



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO – UEMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS - CCA
CURSO DE ZOOTECNIA

JENYFFER CRISTINE DE LEMOS SOUSA

**OCORRÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS EM QUEIJOS ARTESANAIS
ELABORADOS A PARTIR DE LEITE DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*): impacto para a
saúde pública?**

SÃO LUÍS

2025

JENYFFER CRISTINE DE LEMOS SOUSA

**OCORRÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS EM QUEIJOS ARTESANAIS
ELABORADOS A PARTIR DE LEITE DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*): impacto para a
saúde pública?**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado junto ao Curso de Zootecnia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), para a obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Profa. Dr^a. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra

SÃO LUÍS

2025

Sousa, Jenyffer Cristine de Lemos.

Ocorrência de enterobactérias em queijos artesanais elaborados a partir de leite de búfala (*Bubalus bubalis*): impacto para a saúde pública?/ Jenyffer Cristine de Lemos Sousa. - São Luís - MA, 2025.

34 f.

Monografia (Curso de Zootecnia) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2025.

Orientadora: Profa. Dr^a. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra.

1. *Bubalus bubalis*. 2. Família Enterobacteriaceae. 3. Queijos tradicionais.
I. Título.

CDU: 637.3

JENYFFER CRISTINE DE LEMOS SOUSA

**OCORRÊNCIA DE ENTEROBACTÉRIAS EM QUEIJOS ARTESANAIS
ELABORADOS A PARTIR DE LEITE DE BÚFALA (*Bubalus bubalis*): impacto para a
saúde pública?**

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)
apresentado junto ao Curso de Zootecnia da
Universidade Estadual do Maranhão (UEMA),
para a obtenção do título de Bacharel em
Zootecnia.

Aprovado em: 23/12/2025



Documento assinado digitalmente

NANCYLENI PINTO CHAVES BEZERRA

Data: 11/01/2026 22:40:03-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra

Orientadora

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA



Documento assinado digitalmente

DIANA VALADARES PESSOA

Data: 12/01/2026 09:15:43-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Diana Valadares Pessoa

1º Membro

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA



Documento assinado digitalmente

ESTER CLEVIA DOS SANTOS

Data: 11/01/2026 22:49:36-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dr^a. Ester Clévia dos Santos Vieira

2º Membro

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

SÃO LUÍS

2025

Dedico este trabalho, aos meus pais e aos meus irmãos, que sempre me apoiaram e acreditaram em mim. E a todos que, sempre me ajudaram.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter-me concedido a dádiva de ingressar na tão almejada faculdade, por estar ao meu lado durante todos esses anos e por sua presença constante em cada etapa da minha vida, seja nos momentos de alegria ou nas fases mais difíceis. Agradeço profundamente por tudo o que o Senhor realizou em minha trajetória.

À minha família, em especial à minha mãe, Francelina Almeida, e ao meu pai, Eldon Carlos, por sempre terem se esforçado além dos próprios limites para que eu pudesse concluir minha formação acadêmica. Sou eternamente grata por todo o apoio, incentivo e amor incondicional. Não consigo imaginar ter iniciado a graduação sem a presença e o suporte de vocês, que sempre me mostraram o caminho certo a seguir. Aos meus irmãos, Crysthian Lemos e Kauanny Lemos, que compartilharam comigo inúmeros momentos, risadas e histórias, e que tantas vezes me ajudaram, mesmo sem perceber. Amo vocês profundamente. Obrigada por fazerem parte dessa conquista, vocês são parte essencial da minha vida e do meu coração.

Ao meu namorado, Gustavo Coêlho, que desde o início da nossa história me mostrou que não preciso carregar o mundo sozinha. Seu apoio incondicional, carinho e palavras de conforto foram fundamentais, especialmente nos momentos em que até eu mesma duvidei da minha capacidade. Cada conversa, sorriso e instante vivido ao seu lado se tornou especial. Obrigada por tudo, meu amor. Eu te amo.

À minha tia, Carmem Lemos, e aos meus primos, Lizandra Brito e Daniel Brito, por abrirem as portas do seu lar e me acolherem com tanto carinho, permitindo que eu pudesse concluir meus estudos. Reconheço e valorizo profundamente o esforço e a dedicação de vocês. Obrigada por sempre me fazerem sentir em casa. Amo vocês.

À minha amiga Thauane Dutra, por ser uma confidente maravilhosa, por me ouvir com paciência sempre que precisei desabafar e por estender a mão quando mais precisei. Sua amizade foi essencial nessa jornada. Obrigada por estar presente em todos os momentos.

Aos meus colegas de caminhada acadêmica, especialmente ao grupo Bico Seco. Ter convivido com vocês ao longo desses anos tornou essa experiência muito mais leve, divertida e inesquecível. Desde a primeira semana de aula, formamos um laço que resistiu ao tempo e aos desafios, compartilhando juntos todas as emoções e aprendizados que a graduação proporcionou. Ter vivido tudo isso ao lado de vocês foi, sem dúvida, algo singular e memorável.

Às minhas amigas Bruna Letícia e Carlyne Maya, por dividirem comigo cada desafio, conquista e etapa durante o curso. A presença de vocês tornou cada momento mais especial e significativo. Ter o apoio e a parceria de vocês foi essencial para a minha formação. Ainda me parece surreal que essa etapa tenha se encerrado, mas carrego a certeza de que nossa amizade continuará firme, e que possamos continuar unidas como As Três Espiãs Demais, já que era esse o nosso apelido.

À Sara Eduarda, que começou como colega de curso e se tornou uma grande amiga. Sua ajuda foi crucial na reta final da graduação. Acredito que Deus nos uniu no momento certo para que pudéssemos trilhar esse caminho juntas. Sou muito grata por cada conversa, conselho e companhia.

À professora Dra. Nancyleni Pinto Chaves Bezerra, minha orientadora, que aceitou com generosidade o desafio de me guiar neste trabalho. Agradeço sinceramente por cada palavra de apoio e orientação. Sua dedicação como professora, mãe e orientadora é inspiradora. Obrigada pelo cuidado, paciência e atenção.

À equipe do Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água da Universidade Estadual do Maranhão (LMAA/UEMA), em especial à Ester Clévia e à Davilly de Sousa, pela orientação, ensinamentos e disposição em compartilhar conhecimento ao longo de todo o processo.

Ao curso de Zootecnia e a todos os docentes que contribuíram com minha formação. Agradeço especialmente aos professores Danilo Cutrim Bezerra, Raimundo Calixto Martins Rodrigues e Helder Luís Chaves Dias pelos conselhos, ensinamentos e incentivo.

À UEMA, instituição que tornou possível a realização de um grande sonho: a conclusão do curso de graduação em Zootecnia.

“Não temas, porque eu sou contigo; não te assombres, porque eu sou o teu Deus; eu te fortaleço, e te ajudo, e te sustento com a minha destra fiel.”
Isaías 41:10

Meus sinceros agradecimentos!

“A qualidade nunca se obtém por acaso; ela é sempre o resultado do esforço inteligente.”

John Ruskin

RESUMO

O Brasil detém um dos maiores rebanhos de bubalinos do mundo Ocidental, com os animais bem adaptados as condições edafoclimáticas brasileiras. O leite de búfala possui diferentes peculiaridades que se adequa muito bem à produção de derivados do leite, como o queijo. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a ocorrência de enterobactérias em queijos artesanais elaborados a partir de leite de (*Bubalus bubalis*), promovendo a discussão no âmbito do impacto para a saúde pública. Para isso, foram coletadas e analisadas 20 amostras de queijo artesanal oriundas dos municípios de São Bento e Viana, localizados na Baixada Maranhense. Em ambiente laboratorial, foram removidas as unidades analíticas para o isolamento por meio de técnicas microbiológicas padronizadas e, identificação das enterobactérias com a utilização de um painel bioquímico comercial composto por 23 parâmetros. Foram quantificadas enterobactérias em 100% das amostras, com populações bacterianas que variaram de $2,4 \times 10^3$ a $5,68 \times 2,02 \times 10^7$ UFC /g para o queijo manteiga e, de $6,7 \times 10^2$ a $1,59 \times 10^7$ para o coalho e isoladas 183 cepas bacterianas, com a identificação de 11 gêneros bacterianos diferentes e 18 espécies de enterobactérias. Dessas, destaca-se a *Pantoea agglomerans*; *Proteus mirabilis*; *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* pela presença em diferentes ambientes e a recorrência em infecções humanas. Conclui-se que os altos percentuais de contaminação por enterobactérias sinalizam para a necessidade de implementação de práticas de higiene apropriadas e medidas de controle de qualidade microbiológica para garantir a segurança dos produtos lácteos produzidos artesanalmente, que sejam adequadas à realidade da produção, valorizando o saber dos produtores, mas sem negligenciar a segurança dos alimentos produzidos.

PALAVRAS-CHAVE: *Bubalus bubalis*. Família Enterobacteriaceae. Queijos tradicionais.

ABSTRACT

Brazil has one of the largest buffalo herds in the Western world, with the animals well adapted to Brazilian edaphoclimatic conditions. Buffalo milk has several peculiarities that make it very suitable for the production of dairy products, such as cheese. In this context, the objective was to evaluate the occurrence of enterobacteria in artisanal cheeses made from buffalo milk (*Bubalus bubalis*), promoting discussion within the scope of the impact on public health. To this end, 20 samples of artisanal cheese from the municipalities of São Bento and Viana, located in the Baixada Maranhense region, were collected and analyzed. In a laboratory setting, analytical units were removed for isolation using standardized microbiological techniques and identification of enterobacteria using a commercial biochemical panel composed of 23 parameters. Enterobacteriaceae were quantified in 100% of the samples, with bacterial populations ranging from 2.4×10^3 to $5.68 \times 2.02 \times 10^7$ CFU/g for butter cheese and from 6.7×10^2 to 1.59×10^7 for rennet, and 183 bacterial strains were isolated, identifying 11 different bacterial genera and 18 species of enterobacteria. Among these, *Pantoea agglomerans*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, and *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* stand out due to their presence in different environments and their recurrence in human infections. It is concluded that the high percentages of enterobacterial contamination indicate the need to implement appropriate hygiene practices and microbiological quality control measures to ensure the safety of artisanal dairy products, which are suitable to the reality of production, valuing the knowledge of the producers, but without neglecting the safety of the food produced.

KEY-WORDS: *Bubalus bubalis*. Enterobacteriaceae family. Traditional cheeses.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
APPCC	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
BHI	Caldo Cérebro-coração
BPA	Boas práticas Agropecuárias
BPF	Boas Práticas de Fabricação
DTHAs	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
EC	<i>Escherichia coli</i>
EMB	Ágar Eosina Azul de Metileno
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
LST	Lauril Sulfato Triptose
MCK	Ágar MacConkey
MG	Minas Gerais
NBRs	Normas Brasileiras
NMP	Número Mais Provável
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
OMS	Organização Mundial da Saúde
RPM	Rotações por Minuto
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
TSA	Ágar Triptona de Soja
TCC	Trabalho de Conclusão de Curso
UEMA	Universidade Estadual do Maranhão
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
VB	Verde Brilhante

SUMÁRIO

<i>CAPÍTULO I</i>	12
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	13
1.1 Justificativa.....	14
1.2 Objetivos.....	15
1.2.1 Geral.....	15
1.2.2 Específicos.....	16
1.3 Estrutura do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC).....	16
REFERÊNCIAS.....	16
<i>CAPÍTULO II</i>	19
Artigo Original.....	20
RESUMO.....	20
INTRODUÇÃO.....	21
MATERIAL E MÉTODOS.....	23
Universo da Pesquisa e Amostragem.....	23
Análises Microbiológicas.....	23
Quantificação de coliformes totais e termotolerantes.....	24
Pesquisa de enterobactérias.....	24
Análise de Dados.....	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
CONCLUSÃO.....	30
REFERÊNCIAS.....	30

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO GERAL

A valorização dos produtos regionais é uma tendência mundial, já que os consumidores estão sempre à procura de sabores originais. No que concerne aos queijos, sua preservação é uma preocupação em muitas Regiões brasileiras, pois diversos tipos de queijos são referências culinárias e constituem uma das importantes atividades que promove a geração de valor à pequena propriedade rural. Além de sua importância econômica e cultural, possui também relevância social, como ferramenta capaz de minimizar o êxodo rural, mantendo o produtor no meio rural (Figueiredo, 2014).

O leite de búfala (*Bubalus bubalis*) constitui uma matéria prima de qualidade para a elaboração de queijos e outros derivados lácteos. Todas as suas propriedades nutricionais refletem nos produtos derivados, que além de possuírem inúmeros benefícios para a saúde, ainda demonstram um rendimento quase 50 % superior ao do leite bovino. No Brasil, o leite de origem bubalina destina-se, principalmente ao mercado de derivados, como a muçarela de búfala, entretanto, prospectar o desenvolvimento de outros produtos, incluindo diferentes tipos de queijos, incluindo os artesanais, poderá ser uma alternativa importante, considerando o atual cenário de desenvolvimento de produtos artesanais e seu respaldo legal (Di Domenico, 2023).

No estado do Maranhão, o queijo de São Bento, produzido há quase 100 anos, é um produto bastante conhecido pelos maranhenses, por apresentar qualidade sensorial excepcional, estando na base da economia dos pequenos e até mesmo médios produtores rurais da Região (Nascimento *et al.*, 2012). Esse produto é típico desse Município, e sua produção envolve uma forma específica de fazer, ou seja, um conhecimento tradicional que vem passando de geração em geração e está circunscrita àquela área geográfica (Almeida *et al.*, 2015).

Apesar da importância dos queijos artesanais, como supracitado, o processo de produção deles deve seguir normas rigorosas de higiene. Estudos que versam sobre avaliação da qualidade de queijos artesanais brasileiros evidenciam diversos problemas relacionados à qualidade microbiológica e higiênico-sanitária deles, com destaque para: (i) utilização de matéria prima de baixa qualidade; (ii) produção em condições higiênicas inapropriadas; (iii) e, falhas na aplicação de boas práticas agrícolas e de fabricação (Carvalho, 2007; Araújo *et al.*, 2008; Figueiredo *et al.*, 2011; Bittencourt *et al.*, 2013; Simões *et al.*, 2014; Bendelak, 2015).

Os micro-organismos presentes em queijos podem ser desejáveis e/ou indesejáveis. Os indesejáveis são os deterioradores e/ou patogênicos, que exercem efeito negativo na qualidade

microbiológica e sensorial do produto e podem, em alguns casos, provocar doenças (Nóbrega, 2012). Para Bittencourt *et al.* (2013), um dos problemas de maior relevância nas queijarias da Ilha do Marajó, estado do Pará, é a falta de higiene e de cuidados básicos durante as etapas de elaboração do produto.

Gouvêa e Dias (2004) e Figueiredo (2006) detectaram contaminação por bactérias aeróbias mesófilas, com níveis de $1,4 \times 10^2$ UFC/g a $2,0 \times 10^2$ UFC/g, respectivamente. Bendelak (2015) observou a presença de coliformes a 35 °C e a 45 °C, com níveis de 110 NMP/g. Para esse último pesquisador, nas indústrias de laticínios, as ferramentas de gestão da qualidade devem ser implementadas para controlar a qualidade da matéria-prima e principalmente, as etapas de fabricação dos derivados, já que vários problemas associados à presença de micro-organismos patogênicos, como a *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, pode correr.

No Brasil, muitos laticínios já implementaram as boas práticas de fabricação (BPF) e a análise de perigos e pontos críticos de controle (APPCC), porém, poucas queijarias de pequeno porte o fizeram ou têm condições de implementá-las. Portanto, para impulsionar a qualidade de seus produtos, seria de grande benefício que as queijarias desenvolvessem e utilizassem programas de gestão da qualidade pautados nas especificidades (Figueiredo *et al.*, 2018) o que resultaria, indubitavelmente, na elevação da qualidade microbiológica dos queijos produzidos e em menores riscos associados ao consumo desses produtos.

1.1 Justificativa

Os queijos artesanais são importantes para o Brasil por diversas razões, com destaque para: (i) Patrimônio cultural – o modo de fazer o queijo artesanal é uma tradição que atravessa gerações e é um legado de técnicas ancestrais; (ii) Economia – a produção e comercialização de queijos artesanais gera emprego e renda, dinamiza o comércio e incentiva a permanência do agricultor no campo; (iii) Sustentabilidade - a produção artesanal certificada é sinônimo de boas práticas, como o cuidado com os animais, a gestão da propriedade rural e o uso eficiente da água; e, (iv) Turismo - a produção de queijos artesanais atrai turistas, que apreciam a gastronomia e que buscam conhecer os locais onde a produção acontece.

No estado do Maranhão, o queijo artesanal, como citado na Introdução deste trabalho, está arraigado na base da economia dos pequenos e até mesmo médios produtores rurais da Região. Porém, a produção e comercialização, ainda ocorre de forma não legalizada.

Apesar da importância dos queijos artesanais, como supracitado, o processo de produção deles deve seguir normas rigorosas de higiene. Condições sanitárias inadequadas adotadas no rebanho, controle de qualidade deficiente na obtenção da matéria prima, no seu beneficiamento e estocagem, podem resultar em um produto não conforme e em risco de infecções e intoxicações aos consumidores. Portanto, fica evidenciado a importância de discutir sobre o monitoramento e controle da contaminação microbiológica em queijos artesanais, com a finalidade de repassar aos produtores informações seguras sobre a necessidade da implantação de boas práticas agropecuárias (BPA) durante a ordenha e de BPF, para que o produto esteja dentro dos parâmetros de identidade e qualidade necessários para garantir a segurança do consumidor e, conseqüentemente um melhor retorno financeiro ao produtor.

Nesse contexto, este Trabalho Conclusão de Curso (TCC) está alinhado às políticas públicas do estado do Maranhão e do Brasil, tendo como diretriz o fortalecimento da implementação da Agenda 2030, que instituiu os Objetivos do Desenvolvimento Sustentável – ODS, com destaque aos objetivos: 3 - saúde e bem-estar; 9 - indústria, inovação e infraestrutura; e, 10 - redução das desigualdades (Onubr, 2015) e vem subsidiar a publicação de informações que possam permitir o acesso dos POAs, com destaque para o queijo artesanal (manteiga e coalho), provenientes da agricultura familiar aos mercados formais, contribuindo assim com o desenvolvimento sustentável do estado do Maranhão.

1.2 Objetivos

1.2.1 Geral

- Avaliar a ocorrência de enterobactérias em queijos artesanais elaborados a partir de leite de (*Bubalus bubalis*), promovendo a discussão no âmbito do impacto para a saúde pública.

1.2.2 Específicos

- Realizar o isolamento bacteriano em amostras de queijos artesanais elaborados a partir de leite bubalino.
- Realizar identificação fenotípica de isolados bacterianos integrantes da Família Enterobacteriaceae nas amostras de queijo artesanal avaliadas.

1.3 Estrutura do Trabalho de Conclusão de Curso (TCC)

O trabalho de conclusão de curso (TCC) está dividido em dois (02) capítulos:

- **Capítulo I:** consta a introdução geral do trabalho, onde está inserida a justificativa, além dos objetivos gerais e específicos.
- **Capítulo II:** é apresentado o artigo intitulado “**Pesquisa de Enterobactérias em Queijos Artesanais Elaborados com Leite de Origem Bubalina no Estado do Maranhão**”, que será submetido em formato de capítulo de livro para compor o E-book “Alimentação Coletiva Integrada: Saberes Multidisciplinares para um Futuro Sustentável – volume 1 da Editora Científica Digital¹.”

REFERÊNCIAS²

ALMEIDA, V. M. *et al.* Identificação geográfica para o queijo de São Bento como estratégia de desenvolvimento territorial para a microrregião da Baixada Maranhense. **Cadernos de Prospecção**, v. 8, n. 4, p. 808 - 816, 2015.

ARAÚJO, T. F. *et al.* Perfil de sensibilidade a antibióticos de *Enterococcus* spp. isolados do fermento endógeno utilizados na fabricação do queijo Minas artesanal da Serra da Canastra, MG. In: 27 Congresso Nacional de Laticínios. Juiz de Fora, Minas Gerais: **Anais...** 2008.

BENDELAK, M. R. Processo produtivo e sugestão de implantação do sistema de análise de perigos e pontos críticos de controle na produção do queijo marajoara tipo creme. 7º Prêmio Food Design em HACCP. Disponível em:

¹ <https://www.editoracientifica.com.br/books/autores/normas>

²Capítulo formatado de acordo com as Normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), Normas Brasileiras (NBRs) 105520/2002 (citações), 14724/2011(trabalhos acadêmicos), 6023/2018 (referências).

[http://www.fooddesign.com.br/arquivos/academia/7%20Premio%20Food%20 Design%20](http://www.fooddesign.com.br/arquivos/academia/7%20Premio%20Food%20Design%20)
Acesso em: 12 dez. 2025.

BITTENCOURT, R. H. F. P. M. *et al.* Caracterização de Requeijão Marajoara e Minas Frescal produzidos com leite de búfalas no Estado do Pará. **Ciência Rural**, v. 9, p. 1687-1692, 2013.

CARVALHO, J. D. G. **Caracterização da microbiota láctica isolada de queijo de Coalho artesanal produzido no Ceará e de suas propriedades tecnológicas.** 2007. 182 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2007.

DI DOMENICO, V. L. **Monitoramento da qualidade do leite de búfala (*Bubalus bubalis*) produzido na estação experimental agrônômica da UFRGS e desenvolvimento do queijo colonial bubalino.** 2023. 88 f. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Porto Alegre, 2023

FIGUEIREDO, E. L. **Elaboração e caracterização do Queijo do Marajó tipo creme, de leite de búfala, visando sua padronização.** 2006. 180 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Pará, 2006.

FIGUEIREDO, E. L. *et al.* Queijo do Marajó tipo creme: parâmetros físico-químicos e sensoriais. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v. 33, p. 26-33, 2011.

FIGUEIREDO, E. L. ***Enterococcus* isolados do Queijo do Marajó, Tipo Creme: Caracterização tecnológica, cinética de multiplicação, capacidade de adesão e resistência a sanitizantes.** 100 f. 2014. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2014.

FIGUEIREDO, E. L. Aspectos microbiológicos e higienicossanitários do queijo do Marajó, de leite de búfala: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 9, n. 4, p. 47-60, out./dez. 2018.

GOUVÊA, C. A. L.; DIAS, J. D. C. **Caracterização do Queijo do Marajó e levantamento do pessoal envolvido no processo para orientação e inserção social.** 69 f. Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação) - Universidade do Estado do Pará, Pará, 2004.

NASCIMENTO, J. S. *et al.* Indicações geográficas: agregação de valor aos produtos brasileiros e maranhenses. **Revista GEINTEC**, v. 2, n. 4, p. 353- 364. 2012.

NÓBREGA, J. E. **Biodiversidade microbiana, descritores físico-químicos e sensoriais dos queijos artesanais fabricados nas regiões da Serra da Canastra e do Serro, Minas Gerais.** 121 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2012.

ONU BR. Organização das Nações Unidas do Brasil. **Brasil é destaque em relatório da FAO sobre assistência social e pobreza nos meios rurais. Desenvolvimento sustentável.** 2015. Disponível em: nacoesunidas.org/brasil-e-destaque-em-relatorio-dafao-sobre-assistenciasocial-e-pobreza-nos-meios-rurais. Acesso em: 20 nov. 2025.

SIMÕES, M. G. *et al.* Seasonal variations affect the physicochemical composition of buffalo milk and artisanal cheeses produced in Marajó Island (PA, Brazil). **Advance Journal of Food Science and Technology**, v. 3, p. 81-91, 2014.

CAPÍTULO II



Pesquisa de Enterobactérias em Queijos Artesanais Elaborados com Leite de Origem Bupalina no Estado do Maranhão

Jenyffer Cristine de Lemos Sousa

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Carolyne Maia Freitas Santos

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Marcelo de Abreu Falcão

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Adonias Primeiro Rocha Dias

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Greiciene dos Santos de Jesus

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Gisely Jovita Pereira

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Danilo Cutrim Bezerra

Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Amanda Mara Teles

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

Nancyleni Pinto Chaves Bezerra

Universidade Estadual do Maranhão - UEMA

RESUMO

Objetivo: Objetivou-se pesquisar enterobactérias em queijos artesanais elaborados com leite de origem bupalina no estado do Maranhão. Para isso, foram coletadas e analisadas 20 amostras de queijo artesanal oriundas dos municípios de São Bento e Viana, localizados na Baixada Maranhense. **Métodos:** Em ambiente laboratorial, foram removidas as unidades analíticas para o isolamento bacteriano e identificação das enterobactérias com a utilização de um painel bioquímico comercial composto por 23 parâmetros. **Resultados:** Foram quantificadas enterobactérias em 100% das amostras, com populações bacterianas que variaram de $2,4 \times 10^3$ a $5,68 \times 2,02 \times 10^7$ UFC /g para o queijo manteiga e, de $6,7 \times 10^2$ a $1,59$

x 10⁷ para o coalho e isoladas 183 cepas bacterianas, com a identificação de 18 espécies bacterianas. Dessas destaca-se a *Pantoea agglomerans*; *Proteus mirabilis*; *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* pela presença em diferentes ambientes e a recorrência em infecções humanas. **Conclusão:** Os altos percentuais de contaminação por enterobactérias sinalizam para a necessidade de implementação de práticas de higiene apropriadas e medidas de controle de qualidade microbiológica para garantir a segurança dos produtos lácteos produzidos artesanalmente, que sejam adequadas à realidade da produção, valorizando o saber dos produtores, mas sem negligenciar a produção segura dos alimentos.

Palavras-chave: *Bubalus bubalis*, Família Enteronacteriaceae, queijos tradicionais.

INTRODUÇÃO

O Brasil é um dos maiores produtores de leite a nível mundial, com 34,5 bilhões de litros produzidos no ano de 2022 (Embrapa, 2024). O Maranhão possui a 17^a maior produção entre os Estados brasileiros, com 414.996 mil litros de leite produzidos em 2023, dispendo de um rebanho bovídéo constituído por 10.314.237 bovinos e 95.152 bubalinos (IBGE, 2024; IMESC, 2023).

Da totalidade de produção leiteira do Brasil, percentual elevado é destinado à fabricação de derivados do leite, em que se destaca a elaboração de queijos. De 2005 a 2016, foram comercializadas 785 mil toneladas de queijos no País, tornando esse derivado lácteo o segundo mais comercializado no Brasil (Embrapa, 2019). Nesse nicho mercadológico, os queijos artesanais têm atraído o mercado consumidor pela grande diversidade de tipos, sabores e texturas, além de uma forma única de produção, associado às características nutricionais (Embrapa, 2018; Roldan; Philippe; Revillion 2019).

No Brasil, há uma diversidade na forma como os queijos artesanais são produzidos, variando de acordo com a Região produtora. Mas, em linhas gerais, o setor produtivo desses tipos de queijos é caracterizado por pequenos produtores, com fabricação em pequena escala, utilizando leite produzido na própria propriedade rural e seguindo processos produtivos tradicionais, refletindo influências socioculturais e a ancestralidade dos povos (Rozin, 2005; Martins *et al.*, 2015; Soares *et al.*, 2018; Kamimura *et al.*, 2019a; Penna; Gigante; Todorov, 2021; Pineda *et al.*, 2021).

Com uma bacia leiteira em franca expansão, o Maranhão vem se consolidando em uma nova ‘rota do queijo’ no Nordeste brasileiro. Ao associar cultura, técnica e paladar peculiares,

o queijo maranhense conquista chancelas importantes em concursos nacionais e internacionais, alcançando novos mercados e ganhando a preferência de apreciadores de queijos (Alema, 2025). Os queijos artesanais produzidos no Estado são elaborados a partir do leite de vaca, cabra ou búfala, com modo de elaboração peculiar, resultando na grande diversidade da produção local.

Com o crescimento da produção dos queijos artesanais no Brasil e a existência de leis brasileiras³ recentes que tratam das regras de produção e comercialização desses derivados lácteos em âmbito nacional, há a necessidade de caracterização destes queijos com a finalidade de melhorar sua qualidade e seu potencial de mercado, possibilitando a criação de leis específicas que atendam as necessidades do pequeno produtor e evitem o comércio ilegal deste produto (Martins *et al.*, 2015; Bemfeito *et al.*, 2016).

Mas, pesquisadores inferem que os queijos fabricados de forma artesanal no Brasil, não passam por controle de qualidade, sendo comercializados sem os devidos cuidados (Amorim *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2017). Estudos comprovam que a microbiota do queijo artesanal brasileiro é constituída por diferentes gêneros de bactérias ácido-láticas, como *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* e *Streptococcus*, e também, por diversos contaminantes, incluindo as bactérias integrantes da família Enterobacteriaceae e *Staphylococcus* spp. (Kamimura *et al.*, 2019b; Camargo *et al.*, 2021; Penna; Gigante; Todorov, 2021; Pineda *et al.*, 2021).

Segundo Falardeau *et al.* (2019), alguns microrganismos impactam de forma direta a qualidade do queijo, podendo deteriorá-lo ou, ainda ocasionar problemas na segurança do consumo desse alimento, comportando-se como indicadores de qualidade da produção. Portanto, o estudo da diversidade microbiana se reveste de grande importância à tentativa de padronização das práticas de elaboração do queijo artesanal, podendo indicar pontos críticos à contaminação em cada etapa da cadeia produtiva (Bokulich *et al.*, 2016).

Considerando que o leite e seus derivados fornecem um substrato nutritivo, propício à multiplicação de diversas bactérias, inclusive as deteriorantes e patogênicas (Fox *et al.*, 2016) e que sua contaminação pode ser controlada pela adoção de boas práticas agropecuárias e de fabricação, desde a ordenha do leite até o ambiente de maturação (Langoni *et al.*, 2011; Melo; Andrew; Faleiro, 2015), realizou-se este estudo com o objetivo de pesquisar enterobactérias em queijos artesanais elaborados com leite de origem bubalina no estado do Maranhão.

³Lei nº 13.680 de 2018 – Lei do Selo Arte (Brasil, 2018) e Lei nº 13.860 de 2019 - Lei dos Queijos Artesanais (Brasil, 2019).

MATERIAL E MÉTODOS

Universo da Pesquisa e Amostragem

Como universo da pesquisa optou-se por centrar as discussões nos municípios de São Bento e Viana, estado do Maranhão, ambos localizados na Região da Baixada Maranhense. Para Almeida *et al.* (2015), a base da produção de queijo artesanal está centrada em municípios da Baixada Maranhense e segundo o último censo censitário realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2022), São Bento apresenta aproximadamente 45.989 habitantes e índice de desenvolvimento humano - IDH de 0,602 e Viana, 51.442 residentes com IDH de 0,618.

Foram obtidas 20 amostras (aproximadamente 100 gramas de cada amostra⁴) de queijo artesanal (manteiga e coalho) produzidas com leite de origem bubalina, sendo 10 amostras oriundas do município de São Bento e 10 de Viana. As amostras foram obtidas de 20 produtores diferentes, considerando os seguintes critérios de inclusão no estudo: (i) sistema de agricultura familiar; e, (ii) produção leiteira máxima 100 litros/dia. De posse dessas informações foram coletadas as 20 amostras de queijo artesanal, 10 de queijo manteiga e 10 de queijo coalho.

Análises Microbiológicas

Para análise microbiológica foram pesadas $25 \pm 0,2$ g de cada amostra, adicionado a 225 mL de água peptonada tamponada a 0,1%, correspondendo à primeira diluição (10^{-1}), homogeneizada por aproximadamente dois minutos em "stomacher" a uma rotação média de 250 rotações por minuto (rpm). Na sequência, mais duas diluições sucessivas (10^{-2} , 10^{-3}) foram preparadas em tubos de ensaio contendo 9 mL de água peptonada tamponada a 0,1%. Todas as análises seguiram os procedimentos e recomendações da *American Public Health Association* (Downes; Ito, 2001) e Internacional Organization for Standardization (ISO).

Quantificação de coliformes totais e termotolerantes

Para a quantificação de coliformes totais e termotolerantes foi realizada a técnica dos tubos múltiplos (Downes; Ito, 2001). Aliquotas de 1 mL de cada diluição (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) foram inoculadas em séries de três tubos, contendo 9 mL de caldo Lauril Sulfato Triptose (LST - Kasvi), com tubo de Durham invertido. Os tubos foram incubados a 35°C por 24 horas. Uma alçada de cada tubo positivo (turvação e formação de gás visível no tubo de Durham) foram

⁴ Amostra representativa para a realização de análises microbiológicas.

transferidas para tubos contendo os caldos Verde Brillante (VB - Kasvi) e do *Escherichia coli* (EC - Kasvi), que foram incubados a 35°C e 45°C, respectivamente, ambos por 24-48 horas. Foram anotados o número de tubos positivos e determinado o Número Mais Provável (NMP) em uma tabela adequada às diluições utilizadas e o resultado será expresso em NMP de coliformes totais e termotolerantes/g.

Pesquisa de enterobactérias

Para a pesquisa de enterobactérias foram realizados o isolamento e a confirmação de acordo com a utilização de metodologia convencional (Downes; Ito, 2001), como descrito a seguir:

a) Primeira etapa: enriquecimento da amostra

Inóculos bacterianos de cada tubo EC positivo foram inoculados em Ágar MacConkey (MCK) ou Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB). A cultura foi incubada a 37 °C, por 24 horas. Das placas representativas foram transferidas todas as colônias com morfotipos diferentes e, no máximo, cinco colônias com o mesmo morfotipo. Cada uma delas foi inoculada em Ágar Triptona de Soja (TSA) e em caldo cérebro-coração (BHI) e incubada a 37 °C, por 24 horas.

b) Segunda etapa: identificação das colônias isoladas

A identificação das bactérias isoladas da água foi realizada por meio de painel para enterobactérias Probac composto por 23 parâmetros da (indol; Voges Proskauer; citrato de Simmons; produção de H₂S; hidrólise da uréia; triptofano desaminase; descarboxilação de lisina, arginina e ornitina; malonato; oxidação da glicose; fermentação de lactose, sacarose, manitol, adonitol, mioinositol, sorbitol, sorbitol, rafinose, ramnose, maltose, melobiose; e, hidrólise da esculina). Os resultados foram interpretados com o auxílio da tabela de identificação de enterobactérias de importância médica disponibilizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Análise de Dados

Os resultados laboratoriais foram organizados e analisados, compilados em um banco de dados e apresentados em tabelas de maneira a permitir uma melhor visualização dos dados. Foi realizada análise estatística descritiva para a obtenção de frequências absoluta e relativa. Para verificar se existiam diferenças significativas ao nível de 5% quanto à médias das contaminações microbianas entre os tipos de queijos e municípios avaliados, foi utilizado o

teste de T de Student com a utilização do *software* aberto JASP (Jeffreys's Amazing Statistics Program).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 20 amostras de queijos artesanais analisadas, foram quantificados em 100 % delas enterobactérias, com populações bacterianas que variaram de $2,4 \times 10^3$ a $5,68 \times 2,02 \times 10^7$ UFC⁵ /g para o queijo manteiga e, de $6,7 \times 10^2$ a $1,59 \times 10^7$ para o coalho. Os valores médios desse grupo de microrganismos foram de $3,66 \times 10^6$ UFC /g e de $1,66 \times 10^6$ para os queijos manteiga e coalho, respectivamente. Foram constatadas diferenças estatísticas significativas nesses valores para os tipos de queijos avaliados por município ($p < 0,05$), com as maiores contaminações registradas para o município de São Bento e no queijo manteiga, o que pode estar relacionado a fatores intrínsecos e extrínsecos, como a riqueza nutricional desse tipo de queijo e, o ambiente de produção, respectivamente.

Dada a ausência de limite microbiológico oficial para enterobactérias em queijos artesanais produzidos com leite bubalino, os resultados foram discutidos com base em referências técnicas (Franco; Landgraf, 2008; Silva *et al.*, 2007) e resultados de diferentes pesquisas, sendo importante ressaltar que nenhuma das amostras avaliadas apresentou sinais de estufamento precoce, ou seja, em todas as amostras havia ausência de gás no interior dos queijos e de olhaduras, além de massa regular.

Atribui-se a elevada ocorrência de enterobactérias nas amostras, ao fato de os queijos serem elaborados a partir de leite cru, com período mínimo de maturação e, ainda refletir sobre as inadequadas condições de higiene do local de produção e a baixa qualidade da matéria prima utilizada. Também se destaca, que as características intrínsecas (média a alta umidade, pH acima de 5,0) (Brasil, 2001; Sousa *et al.*, 2014) e tecnológicas (coagulação enzimática) dos dois tipos de queijos avaliados os tornam mais favoráveis ao desenvolvimento de microrganismos e, conseqüentemente, mais susceptíveis a apresentarem altas contagens de enterobactérias.

Os resultados obtidos neste estudo fornecem evidências indiretas sobre a má qualidade da matéria prima utilizada – o leite, além de condições inadequadas de processamento, armazenamento e transporte. A consequência desses resultados se associa diretamente à diminuição da vida de prateleira desses queijos, o que se agrava pelo fato deles serem comercializados, normalmente, sem a refrigeração. Portanto, esses resultados sinalizam

⁵ UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

indiretamente sobre as condições higiênicas e higiênico-sanitárias e o risco iminente para a saúde dos consumidores.

Soares *et al.* (2011) destacam que as enterobactérias refletem diretamente as condições higiênico-sanitárias do local de produção. Barbosa (2020) infere que o estudo da comunidade bacteriana dos alimentos auxilia na estruturação da cadeia produtiva, evita eventuais perdas e, principalmente sinaliza para a ocorrência de agentes etiológicos causadores de doenças de transmissão hídrica e alimentar (DTHAs).

El Galiou *et al.* (2015) destacam que bactérias integrantes da Família Enterobacteriaceae são comuns em queijos produzidos com leite cru, inclusive com a possibilidade de quantificação de elevadas populações de coliformes em queijos produzidos artesanalmente, o que foi observado no presente estudo. Castro *et al.* (2016) inferem que na produção de queijo artesanal, o produto é amplamente manipulado ao longo de sua fabricação, representando risco potencial à saúde do consumidor. Castro *et al.* (2020) destacam que o leite cru possui uma microbiota abundante e diversificada, o que pode contribuir para a presença de microrganismos indesejáveis no produto final.

Das 20 amostras de queijos contaminadas por enterobactérias, foram obtidos 183 isolados com a identificação fenotípica de 11 gêneros bacterianos diferentes e 17 espécies distintas de enterobactérias (Tabela 1).

Tabela 1. Enterobactérias isoladas em queijos artesanais elaborados com leite de origem bubalina no estado do Maranhão

MUNICÍPIOS	TIPOS DE QUEIJO	AMOSTRAS	ESPÉCIES DE ENTEROBACTÉRIAS
São Bento	Manteiga	1	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Ewingella americana</i> <i>Citrobacter</i> sp. <i>Enterobacter cloacae</i>
		2	<i>Ewingella americana</i> <i>Kluyvera intermedia</i> <i>Pantoea agglomerans</i>
		3	<i>Citrobacter freundii</i> <i>Ewingella americana</i> <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Kluyvera intermedia</i>
		4	<i>Serratia</i> sp. <i>Ewingella americana</i> <i>Pantoea agglomerans</i>
		5	<i>Citrobacter gillenii</i> <i>Cronobacter sakazakii</i> <i>Proteus mirabilis</i>
	6	<i>Pantoea agglomerans</i> <i>Enterobacter hormaechei</i> <i>Proteus mirabilis</i>	
	Coalho	7	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Citrobacter</i> sp.

			<i>Pantoea agglomerans</i>
			<i>Citrobacter gillenii</i>
	8		<i>Ewingella americana</i>
			<i>Kluyvera intermedia</i>
			<i>Pantoea agglomerans</i>
			<i>Citrobacter sp.</i>
	9		<i>Edwardsiella ictaluri</i>
			<i>Citrobacter gillenii</i>
			<i>Ewingella americana</i>
			<i>Pantoea agglomerans.</i>
	10		<i>Kluyvera intermedia</i>
			<i>Pantoea agglomerans</i>
			<i>Citrobacter sp.</i>
			<i>Citrobacter freundii.</i>
	11		<i>Kluyvera intermedia</i>
			<i>Citrobacter sp.</i>
			<i>Ewingella americana</i>
	12		<i>Kluyvera intermedia</i>
			<i>Proteus mirabilis</i>
	13		<i>Yersinia ruckeri</i>
			<i>Citrobacter sp.</i>
	14		<i>Kluyvera intermedia</i>
			<i>Pantoea agglomerans</i>
			<i>Citrobacter sp.</i>
	15		<i>Kluyvera intermedia</i>
			<i>Pantoea agglomerans</i>
			<i>Citrobacter sp.</i>
Viana	16		<i>Klebsiella pneumoniae subsp. Pneumoniae</i>
			<i>Klebsiella oxytoca</i>
	17		<i>Serratia rubidaea</i>
			<i>Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae</i>
			<i>Enterobacter aerogenes</i>
	18		<i>Enterobacter cloacae</i>
			<i>Serratia sp.</i>
			<i>Enterobacter hormaechei</i>
	19		<i>Enterobacter aerogenes</i>
			<i>Ewingella americana</i>
			<i>Cronobacter sakazakii</i>
	20		<i>Proteus mirabilis</i>
			<i>Edwardsiella ictaluri</i>

Os resultados constantes na Tabela 1 evidenciam diversidade bacteriana nas amostras analisadas e semelhanças entre os gêneros e as espécies de bactérias diagnosticadas, tanto por tipos de queijos (manteiga e coalho), como pelos municípios amostrados o que sinaliza para práticas produtivas semelhantes e possivelmente as mesmas fontes de contaminação. E, os achados deste estudo se coadunam com as informações dos pesquisadores Kamimura *et al.* (2019b), Camargo *et al.* (2021), Penna, Gigante e Todorov (2021) e Pineda *et al.* (2021) que citam a existência de diversos contaminantes no queijo artesanal brasileiro, incluindo as bactérias integrantes da família Enterobacteriaceae.

Os gêneros bacterianos mais frequentes nas amostras analisadas totalizaram 83,60 % dos isolados, assim estratificados: *Citrobacter* (n= 39/183; 21,31 %); *Pantoea* (n= 27/183; 14,75

); *Ewingella* (n= 24/183; 13,11 %); *Kluyvera* (n= 24/183; 13,11 %); *Enterobacter* (n= 21/183; 11,47 %); e, *Proteus* (n= 18/183; 9,84 %). E, as espécies mais frequentes em ordem decrescente de ocorrência foram a *P. agglomerans* (n= 27/183; 14,75 %), *Citrobacter* sp. (n= 24/183; 13,11 %), *E. americana* (n= 24/183; 13,11 %), *K. intermedia* (n= 24/183; 13,11 %) e *P. mirabilis* (n= 18/183; 9,84 %).

Para Nascimento *et al.* (2013), algumas espécies de enterobactérias desempenham funções benéficas no ambiente, realizando trocas biogeoquímicas entre o meio e os organismos vivos e, decompondo a matéria orgânica, já outras podem causar infecções em humanos e animais. Nesse ínterim, merece destaque citar as espécies envolvidas em infecções em seres humanos e isoladas neste estudo, a *P. agglomerans* (n= 27/183; 14,75 %); *P. mirabilis* (n= 18/183; 9,84 %); *C. freundii* (n= 6/183; 3,27 %), *E. cloacae* (n= 6/183; 3,27 %) e *K. pneumoniae subsp. pneumoniae* (n= 6/183; 3,27 %).

As espécies de *Pantoea* spp. são bacilos Gram negativos anaeróbios facultativos, integram um gênero constituído por 20 espécies bacterianas muito semelhantes, sendo encontradas em ambientes que contêm matéria fecal, plantas e solo, onde atuam como parte do microbioma natural e como agentes patogênicos (Cruz *et al.*, 2007). A *P. agglomerans*, espécie mais isolada neste estudo, integra esse gênero e está frequentemente associada a infecções em pacientes imunossuprimidos, provocando uma variedade de quadros clínicos, como bacteremia, septicemia, pneumonia, infecções do trato urinário e meningite (Dutkiewicz *et al.*, 2016; Guevarra *et al.*, 2021). Estudos demonstram que os isolados de *P. agglomerans* podem conter um amplo espectro de genes de resistência a antibióticos (Guevarra *et al.*, 2021).

A elevada frequência de *P. vulgaris* se constitui um importante resultado e se reverte de importância sanitária, já que essa espécie é considerada comensal no intestino. Outrossim, bactérias pertencentes ao gênero *Proteus*, sobretudo *P. vulgaris* e *P. mirabilis*, são microrganismos potenciais na recorrência da doença de Crohn, portanto, servem como um estímulo para o estudo do potencial risco deles como patógenos intestinais e os impactos na contaminação de alimentos.

Espécies de *Proteus* spp. possuem muitos fatores de virulência relevantes para a patogenicidade gastrointestinal, incluindo a motilidade; aderência; produção de urease, hemolisinas e proteases IgA; e, a capacidade de adquirir resistência a antimicrobianos. Condições gastrointestinais associadas a esses microrganismos incluem gastroenterite (espontânea e de origem alimentar), infecções nosocomiais, apendicite, colonização de dispositivos como sondas nasogástricas e doença de Crohn (Hamilton *et al.*, 2018).

O *C. freundii* constituiu 3,27 % dos isolados identificados neste estudo, essa espécie é considerada um patógeno oportunista que coloniza o trato intestinal de animais vertebrados, incluindo o homem. Essa espécie também é, frequentemente, isolada de ambientes diversos como alimentos, água, esgoto e solo (Liu *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2018). E, tem sido associada a um amplo espectro de infecções envolvendo os tratos gastrointestinal, respiratório e urinário, infecções em feridas, abscessos, diarreias e em casos graves como septicemias e meningite, em neonatos e endocardites (Liu *et al.*, 2018).

A disseminação de espécies de *Citrobacter* se associa ao frequente isolamento de *C. freundii* e o aumento da resistência dessa espécie a múltiplas drogas. Liu *et al.* (2018) destacam que essa frequência indica que tanto isolados ambientais, quanto hospitalares possam ser reservatórios de genes de resistência a antimicrobianos.

E. cloacae também constituiu 3,27 % dos isolados na pesquisa e a presença dessa espécie nos queijos avaliados pode estar associada a utilização de leite não pasteurizado como matéria prima, além de possível contaminação pós fabricação. Essa espécie reconhecidamente constitui um contaminante do leite cru e de produtos lácteos como iogurte e queijo, conforme citado por Cooney *et al.* (2014). Segundo os referidos pesquisadores, *Enterobacter spp.* foram identificados em creme pasteurizados e em produtos lácteos desidratados; possivelmente devido à contaminação pós-processamento, já que essas bactérias não sobrevivem à pasteurização. Essa espécie é comumente encontrada em diversos ambientes e cada vez mais reconhecida como um patógeno oportunista associado a infecções nosocomiais, frequentemente ligada à multirresistência a antimicrobianos.

K. pneumoniae, bactéria oportunista encontrada em vários nichos microbiológicos (solo, pele, intestinos e fezes de mamíferos e alimentos), constituiu 3,27 % dos isolados. A espécie já foi documentada como agente causador de bacteremia, pneumonia e infecção do trato urinário (Siu *et al.*, 2011). Estudos comprovam que ao longo dos anos, a resistência a antibióticos em isolados de *K. pneumoniae* é cada vez mais observada em ambientes nosocomiais e comunitários, com a comprovação de resistência adquirida a antibióticos de última geração, como os carbapenêmicos (Pitout; Nordmann; Poirel, 2015), o que torna preocupante a identificação dessa espécie nas amostras avaliadas.

De maneira geral, as enterobactérias possuem distribuição cosmopolita, habitando principalmente o intestino de animais e do homem. No entanto, também são encontradas no solo, em vegetação em decomposição e matéria orgânica, em fontes de água, esgoto e outros ambientes (Franco e Landgraf, 2008). Essa ampla distribuição pode responder aos elevados percentuais e níveis de contaminação identificados nas amostras de queijos avaliadas,

associado ao fato de que a presença de enterobactérias em alimentos evidencia, usualmente, conforme citado por Sena *et al.* (2018), deficiência de higienização do manipulador e do maquinário utilizado para o preparo do alimento.

Para Eze *et al.* (2017) e Mozaffarian *et al.* (2018), a quantidade de doenças causadas por microrganismos ou suas toxinas posiciona a qualidade microbiológica como um ponto indissociável da segurança de alimentos. Portanto, é fundamental que na produção de alimentos seja considerada a avaliação científica de risco microbiológico para identificar soluções apropriadas de controle e gerenciamento do processo produtivo. Uma produção segura é eficaz quando sustentada por dados gerados por meio de testes microbiológicos dos produtos. Por esta razão, destaca-se a importância dos resultados obtidos, no sentido de ressaltar o risco do consumo de alimentos elaborados em condições inadequadas, mas também com a possibilidade deles convergirem para a formulações de políticas públicas, e despertar para a necessidade de realização de mais pesquisas sobre um nicho mercadológico que tanto cresce no País, o setor de queijos artesanais.

Sendo os queijos artesanais, produtos de importância para o Maranhão e, a sua produção a partir do leite bubalino apresentar viabilidade e aceitabilidade, a atividade deve ser fomentada no Estado, inclusive com a finalidade de atingir os Objetivos de Desenvolvimento Sustentáveis (ODS) 3 - saúde e bem-estar; 9 - indústria, inovação e infraestrutura; e, 10 - redução das desigualdades. Nesse ínterim, ressalta-se a importância de uma fiscalização mais rigorosa e efetiva, não dissociada de assistência técnica qualificada e de um acompanhamento frequente do processo produtivo, ressaltando que a qualidade dos queijos estimula a aprovação e aquisição pelos consumidores, além do acesso aos mercados.

CONCLUSÃO

O estudo comprovou a presença de 11 gêneros e de 17 espécies distintas de enterobactérias nas amostras de queijo artesanal produzidos com leite de origem bubalina, incluindo espécies de importância médica como a *P. agglomerans*; *P. mirabilis*; *C. freundii*, *E. cloacae* e *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*.

A contaminação da totalidade das amostras avaliadas por enterobactérias sinaliza para problemas higiênicos nos processos de produção e manuseio desses produtos lácteos artesanais. E, também para a necessidade da implementação de práticas de higiene apropriadas e medidas rigorosas de controle de qualidade microbiológica, para garantir a segurança dos produtos lácteos produzidos no estado do Maranhão, adequadas à realidade da

produção artesanal, valorizando o saber dos produtores, mas sem negligenciar a segurança alimentar e, a saúde da população.

REFERÊNCIAS

- ALEMA. Assembleia Legislativa do Estado do Maranhão. **Maranhão avança com nova ‘Rota do Queijo’ e conquista prêmios importantes no cenário nacional**. 2025. Disponível em: <https://www.al.ma.leg.br/sitealema/maranhao-avanca-com-nova-rota-do-queijo-e-conquista-premios-importantes-no-cenario-nacional/>. Acesso em: 12 dez. 2025.
- ALMEIDA, V. M. *et al.* Identificação geográfica para o queijo de São Bento como estratégia de desenvolvimento territorial para a microrregião da Baixada Maranhense. **Cadernos de Prospecção**, v. 8, n. 4, p. 808 - 816, 2015.
- AMORIM, A. L. B. C. *et al.* Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo Minas padrão de produção industrial, artesanal e informal. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 73, n. 4, p. 364-367, 2014.
- BARBOSA, R. G.; **Influência de Sistemas de Cultivo sobre Parâmetros de Qualidade do Tambaqui (*Colossoma macropomum*)**. 2020. 73 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal do Tocantins, Palmas – TO. 2020.
- BEMFEITO, R. M. *et al.* Temporal dominance of sensations sensory profile and drivers of liking of artisanal Minas cheese produced in the region of Serra da Canastra, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 10, p. 7886–7897, 2016.
- BOKULICH, N. A. *et al.* A new perspective on microbial landscapes within food production. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 37, p. 182–189, 2016.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 26 de junho de 2001. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Manteiga da Terra ou Manteiga de Garrafa; Queijo de Coalho e Queijo de Manteiga, conforme consta dos Anexos desta Instrução Normativa. **Diário Oficial [da] União**, 16 jul. 2001.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Lei nº 13.680, de 14 de junho de 2018. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. **Diário Oficial [da] União**, 15 jun. 2018. Seção 1, n. 114, p. 2.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária. Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, 19 jul. 2019. Seção 1, n. 138, p. 1.
- CASTRO, R. D. *et al.* Lactic acid microbiota identification in water, raw milk, endogenous starter culture, and fresh Minas artisanal cheese from the Campo das Vertentes region of

- Brazil during the dry and rainy seasons. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 8, p. 6086-6096, 2016.
- CASTRO, R. D. *et al.* Virulence factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from the production process of Minas artisanal cheese from the region of Campo das Vertentes. **Journal of Dairy Science**, v.103, n. 3, p. 2098-2110, 2020.
- COONEY, S. *et al.* Bacteria: Other Pathogenic Enterobacteriaceae – Enterobacter and Other. **Encyclopedia of Food Safety, Academic Press**. Elsevier. 2014, p. 433-441.
- CRUZ, A. T. *et al.* *Pantoea agglomerans*, a Plant Pathogen Causing Human Disease. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, n. 6, p. 1989-1992, 2007
- DOWNES, F. P.; ITO, H. (eds.) **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 676p.
- DUTKIEWICZ, J. *et al.* *Pantoea agglomerans*: a mysterious bacterium of evil and good. Part III. Deleterious effects: infections of humans, animals and plants. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 23, n. 2, p. 197–205, 2016.
- EL GALIOU, O. *et al.* Chemical and microbiological characteristics of traditional homemade fresh goat cheeses from Northern Morocco. **Small Ruminant Research**, v. 129, n.1, p. 108-113, 2015.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária. LEITE oportunidades. **Revista Embrapa**, p. 116, 2018.
- EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa em Agropecuária. Anuário leite 2024: Avaliação Genética Multirracial. **Anuário Leite**, p. 12, 2024.
- EZE, N. M. *et al.* Awareness of food nutritive value and eating practices among Nigerian bank workers: Implications for nutritional counseling and education. **Medicine**, v. 96, n. 10, e6283, 2017.
- FALARDEAU, J. *et al.* Farm-to-fork profiling of bacterial communities associated with an artisan cheese production facility. **Food Microbiology**, v. 83, p. 48-58, 2019.
- FOX, P. F. *et al.* **Fundamentals of Cheese Science**, Second Edition, p. 1–799, 2016.
- FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 196 p.
- GUEVARRA, R. B. *et al.* Comprehensive genomic analysis reveals virulence factors and antibiotic resistance genes in *Pantoea agglomerans* KM1, a potential opportunistic pathogen. **PLoS ONE**, v. 16, n. 1, p. e0239792, 2021.
- HAMILTON, A. L. *et al.* *Proteus* spp. as Putative Gastrointestinal Pathogens. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 3, p. e00085-17, 2018.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Cidades e Estados**. 2022. Available at: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ma/viana.html>. Acesso em: 20 nov. 2025.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção de Leite**. 2024. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/leite/sp>. Acesso em: 12 dez. 2025.

IMESC. Instituto Maranhenses de Estudos Socioeconômicos e Cartográficos. **IMESC divulga Diagnóstico da Atividade Leiteira Maranhense**. 2023. Disponível em: <https://www.ma.gov.br/noticias/imesc-divulga-diagnostico-da-atividade-leiteira-maranhense>. Acesso em: 12 dez. 2025.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Brazilian Artisanal Cheeses: An Overview of their Characteristics, Main Types and Regulatory Aspects. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 18, n. 5, p. 1636-1657, 2019a.

KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, v. 80, p. 40-49, 2019b.

LANGONI, H. *et al.* Quality and microbiological aspects of bovine milk. Aspectos microbiológicos e de qualidade do leite bovino. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 12, p. 1059–1065, 2011.

LIU, Y. Y. *et al.* Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. **The Lancet. Infectious Disease**, v.16, n. 2, p. 161-168. fev. 2016.

LIU, L. *et al.* Genetic diversity, multidrug resistance and virulence of *Citrobacter freundii* from diarrheal patients and healthy individuals. **Frontiers in Cellular and Infectious Microbiology**, v. 233, n. 8, p.1-10, 2018.

MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 230, p. 219–230, 2015.

MELO, J.; ANDREW, P. W.; FALEIRO, M. L. *Listeria monocytogenes* in cheese and the dairy environment remains a food safety challenge: The role of stress responses. **Food Research International**, v. 67, p. 75-90, 2015.

MOZAFFARIAN, D. *et al.* Role of government policy in nutrition—barriers to and opportunities for healthier eating. **The BMJ**, v. 361, 2018.

NASCIMENTO, V. F. S. *et al.* Ocorrência de bactérias patogênicas oportunistas em um reservatório do semiárido do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Ciências Ambientais**, v. 7, n. 1, p. 91 -104, 2013.

PENNA, A. L. B.; GIGANTE, M. L.; TODOROV, S. D. Artisanal Brazilian cheeses — history, marketing, technological and microbiological aspects. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1562, 2021.

PINEDA, A. P. A. *et al.* Brazilian artisanal cheeses: diversity, microbiological safety, and challenges for the sector. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 666922, 2021.

PITOUT, J. D. D.; NORDMANN, P.; POIREL, L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: a key pathogen set for global nosocomial dominance. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 59, n. 10, p. 5873–5884, 2015.

ROLDAN, B. B.; PHILIPPE, J.; REVILLION, P. Convenções de qualidade em queijos artesanais no Brasil, Espanha e Itália. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, p. 108–122, 2019.

ROZIN, P. The meaning of food in our lives: A cross-cultural perspective on eating and well-being. **Journal of Nutrition Education and Behavior**, v. 37, n. SUPPL. 2, 2005.

SENA, A. S. *et al.* Avaliação microbiológica de presunto fatiado comercializado no município de Pau Brasil-BA. **Saúde em Revista**, v. 18, n. 50, p. 31-39. 2018.

SILVA, F. R. *et al.* Conservação e controle de qualidade de queijos: revisão. **Pubvet**, v. 11, n. 4, p. 333341, 2017.

SIU, L. K. *et al.* Molecular Typing and Virulence Analysis of Serotype K1 *Klebsiella pneumoniae* Strains Isolated from Liver Abscess Patients and Stool Samples from Noninfectious Subjects in Hong Kong, Singapore, and Taiwan. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 49, n. 11, p. 3761-3765, 2011.

SOARES, V. M. *et al.* Qualidade microbiológica de filé de peixe congelados distribuídos na cidade de Botucatu-SP. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 13, n. 2, p. 85-88, 2011.

SOARES, D. B. *et al.* Análise sanitária e físico-química e adequação bacteriológica do queijo Minas artesanal produzido em duas propriedades. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, p. e36499, 2018.

SOUSA, A. Z. B de. *et al.* B. Aspectos físico-químicos e microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em estados do nordeste do Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 81, n. 1, p. 30-35, 2014.