelos órgãos competentes para garantir o fornecimento de um produto que não ofereça riscos a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 02 de janeiro de 2001. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=144>>. Acesso em: 17 de Agosto de 2010.

COSSEDDU, A. M.; SANTIS, E. P. L. de; MAZZETTE, R.; FRESI, A.; Lai, G. Fresh cows' milk Ricotta: microbiological characteristics of hygienic and sanitary interest. **Latte**, v. 22, n. 7, p. 76–81, jul. 1998.

ESPER, L.M.R. **Diagnóstico da qualidade de ricotas comercializadas no município de Campinas-S.P.** 2006. 97 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.

FARKYE, N.Y. Acid and Acid/Renner curd-cheeses Part C. Acid-heat Coagulated Cheeses. In: FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. 3 ed. London: Elsevier Academic Press, 2004. v. 2, cap. 6, p. 343-348.

FOX, P.F.; GUINEE, T.P.; COGAN, T.M.; McSWEENEY, P.L.H. Fresh acid-curd cheese varieties. In: _____. **Fundamentals of cheese science**. Gaithersburg, Maryland: Aspen Publishers, Inc, 2000. cap. 16, p. 363-387.

LADO, B.H.; YOUSEF, A.E. Characteristics of *Listeria monocytogenes* Important to Food Processors. In: RYSER, E., MARTH, E.H. (Eds.), **Listeria, Listeriosis and Food Safety**. Boca Raton: CRC Press, 2006. p. 157-213.

MAIA, S. M.; FERREIRA, A. C.; ABREU, L. R. de. Uso do açafrão (*Curcuma longa* L.) na redução da *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048) em ricota. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 358-365, mar./abril. 2004.

PARIS, A.; BACCI, C.; SALSI, A.; BONARDI, S.; BRINDANI, F. Microbial characterization of organic dairy products: stracchino and ricotta cheeses. **Annali della Facoltà di Medicina Veterinaria**, Parma, v. 24, p. 317-325, 2004.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA

27 de setembro a 01 de outubro de 2010

RIBEIRO, A. C.; MARQUES, S. C.; SODRÉ, A. F.; ABREU, L. R. de; PICOOLI, R. H. CONTROLE MICROBIOLÓGICO DA VIDA DE PRATELEIRA DE RICOTA CREMOSA. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 113-117, jan./fev. 2005.

SANTOS, V.A.Q.; CARVALHO, C.C.P. de; GONÇALVES, T.M.V.; HOFFMANN, F.L. Controle microbiano em linha de produção de queijos Minas Frescal e Ricota. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, v. 103, n. 567/568, p. 219-227, 2008.

WHITNEY, R. McL. Proteins of Milk. In: WONG, N. P.; JENNESS, R.; KEENEY, M.; MARTH, E. H. **Fundamentals of dairy chemistry**. 3 ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1988. p. 81-169.

ZAFFARI, C. B.; MELLO, J. F.; COSTA, M. da. Qualidade bacteriológica de queijos artesanais comercializados em estradas do litoral norte do Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 862-867, mai./jun. 2007.

De BUYSER M. L.; DUFOUR, B.; MARIE, M.; LAFARGE, V. Implication of milk and milk products in food-borne disease in France and in difference industrialized countries. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.67, p.1-17, jan.2001.

COSTA, F. N.; LIMA, R. M. S.; RABELO, R. N. Comportamento frente à ação de antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva, *Escherichia coli* e *Bacillus cereus* isolados de derivados lácteos. **Higiene Alimentar**, v. 16, n. 92/93, p. 80-83, Jan./Fev. 2002.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de Alimentos**. São Paulo, Editora Atheneu, 2002. 182p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Characteristics of microbial pathogens**. London: Chapman & Hall, 1996. 613 p.

D'AOUST, J. Y.; MAURER, J.; BAILEY, J. S. *Salmonella* species. In: DOYLE, M. P.; BEUCHAT, L. R.; MONTVILLE, T. J. (Ed.) **Food microbiology, fundamentals and frontiers**. 2. ed. Washington: ASM, 2001. p. 383-409.

BOPP, A. C.; BRENNER, F. W.; FIELDS, P. I.; WELLS, J. G.; STROCKBINE, N. A. *Escherichia coli*, *Shigella*, and *Salmonella*. In: MURRAY, P. R.; BARON, E. J.; JORGENSEN, J. H.; PFALLER, M. A.; YOLKEN, R. H. (Ed.). **Manual of clinical microbiology**. 8. ed. v. 1. Washington D. C.: ASM, 2003. p. 654-671.

MODI, R.; HIRVI, Y.; HILL, A.; GRIFFITHS, M.W. Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar cheese made from raw and pasteurized milk. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 64, n.7, p. 927-933, jul. 2001.

ISO 6579. Microbiology of food and animal feeding stuffs – **Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.**, 4th ed. 2002. The International Organization for Standardization, amendment 1:15/07/2007.

XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA
27 de setembro a 01 de outubro de 2010

HITCHINS, A.D. Detection and enumeration of *Listeria monocytogenes* in foods. In: U S Food and Drug Administration (FDA). **Bacteriological Analytical Manual Online**, 2003. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-10.html>>. Acesso em: 27 de Dezembro de 2005.

LONCAREVIC, S.; BILLE, E. B. J.; THAM, M. L. D.; THAM, W. Characterization of *Listeria* strains isolated from soft and semi-soft cheeses. **Food microbiology**, London, v.15, p. 521-525, oct. 1998.