



Instituto Federal de Brasília

Campus Gama

Curso Superior de Tecnologia em Alimentos

Antonio Lucas Lima Saraiva

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJOS
MINAS FRESCAL COMERCIALIZADOS EM FEIRA DO DISTRITO
FEDERAL**

Brasília

2019

Antonio Lucas Lima Saraiva

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJO
MINAS FRESCAL COMERCIALIZADOS EM FEIRA DO DISTRITO
FEDERAL**

Monografia apresentada ao Curso Superior de Tecnologia em Alimentos do *Campus* Gama do Instituto Federal de Brasília como requisito parcial para obtenção de título de Tecnólogo em Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Camila Guimarães de Freitas

Brasília
2019

637.3:658.56

Saraiva, Antonio Lucas Lima

S243a

Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de queijos minas frescal comercializados em feira do Distrito Federal / Antonio Lucas Lima Saraiva ; orientação Prof. Dra. Camila Guimarães de Freitas — Brasília, 2019.

40 f.

Orientadora: Prof. Dra. Camila Guimarães de Freitas

Trabalho de Conclusão do Curso (Graduação — Tecnológico em Alimentos) — Instituto Federal de Brasília, *Campus* Gama, 2019.

1. Patógenos. 2. Boas Práticas de Fabricação. 3. Doenças Veiculadas por Alimentos. I. Freitas, Camila Guimarães de, orient. III. Título.

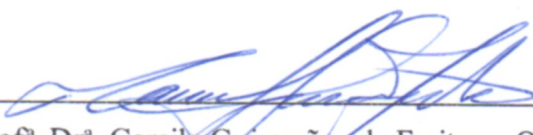
Antonio Lucas Lima Saraiva

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE HIGIÊNICO-SANITÁRIA DE QUEIJOS MINAS
FRESCAL COMERCIALIZADOS EM FEIRA DO DISTRITO FEDERAL**

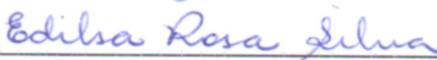
Monografia apresentada ao Curso Superior de Tecnologia
em Alimentos do *Campus* Gama do Instituto Federal de
Brasília como requisito parcial para obtenção de título de
Tecnólogo em Alimentos.

Aprovado em 22 de novembro de 2019.

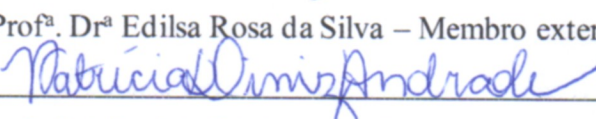
BANCA EXAMINADORA



Prof^ª. Dr^a. Camila Guimarães de Freitas – Orientadora



Prof^ª. Dr^a Edilsa Rosa da Silva – Membro externo



Prof^ª. Dr^a Patrícia Diniz Andrade – Membro interno



Prof^ª. Dr^a Mariana Schievano Danelon – Membro suplente

*Dedico aos meus familiares por todos os anos de
esforço e sacrifício na minha criação.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus por me terdes criado, feito Católico Apostólico Romano, conservado até os dias de hoje e ter-me dado os auxílios necessários para obter esta graduação.

Agradeço à Santíssima Virgem, de quem sou filho e escravo, por sempre ter-me alcançado de Deus todas as graças que necessito.

Agradeço à minha mãe, avó e aos meus familiares por todos esforços e sacrifícios que sempre fizeram por mim.

Agradeço ao Padre Daniel por me ter incentivado a fazer a faculdade e aos meus amigos que me acompanharam durante este período.

Agradeço a todos os que foram meus professores, em especial a professora Camila, por todos os conhecimentos que me transmitiram.

Agradeço aos meus colegas de sala pela amizade e por todas as ajudas que já me prestaram.

Agradeço ainda à minha colega de sala, Maria Divina, por me ter ajudado a escolher o assunto de minha pesquisa e também à minha madrinha Rita e primo José por me terem incentivado a realizar esta pesquisa de campo.

Por fim, agradeço aos comerciantes pela generosa ajuda, cedendo as amostras de queijo para as análises.

*“dicit mater eius ministris quodcumque dixerit
vobis facite” (Ioan. II, 5)*

RESUMO

A produção de queijo minas frescal é altamente difundida em todo território nacional, sendo definido como um queijo fresco obtido por meio da coagulação enzimática do leite pasteurizado com coalho ou com outras enzimas coagulantes apropriadas ou com ambos, complementada ou não pela ação de bactérias lácticas específicas, com a obtenção de uma massa coalhada, dessorada, não prensada, salgada e não maturada. É classificado como um queijo semi gordo, de muita alta umidade e a ser consumido fresco. O queijo minas frescal é um produto que requer bastante manipulação, o que juntamente com o seu elevado teor de umidade, propicia condições favoráveis para a contaminação e multiplicação de microrganismos, incluindo os patógenos. O presente trabalho objetivou avaliar amostras de queijo minas frescal comercializadas em uma feira do Distrito Federal, a fim de averiguar se estavam dentro dos limites microbiológicos estabelecidos pela RDC nº 12 de 2001 da ANVISA. Para tanto, utilizou-se de metodologias certificadas, para realizar análises de coliformes totais e termotolerantes (45°C), *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp. em quatro amostras distintas de queijo minas frescal que foram obtidas de quatro estabelecimentos diferentes. Os resultados foram comparados com os padrões microbiológicos sanitários exigidos pela legislação brasileira, tanto de queijo de muita alta umidade com e sem bactérias lácteas abundantes e viáveis. De acordo com a Portaria nº 146/97 do MAPA, para a contagens de coliformes totais as amostras foram consideradas não conformes. Já na avaliação de coliformes termotolerantes, pela RDC nº 12/01 da ANVISA todas as amostras estão de acordo com a legislação quando considerada como um queijo obtido com a ação de bactérias lácticas abundantes e viáveis. A presença de *Escherichia coli* foi confirmada nas amostras B e C. Para *Staphylococcus aureus*, somente na amostra B encontraram-se níveis impróprios para ambas classificações do modo de obtenção de queijo, (sendo coagulase e catalase positiva). O microrganismo *Salmonella* sp. não foi identificado em nenhuma das amostras. Conclui-se que há falhas nas boas práticas de fabricação em uma ou mais etapas da produção do queijo minas frescal, sendo que os resultados demonstram a importância da aplicação das BPF, pois o desenvolvimento dos microrganismos confirmados (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) são frequentes causadores de DVA's.

Palavras-chave: Patógenos. Boas Práticas de Fabricação. Doenças Veiculadas por Alimentos.

ABSTRACT

The production of minas frescal cheese is very diffused in all national territory. Minas frescal is defined as a fresh cheese obtained by enzymatic coagulation of milk, with coagulants enzymes, supplemented or not with specified dairy bacteria. It is a semi-fat cheese, high or very high humidity, to be eaten fresh, and its production requires lots of manipulation, which along with its high content of humidity, create conditions for 'contamination and multiplication, including pathogens. All considered minas frescal cheese production must have a significant concern with its manufacturing practices because its non-compliance is associated with the increased risk of food-borne diseases. The present paper studied the microbiological burden of minas frescal cheese samples commercialised in a market fair of Federal District, and compare the finds with the limits settled by ANVISA RDC No. 12/01. The microbiological analyses were performed using certified methodologies for thermotolerant coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus*, and *Salmonella* sp. The results were compared with the sanitary microbiological standards required by ANVISA RDC No. 12/01 for high humidity (46-55%) cheese with and without dairy bacteria. For the results of the total coliform analysis, there was a comparison with the maximum limits set by MAPA Ordinance No. 146/96, of which all samples were non-conform. The results for thermotolerant coliforms (RDC 12/01 of ANVISA) showed all samples following the legal limits for cheese produced with dairy bacteria. The presence of *Escherichia coli* was confirmed in samples B, and C. *Staphylococcus aureus* (being coagulase and catalase-positive) only was positive in sample B, ($5,38.10^3$ CFU/g). The results also demonstrate the importance of applying good manufacturing practices, since the development of confirmed microorganisms (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) are frequent causes of food-borne diseases.

Keywords: Pathogens. Good Manufacturing Practices. Food-borne Diseases.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fluxograma de produção de queijo minas frescal	17
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas realizadas com queijo minas frescal	28
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Abiq - Associação Brasileira das Indústrias de Queijos
ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BHI - *Brain Heart Infusion* – Caldo Infusão Cérebro Coração
BP - Ágar Baird-Parker
BPW - *Buffered Peptone Water* - Água peptonada tamponada
DVA's - Doenças veiculadas por alimentos
EAEC - *E. coli* enteroagregativa
EC - Caldo *E. coli*
EHEC - *E. coli* enterohemorrágica
EIEC - *E. coli* enteroinvasora
EPEC - *E. coli* enteropatogênica
ETEC - *E. coli* enterotoxigênica
HL - Ágar Sangue de Cavalo em sobrecamada
LACEN-MT - Laboratório Central de Saúde Pública do Mato Grosso
L-EMB - Ágar Levine Eosina Azul de Metileno
LST - Caldo Lauril Sulfato Triptose
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MOX - Ágar Oxford Modificado
NMP - Número Mais Provável
OPAS - Organização Pan-Americana da Saúde
PIQ - Padrão de Identidade e Qualidade
PVC - Policloreto de Vinila
RDC - Resolução da Diretoria Colegiada
RVS - Caldos Rappaport Vassiliadis Soja
SS - Ágar *Salmonella Shigella*
TSI - *Triple Sugar Iron* – Caldo Ágar Tríplice Açúcar Ferro
VBBL - Verde Bile Brilhante Lactose 2%

LISTA DE SÍMBOLOS

CaCl_2 - Cloreto de cálcio

CO_2 - Gás carbônico

NaCl - Cloreto de sódio

H_2S - Sulfeto de hidrogênio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBTENÇÃO HIGIÊNICA DO LEITE E O FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE QUEIJO MINAS FRESCAL	15
3 PADRÃO MICROBIOLÓGICO E DOENÇAS PASSÍVEIS DE SEREM VEICULADAS PELO QUEIJO MINAS FRESCAL	19
4 OBJETIVOS	23
4.1 Objetivo geral	23
4.2 Objetivos específicos	23
5 METODOLOGIA	24
5.1 Coleta das amostras	24
5.2 Preparação dos meios de cultivo e vidrarias.....	24
5.3 Preparação das amostras de queijo	25
5.4 Análises de coliformes totais e termotolerantes.....	25
5.5 Análise de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	26
5.6 Análise de <i>Salmonella</i> sp.....	26
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
7 CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A Portaria nº 146/96 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, estabelece que o queijo pode ser definido como:

O produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado), ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do calho, de enzimas específicas, de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ou especiarias e/ou condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes (BRASIL, 1996).

Além de que, a denominação “queijo” está reservada aos produtos em que a base láctea não contenha gordura e/ou proteínas de origem não láctea (BRASIL, 1996). É retratado ainda como um produto de grande diversidade de sabor, textura e formas, tido como um concentrado lácteo constituído de proteínas, lipídios, carboidratos, sais minerais, cálcio, fósforo e vitaminas (FOX *et al.*, 2000 *apud* SANGALETTI, 2007).

Quanto ao teor de umidade, os queijos classificam-se em (BRASIL, 1996; BRASIL, 2001):

- Queijos de baixa umidade (até 35,9%), geralmente conhecidos como queijo de massa dura, são alguns deles: parmeção, reggianito, sbrinz;
- Queijos de média umidade (entre 36 e 45,9%), geralmente conhecidos como queijo de massa semidura, são alguns deles: danbo, pategrás sandwich e prato;
- Queijos de alta umidade (entre 46 e 54,9%), geralmente conhecido como de massa branda ou "macios", são alguns deles: quartiolo, cremoso e crioulo;
- Queijos de muita alta umidade (não inferior a 55%), geralmente conhecidos como de massa branda ou "mole", como por exemplo, o minas frescal.

A produção de queijo minas frescal é altamente difundida no Estado de Minas Gerais. No século XVIII, a fabricação deste produto predominava nas regiões de criações de gado leiteiro e com o tempo foi difundida em todo território nacional. A sua fabricação se baseia em técnicas de imigrantes dinamarqueses e holandeses e essa tecnologia ainda é valorizada e repassada de geração a geração (FURTADO, 2005 *apud* VINHA *et al.*, 2010).

No Brasil, por meio do Decreto nº 9.013 de 2017 do MAPA, o queijo minas frescal é delimitado ao:

Queijo fresco obtido por meio da coagulação enzimática do leite pasteurizado com coalho ou com outras enzimas coagulantes apropriadas ou com ambos, complementada ou não

pela ação de bactérias lácticas específicas, com a obtenção de uma massa coalhada, dessorada, não prensada, salgada e não maturada (BRASIL, 2017).

Em seu Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) é classificado como um queijo semi gordo (teor entre 25,0 e 44,9% de gordura), de muita alta umidade e a ser consumido fresco (BRASIL, 1996).

Além da tradição cultural e hábitos alimentares regionais, a popularidade desse queijo é justificada pelo baixo custo, comercializado a preço acessível a uma grande faixa da população, além da facilidade no processo de fabricação. Estas duas últimas características se dão pela não exigência de maturação e pelo bom rendimento na fabricação (FURTADO, 2005 *apud* VINHA *et al.*, 2010). Isto confere ao queijo minas frescal grande destaque, estando entre os queijos mais comercializados em feiras livres, bares e mercearias. Geralmente são armazenados em sacos plásticos comuns, amarrados ou fechados com um fecho metálico, sem o uso do vácuo (HOFFMAN *et al.*, 1995 *apud* FEITOSA *et al.*, 2016).

De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Queijos (Abiq), no ano de 2013 a produção de queijos no Brasil alcançou um valor superior a um milhão de toneladas. A produção conjunta das principais *commodities* tidas como primárias do mercado de queijos (muçarela, prato, minas frescal, requeijão) atingiu 833 mil toneladas naquele ano, o que equivale a 83% da produção integrada. Já a produção das *commodities* secundárias (minas padrão, coalho, parmesão) atingiu 98 mil toneladas (9,7%) e a de queijos especiais (Gouda, Gruyère, Gorgonzola e Brie), 73 mil toneladas (7,3%) (ZACARCHENCO *et al.*, 2013).

Apesar desses números, a Abiq estima que no Brasil o consumo médio *per capita* de queijos aproxima-se de 5,1 quilos por ano, o que é muito aquém do consumo médio de países europeus (20 quilos) e da vizinha Argentina, que conta com um consumo médio de 11 quilos. As estimativas são que o consumo *per capita* de queijos no Brasil deverá alcançar, em média, 11 quilos em 2030, depois de ter avançado 76% entre 2005 e 2013. Considerando o consumo total, o avanço entre esse período foi, em média, de 8% a 9% ao ano (ABRAS, 2014).

O queijo minas frescal, especificamente, ocupa destaque entre os queijos *commodities* comercializados no Brasil, sendo o quarto entre eles, vindo após o consumo do requeijão, muçarela e prato. No ano de 2013 foram comercializadas cerca de 62 mil toneladas de queijo minas frescal, apresentando um crescimento entre 2010 e 2013 de 55% (PITHAN-SILVA *et al.*, 2016).

2 OBTENÇÃO HIGIÊNICA DO LEITE E O FLUXOGRAMA DE PRODUÇÃO DE QUEIJO MINAS FRESCAL

O leite é um alimento rico em nutrientes e com uma alta umidade, por isso mesmo, é bastante propício à proliferação de microrganismos. Sendo o insumo principal para a produção de queijos, sua obtenção higiênica é o ponto chave para a qualidade dos produtos derivados (NETTO; VIDAL, 2018; VIDAL; NETTO, 2018).

A obtenção do leite deve ser realizada com máxima higiene, onde a dependência de ordenha e os equipamentos utilizados devem ser mantidos limpos antes, durante e após a obtenção. O leite deve ser coado e refrigerado à temperatura máxima de 4,0 °C (BRASIL, 2018).

Quando há o trânsito do leite cru, este deve ser realizado por meio de transporte com compartimentos construídos em aço inoxidável próprio para o contato com alimentos e as substâncias higienizantes empregadas, sendo que a higienização deve ser realizada antes e após o transporte. Deve dispor de refrigerador e de isolamento térmico, para que o leite seja mantido sem congelamento em temperatura máxima de 7,0 °C até a chegada ao estabelecimento produtor (BRASIL, 2018).

Para seu controle higiênico, o leite passa pelo processo de pasteurização, que consiste no aquecimento do leite com o objetivo de destruir as bactérias deteriorantes e patogênicas presentes (ATAÍDE, 2008).

A utilização de leite sem o tratamento térmico adequado pode resultar em um produto de má qualidade, pois caso não sejam empregadas práticas adequadas de manipulação e fabricação são várias as possibilidades de contaminação, que além de reduzir a vida útil do alimento pode torná-lo um veículo de doenças (ZANELA; DERETI, 2018).

Mesmo em situações nas quais esta matéria-prima tenha contagem bacteriana muito baixa e apresentando aparência, gosto, consistência e aroma normais, isso não garante que ela esteja livre de patógenos (MENEZES *et al.*, 2010).

As contaminações podem ocorrer por fatores do ambiente, como o contato da matéria-prima com o ar, solo, poeira, fragmentos de ração, esterco, insetos, utensílios e equipamentos mal higienizados, além da conduta higiênica inadequada do ordenhador (SILVA, 2008). A saúde da glândula mamária das vacas também contribui para a carga microbiana do leite, sendo importante observar a sanidade do rebanho, o ambiente em que os animais ficam alojados e a qualidade microbiológica da água, instalações e equipamentos (NETA *et al.*, 2015).

As boas práticas de fabricação e medidas de sanificação são justamente as ferramentas adequadas para assegurar a qualidade do alimento, fazendo com que chegue até os consumidores em condições higiênicas sanitárias satisfatórias e evitando que se torne um veículo de doenças (BARBOSA *et al.*, 2019; MARCONI; GASPAROTTO, 2018)

É neste sentido que ao observar a necessidade de desenvolvimento de um instrumento genérico de verificação das Boas Práticas de Fabricação aplicável aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos foi instituída a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 275 de 2002, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

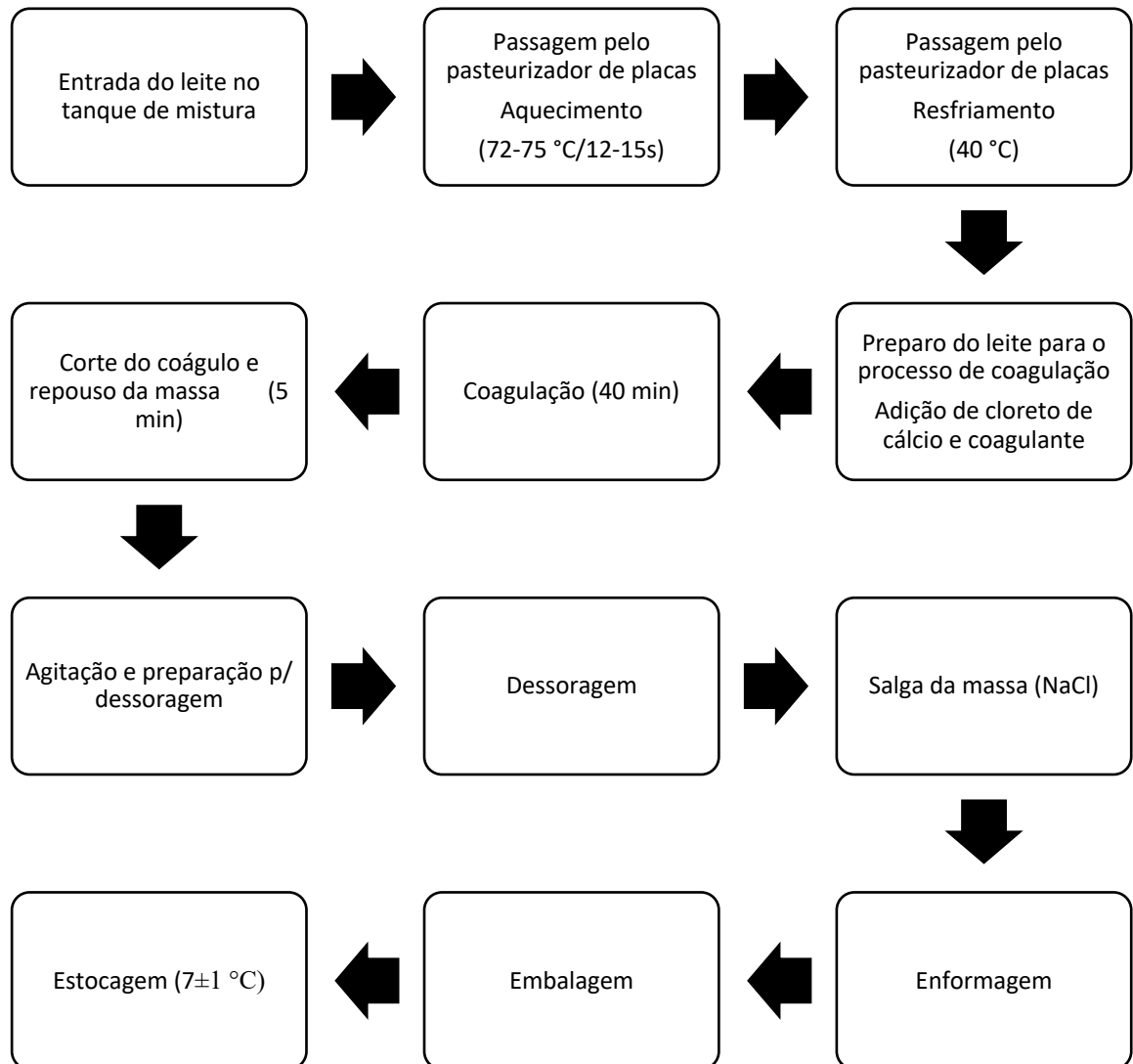
Nesta legislação é aprovado o regulamento técnico de procedimentos operacionais padronizados e a lista de verificação das boas práticas de fabricação aplicados aos estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. Estas medidas visam à higienização das instalações, equipamentos, móveis e utensílios; o controle da potabilidade da água; a higiene e saúde dos manipuladores; o manejo dos resíduos; a manutenção preventiva e calibração de equipamentos; o controle integrado de vetores e pragas urbanas; a seleção das matérias-primas, ingredientes e embalagens; e o programa de recolhimento de alimentos (BRASIL, 2002).

Pelo fato do queijo minas frescal ser um produto que requer bastante manipulação, o que juntamente com o seu elevado teor de umidade, torna-se propício para a multiplicação de microrganismos, fazendo com que este produto tenha uma alta perecibilidade. Podendo ocorrer contaminações em todas as suas etapas de processamento, desde a obtenção da matéria-prima até o período de transporte e estocagem (PINTO *et al.*, 2009).

Ainda que pela portaria nº 352/97 do MAPA, o queijo minas frescal deva ser obtido por meio de leite pasteurizado, usualmente é fabricado com leite cru, de maneira artesanal, especialmente por parte dos produtores menos tecnificados (SILVA; BELO, 2018; BRASIL, 1997), fato esse que aumenta os riscos do fornecimento de um produto com menor tempo de prateleira e potencialmente veiculador de doenças alimentares.

O fluxograma para a produção industrial de queijo minas frescal é mostrado na figura 1 e teve como base o fluxograma de SPADOTI *et al.* (2016).

Figura 1 - Fluxograma de produção de queijo minas frescal



Fonte: adaptado de SPADOTI *et al.* (2016)

O processo inicia-se pela homogeneização do leite cru que serve como matéria-prima básica, passando em seguida por um pasteurizador de placas, onde é aquecido a temperatura de 72 °C a 75 °C, durante 12 a 15 segundos, sendo imediatamente resfriado a 40 °C. Segue-se então para os tanques de queijo, neste momento são realizados os procedimentos necessários para coagular a caseína (proteína do leite) (SILVA, 2005; SPADOTI *et al.*, 2016).

Nesta etapa, pode haver a adição de fermento láctico (usualmente *Lactococcus lactis* e *Lactococcus cremoris*), utilizado para produzir ácido láctico, consequentemente, reduzindo o crescimento de microrganismos indesejáveis; também para desenvolver pequena acidez, que aumentará o poder de coagulação do coalho; e para melhorar a consistência do coágulo, auxiliando na etapa de retirada do soro (SILVA, 2005).

Há a adição de cloreto de cálcio (CaCl_2), necessário para aumentar o teor de cálcio solúvel no leite, pois após o processo de pasteurização o existente naturalmente fica indisponível. É importante para que a coagulação não seja demorada e incompleta, além de conferir elasticidade à massa do queijo (SILVA, 2005; SPADOTI *et al.*, 2016).

Por fim, adiciona-se o coagulante, que é um concentrado de enzima, sendo este o que vai promover propriamente a coagulação do leite, formando a massa do queijo (SILVA, 2005; SPADOTI *et al.*, 2016).

A coagulação do leite tem seu início após a adição do coalho, deixado em seguida sob repouso por cerca de 45 minutos. Quando o processo é finalizado, a massa é então cortada, dessorada (separação da massa coagulada do soro de leite) e salgada para depois ser finalmente enformada, embalada e estocada em câmara fria (SILVA, 2005; SPADOTI *et al.*, 2016).

Considerando o fluxograma padrão de produção, algumas vezes é possível visualizar olhaduras irregulares no queijo devido a ausência da etapa de prensagem. Entretanto, estas podem também indicar a presença de gás produzido por coliformes, especialmente se as boas práticas de fabricação não são observadas. Isso é muito comum de acontecer com os queijos artesanais, em consequência da utilização, na maioria das vezes, de leite cru, também aliado a falhas na sanificação de utensílios que entram em contato com o queijo (BORGES *et al.*, 2008).

Rezende *et al.* (2010) ressaltam que é muito comum a presença de soro na embalagem do queijo minas frescal artesanal, principalmente, porque em boa parte dos casos eles não são embalados a vácuo. Essa presença de soro no fundo da embalagem pode favorecer o crescimento de bactérias, causando um odor desagradável e uma aparência não atraente para o consumidor.

A popularidade e consumo de destaque do queijo minas frescal exigem uma séria preocupação com as boas práticas de fabricação (BPF), pois o seu descumprimento está diretamente relacionado ao aumento do risco de doenças veiculadas por alimentos, comumente conhecidas como DVA's (PINHEIRO *et al.*, 2010).

3 PADRÃO MICROBIOLÓGICO E DOENÇAS PASSÍVEIS DE SEREM VEICULADAS PELO QUEIJO MINAS FRESCAL

Os alimentos obtidos por processos artesanais estão associados com uma maior possibilidade de contaminação, tanto pelo uso de matérias-primas de fontes não seguras e de utensílios mal higienizados ou contaminados, como também a falta de informação e de treinamento das pessoas que fabricam e manuseiam tais alimentos. Assim, acarretando contaminação por diversos microrganismos, comprometendo a qualidade e a segurança do alimento que chega ao consumidor (SALOTTI, 2006; SENGER; BIZANI, 2011; VIEIRA *et al.*, 2008).

A fim de prevenir uma possível contaminação do produto, as práticas higiênicas devem ser observadas com rigor, pois as más condições em que o queijo é processado e também armazenado podem causar sérios danos à população, sendo considerado um problema de saúde pública (RIBEIRO, 2016).

Como já foi ressaltado, os queijos fornecem excelentes condições de crescimento de microrganismos, e isto inclui os patógenos, sendo frequentemente identificados nesse tipo de produto (CHESCA *et al.*, 2015; REZENDE *et al.*, 2010).

Os queijos frescos e macios têm sido implicados com frequência em surtos alimentares. No estado de Manaus, por exemplo, Ruwer, Moura e Gonçalves (2011) relatam que no período de 2005 a 2009 havia um risco significativo de se adoecer pelo consumo de queijo coalho, sendo causados 20%, em média, dos surtos alimentares pelo consumo desse queijo. Dos agentes etiológicos envolvidos nos surtos, o de maior prevalência foi de *Staphylococcus* coagulase positiva (25%), havendo casos também de *Salmonella* sp. (4%) e coliformes termotolerantes (4%). Os autores ressaltaram que 56% dos casos foram indeterminados.

A RDC nº 12 de 2001 da ANVISA destaca como principais microrganismos indicadores a serem pesquisados em queijos do tipo minas frescal os microrganismos do grupo coliformes termotolerantes; *Staphylococcus* sp.; *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. (BRASIL, 2001). Devido ao risco representado por estes microrganismos e das doenças que podem vir a ser causadas por eles por meio da veiculação em alimentos, a sua prevenção assume destacada relevância para a saúde pública (CARVALHO, 2003).

Dentre os microrganismos indicadores relevantes para o queijo minas frescal está o grupo de coliformes totais constituído por bactérias Gram-negativas, não esporuladas e fermentadoras de lactose, com produção de ácido e gás em 24/48h em faixa de temperatura que pode oscilar entre 32 a 37°C. No grupo coliformes totais, há o subgrupo denominado de

coliformes termotolerantes (popularmente conhecidos como coliformes fecais), restrito aos membros que também possuem capacidade de fermentar a lactose com produção de ácido e gás, porém a uma temperatura que varia de 44,5 a 45,5 °C (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A *Escherichia coli* é o principal representante do grupo dos coliformes termotolerantes. Somente 10% das cepas de *E. coli* compreendem patógenos, intestinais e extraintestinais, sendo o restante simbiotes, fazendo parte do trato intestinal dos animais de sangue quente (FRANCO; LANDGRAF, 2005; SILVA; SANTOS, 2008).

Martinez e Taddei (2008) descrevem que a espécie possui pelo menos cinco categorias patogênicas intestinais: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC) e *E. coli* enteroinvasora (EIEC). Estas não fazem parte da microbiota intestinal dos indivíduos saudáveis, causando a infecção intestinal por diferentes mecanismos quando presentes. São coletivamente chamadas de *E. coli* diarreio gênica.

Quanto aos patógenos extraintestinais, estes caracterizam-se por ser habitantes intestinais inócuos, mas que podem causar infecção em todos os sítios extraintestinais. Estes são denominadas segundo o seu local de isolamento, e não pelo conjunto de fatores de virulência que possuem (SILVA; SANTOS, 2008).

As análises de coliformes termotolerantes são os principais indicadores na avaliação do comprometimento sanitário dos alimentos (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Do ponto de vista sanitário, quando há confirmação de *E. coli*, presume-se o contato do alimento com material fecal, oriundo de práticas inadequadas de sanificação e de processamento, além de falhas na higiene pessoal. (FEITOSA *et al.*, 2016).

Dentre as inúmeras espécies do gênero *Staphylococcus*, a bactéria de maior relevância na microbiologia de alimentos é o *Staphylococcus aureus*, que são cocos Gram-positivos, anaeróbios facultativos, imóveis e mesófilos. São capazes de crescer numa grande faixa de temperatura, entre 7 a 47,8 °C, as enterotóxicas são produzidas entre 10 e 46 °C, e em pH de 4 a 9,8, com um ótimo de 6 a 7. Fermentam carboidratos e produzem as enzimas coagulase, termonuclease (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

O *S. aureus* representa um importante agente de toxinfecção alimentar, comumente encontrado em produtos derivados de laticínios (BORGES *et al.*, 2008). Na presença deste microrganismo, suspeita-se da produção de toxina, pois possuem a habilidade de produzir enterotoxinas estáveis ao tratamento térmico, continuando ativas nos alimentos, mesmo após um processo de pasteurização, podendo ocasionar intoxicações alimentares no ser humano (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

É considerado patogênico, embora faça parte da microbiota da maioria dos homens e animais. Pode ser encontrado na cavidade nasal e epiderme, servindo de indicação de deficiências de caráter higiênico no processo de obtenção do alimento, e particularmente nas operações de manipulação (BORGES, 2008; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

A *Listeria monocytogenes* é uma bactéria do tipo bastonete, Gram-positiva, com motilidade (presença de flagelos), anaeróbia facultativa e que não esporula e nem forma cápsula. Apresenta crescimento em uma ampla faixa de temperatura, multiplicando-se inclusive em temperaturas de refrigeração, de 2,5 a 45 °C; em uma ampla faixa de pH, de 4.5 a 9.4; e pode ser halotolerante (multiplicam-se em altas concentrações de sal) tolerando concentrações de 10% a 30% de cloreto de sódio (NaCl) (FRANCO; LANDGRAF, 2005; RIBEIRO; DESTRO, 2008).

A *L. monocytogenes* pode ser encontrada em diversos lugares, sendo prevalente em ambientes naturais, transmitida na cadeia alimentar de animais e seres humanos. Essa capacidade de ser ubíqua relaciona-se, com a sua capacidade de se multiplicar sob uma ampla faixa de temperatura e sob estresse, tais como pH baixo e alta concentração de sal (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Geralmente a contaminação dos alimentos com *L. monocytogenes* acontece pós processamento, ocorrendo de forma indireta pela contaminação das fábricas de processamento. A porta de entrada deste microrganismo no ambiente de fabricação de alimentos se deve à contaminação cruzada, pelo transporte inadequado da matéria-prima, acondicionamento inadequado além da contaminação via manipulador (FRANCO; LANDGRAF, 2005; FARIA, 2016).

Uma vez que este microrganismo contamina o ambiente de processamento, ao aderir em equipamentos e superfícies de contato, ele pode formar biofilmes, facilitando a persistência, difusão e a contaminação de alimentos em várias fases da produção. Essa capacidade corrobora justamente para a principal causa de transmissão de *L. monocytogenes*, a contaminação cruzada, sobretudo em queijos elaborados com leite pasteurizado. Os biofilmes conferem maior resistência microbiana aos germicidas usuais, acarretando implicações substanciais nas indústrias alimentícias e necessidade de intervenções específicas para seu controle (KOCOT; OLSZEWSKA, 2019; VAN HOUTDT; MICHIELS, 2010).

Ao contrário dos outros microrganismos que causam apenas problemas gastrointestinais, a listeriose leva a infecções mais graves em indivíduos susceptíveis, podendo levar não somente a uma diarreia, como evoluir para quadros de febre, meningites, septicemia, aborto, podendo levar o indivíduo à morte. Há um alto grau de severidade das sequelas e um

alto índice de mortalidade (30%) para a população de risco, que inclui indivíduos imunossuprimidos, gestantes, crianças e idosos (CARVALHO, 2003; FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Os casos de listeriose possuem grande importância para a saúde pública, tanto que no Brasil a RDC nº 12 de 2001 da ANVISA estabelece ausência desse microrganismo em 25 g de amostra. No entanto, neste trabalho não se verificou a presença de *Listeria* devido a problemas técnicos (BRASIL, 2001).

Campos (2008) e também FRANCO E LANDGRAF (2005) descreve ainda outro gênero de bactéria, a *Salmonella*, como sendo bactérias do tipo bacilos Gram-negativos, não formadores de esporos, anaeróbios facultativos, catalase positiva, oxidase negativa e produtoras de sulfeto de hidrogênio (H₂S). Pertencem à família *Enterobacteriaceae*, assim como os coliformes, e tem a sua temperatura ótima de crescimento entre 35-37 °C e a temperatura mínima de 5 °C. São termossensíveis, podendo ser facilmente destruídas pelas temperaturas de pasteurização.

A *Salmonella* sp. são bactérias responsáveis por graves infecções alimentares, sendo um dos principais agentes envolvidos em surtos registrados em vários países como Austrália, Alemanha, Estados Unidos e Brasil (SHINOHARA *et al.*, 2008). A sua presença em queijos no Brasil não é tolerada, sendo destinado à mesma imposição que da *Listeria*: que esteja ausente em 25 g de amostra (BRASIL, 2001).

Entre as doenças causadas por este microrganismo está a febre tifóide (*S. typhi*), as febres entéricas (*S. paratyphi*) e as enterocolites (salmoneloses) causadas pelas demais salmonelas. A febre tifóide só acomete o homem e apresenta sintomas graves, como septicemia, febre alta, diarreia e vômito, podendo chegar à uma infecção sistêmica. Já as febres entéricas, apesar da semelhança com a febre tifóide, apresenta sintomas clínicos mais brandos. A salmonelose causa sintomas que surgem de 12 a 36 horas após a ingestão do alimento contaminado e normalmente são caracterizados por náuseas, vômitos, dores abdominais, cefaleia, calafrios e diarreia. Os sintomas podem ser acompanhados também por fraqueza, fadiga muscular e febre (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Constatando a importância de assegurar a qualidade higiênico-sanitária do queijo minas frescal, a fim de evitar a veiculação de doenças, surgiu o questionamento se esse tipo de queijo comercializado em uma feira do Distrito Federal estaria de acordo com as exigências microbiológicas da legislação brasileira, protegendo assim a saúde dos consumidores.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

- Avaliar a qualidade higiênico-sanitária de queijos minas frescal comercializados em uma feira do Distrito Federal de acordo com os limites microbiológicos estabelecidos pela legislação brasileira.

4.2 Objetivos específicos

- Realizar coleta de quatro amostras de queijo minas frescal de diferentes fornecedores comercializados em uma feira do Distrito Federal;
- Verificar os indicadores de qualidade microbiológica de queijo minas frescal: coliformes totais, coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp;
- Fazer comparativo entre os limites microbiológicos de amostras indicativas de queijo de muita alta umidade, estabelecidos pela RDC nº 12 de 2001 da ANVISA, com os resultados de coliformes termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva e *Salmonella* sp;
- Fazer comparativo entre os limites microbiológicos de amostras indicativas de queijo de muita alta umidade, estabelecidos pela Portaria nº 146 de 1996 do MAPA, com os resultados de coliformes totais.

5 METODOLOGIA

5.1 Coleta das amostras

As análises microbiológicas foram realizadas com queijos minas frescal de alguns estabelecimentos de uma feira localizada no Distrito Federal. Quatro amostras distintas de queijo minas frescal foram obtidas de quatro estabelecimentos diferentes.

Os comerciantes cederam pequenas frações de uma peça inteira de queijo, sendo que estas foram fracionadas e embaladas por eles mesmos, com seus utensílios e embalagens. As amostras foram então levadas em embalagem térmica com gelo ao laboratório de análises microbiológicas do IFB *Campus* Gama, onde foram adequadamente acondicionadas e processadas.

As análises foram realizadas com amostras indicativas, segundo as metodologias descritas por Silva *et al.* (2017) com modificações.

5.2 Preparação dos meios de cultivo e vidrarias

Inicialmente foram identificados todos os meios de cultura e soluções necessários para a realização das análises propostas, seguindo as recomendações dos fabricantes. Os diferentes meios foram acondicionados em vidrarias adequadas às análises.

Em um frasco do tipo Boeco foram acondicionadas as soluções de água peptonada tamponada (*Buffered Peptone Water* – BPW); em tubos de ensaio com tubos de Durham foram acondicionados 9 mL do caldo Lauril Sulfato Triptose (LST), o mesmo ocorrendo para os caldos *E. coli* (EC) e Verde Bile Brilhante Lactose 2% (VBBL); em outros tubos de ensaio foram adicionados 10 mL dos caldos Rappaport Vassiliadis Soja (RVS), Frazer e Infusão Cérebro Coração (*Brain Heart Infusion* – BHI); o caldo Ágar Tríplice Açúcar Ferro (*Triple Sugar Iron* – TSI) foi acondicionado em 9 mL em tubos de ensaio. Já o plasma liofilizado de coelho foi ressuscitado com água deionizada esterilizada apenas no momento da análise, tendo sido acondicionado em tubos de ensaio com rosca previamente esterilizados. Os meios de cultura Ágar *Salmonella Shigella* (SS), Ágar Baird-Parker (BP) e Ágar Levine Eosina Azul de Metileno (L-EMB) foram acondicionados em placas de Petri previamente esterilizadas.

Todos os meios de cultura, soluções, vidrarias e instrumentos utilizados para acondicionar ou auxiliar na manipulação das amostras dentro da cabine de segurança microbiológica (fluxo laminar) foram embalados com papel cartonado, selados com fita crepe

e identificados com um pedaço de fita adesiva de autoclave para serem submetidos à autoclavagem úmida a 120 °C por 15 minutos.

Após esta etapa, todas as análises de manipulação das amostras e dos meios ocorriam no fluxo laminar. Este equipamento era previamente sanitizado com álcool 70% e esterilizado com radiação ultravioleta por 15 minutos.

5.3 Preparo das amostras de queijo

A fim de iniciar as análises, 25 g de cada um dos quatro queijos coletados na feira foram colhidos e acondicionados em Erlenmeyers (identificados como amostras A, B, C e D). Posteriormente, foram adicionados de 225 mL de água peptonada tamponada, homogeneizados por agitação manual vigorosa por 1 minuto. Todas as análises foram realizadas a partir destas diluições da amostra. Vale ressaltar que todas as análises a seguir foram realizadas para cada uma das diferentes amostras de queijos (SILVA *et al.*, 2017).

5.4 Análises de coliformes totais e termotolerantes

O teste presuntivo foi executado a partir do processo de diluição seriada das amostras de queijo, utilizando três trincas de tubos de caldo LST. Inicialmente, coletou-se 1 mL da solução de água peptonada tamponada e alimento, distribuindo esse volume em cada um dos tubos de uma primeira trinca, considerada diluição 10^{-1} . Utilizou-se solução salina 0,9% para fazer a diluição e distribuição de 1mL tanto para a segunda trinca (10^{-2}), quanto para outra solução salina 0,9 %, que teve o mesmo procedimento para a inoculação da terceira trinca (10^{-3}) (SILVA *et al.*, 2017).

Os tubos de LST foram colocados em estufa a 35 °C por 24 h. Onde tendo resultados positivos (turvação do meio e produção de gás), transferiu-se uma alçada cada para tubos com caldo VBBL (para identificação de coliformes totais), deixando em incubação por 24 h a 35 °C, e para tubos com caldo EC (para identificação de coliformes termotolerantes), deixando em incubação por 24 h a 45 °C. Ressalta-se que entre cada uma das passagens, as alças foram devidamente flambadas (SILVA *et al.*, 2017).

Após a coleta dos resultados, de cada tubo de EC, com produção de gás e turvação do meio, foi estriado (estrias de esgotamento) uma alçada da cultura em placas de L-EMB. Estas placas foram incubadas por 24 h a 35 °C, observando em seguida se havia o desenvolvimento de colônias típicas de *Escherichia coli* (SILVA *et al.*, 2017).

5.5 Análise de *Staphylococcus coagulase positiva*

A partir da diluição 10^{-1} de cada amostra de queijo, foi inoculado 0,1 mL em placas de BP, espalhando o inóculo com uma alça de Drigalski, previamente flambadas. Após absorverem o volume inoculado e espalhado, foram levadas à incubação por 48 h a 35 °C, com o fundo da placa virado para cima (SILVA *et al.*, 2017).

Em seguida, para as placas com mais de 200 colônias típicas de *Staphylococcus aureus* (circulares, pretas, lisas, convexas, com bordas perfeitas, rodeada com um halo transparente) houve a transferência de cinco colônias de cada placa para tubos de (BHI), que após agitação foram incubados por 24 h a 37 °C (SILVA *et al.*, 2017).

Posteriormente, para o teste de coagulase, houve a transferência de 0,2 mL de cada cultura obtida em BHI para um tubo estéril de 10x100 mm adicionado de 0,5 mL de plasma liofilizado de coelho ressuspendido em água deionizada esterilizada, conforme indicação do fabricante. As soluções foram homogeneizadas com movimentos leves de rotação, sem agitar os tubos, foi deixado incubado a 37 °C e observado periodicamente, a cada 0,5 hora, durante um tempo previsto de 6 horas (SILVA *et al.*, 2017).

Para o teste de catalase, colônias típicas foram selecionadas e emulsionadas com peróxido de hidrogênio 3% em uma lâmina de vidro. Seguiu-se então de observação para coleta dos resultados (SILVA *et al.*, 2017).

5.6 Análise de *Salmonella* sp.

A partir da diluição 10^{-1} de cada amostra de queijo, foi transferido 0,1 mL para tubos com 10 mL de RVS, sendo incubados a 42 °C por 24 h. Em seguida, de cada cultura RVS com turvação do meio, foi estriada (estrias de esgotamento) uma alçada em placas de SS, sendo incubadas a 37 °C por 24 h (SILVA *et al.*, 2017).

Após o período de incubação, as colônias foram observadas, sendo que das colônias suspeitas seguiu-se a confirmação pelo teste de crescimento em Ágar TSI. Neste, realizou-se a transferência de uma colônia aparentemente característica de cada placa de SS. Os tubos de TSI foram incubados a 37 °C por 24 h antes da leitura dos resultados (SILVA *et al.*, 2017).

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os padrões microbiológicos sanitários para amostras indicativas exigidos pelas legislações brasileiras para o queijo minas frescal e os resultados das análises realizadas estão na tabela 1. A contagem de coliformes totais não é delimitada pela RDC nº 12/01 da ANVISA, porém a Portaria nº 146/96 do MAPA estipula esses limites máximos para esta classe de microrganismos.

Como é desconhecido o modo de fabricação dos queijos coletados, os resultados foram comparados com os padrões microbiológicos tanto de queijo de muita alta umidade (como é classificado o minas frescal) obtido com bactérias lácteas abundantes e viáveis, como os elaborados por coagulação enzimática, sem a ação de bactérias lácticas.

Tabela 1: Resultados das análises microbiológicas realizadas com queijo minas frescal

Amostra	Coliformes totais ³ (NMP/g)	Coliformes a 45°C ⁴ (NMP/g)	<i>Escherichia coli</i> ⁴	<i>Staphylococcus aureus</i> ⁴ (UFC/g)	<i>Salmonella</i> sp. ⁴
Limite máximo I ¹	10 ³	5x10 ³	-	5x10 ³	ausente
Limite máximo II ²	10 ²	5x10 ²	-	5x10 ²	ausente
Queijo A	>1,1x10 ³	>1,1x10 ³	ausente	0	ausente
Queijo B	>1,1x10 ³	1,1x10 ³	presente	5,38x10 ³	ausente
Queijo C	>1,1x10 ³	>1,1x10 ³	presente	0	ausente
Queijo D	>1,1x10 ³	>1,1x10 ³	ausente	0	ausente

1 - Limite máximo I: de amostra indicativa para queijo de muita alta umidade (> 55%), com bactérias lácteas abundantes e viáveis.

2 - Limite máximo II: de amostra indicativa para queijo de muita alta umidade (> 55%), elaborados por coagulação enzimática, sem a ação de bactérias lácticas.

3 - Limite estabelecido pela Portaria nº 146/96 do MAPA.

4 -Limite microbiológico estabelecido pela RDC nº 12/01 da ANVISA.

Avaliando a presença de coliformes totais, constatou-se uma contagem maior que $1,1 \times 10^3$ NMP/g para todas as amostras. Esse resultado pode ser comparado com duas classificações (Portaria nº 146/96 do MAPA) de queijo minas frescal, uma com e outra sem bactérias lácticas em forma viável e abundantes. Nas duas classificações, tolera-se uma quantidade máxima de até 10^3 do microrganismo. Assim, tanto na primeira como na segunda classificações todas as amostras não estão em conformidade (BRASIL, 1996).

Semelhantes foram os resultados de DIAS *et al.* (2016), onde todas as amostras analisadas de queijos industrializados e artesanais comercializados em supermercado da região Sul de Goiás estavam em não conformidade. Também de Garcia *et al.* (2016), onde em análise de 18 amostras de queijos frescos artesanais (classificado como muita alta umidade) comercializados na região de Montes Claros (MG), constataram contagem elevada em sua maioria (89%).

Esses resultados podem ser indicativos de falhas na qualidade higiênico-sanitária, associadas a práticas inadequadas de higienização durante o processamento, manipulação, conservação e transporte dos derivados lácteos. Todos esses fatores podem acarretar uma menor vida de prateleira do produto e ocasionar alguma sintomatologia em pessoas do grupo de risco (gestantes, crianças, idosos e imunossuprimidos) (DIAS *et al.*, 2016; GARCIA *et al.*, 2016).

Na análise de coliformes termotolerantes, observou-se em todas as amostras uma contagem maior do que o dobro permitida pela RDC nº 12/01 da ANVISA para queijos elaborados por coagulação enzimática, sem a ação de bactérias lácticas.

Já na comparação com os padrões de queijos com bactérias lácticas em forma viável e abundantes, as amostras A, C e D permitiu a identificação de valores maiores que $1,1 \times 10^3$. A técnica do número mais provável (NMP) para diluições até 10^{-3} , como a realizada neste trabalho, não permitiu que se identificasse se os valores estariam acima de $5,0 \cdot 10^3$. Por essa razão, considerou-se como conforme. Suspeita-se, no entanto, que essas amostras pudessem estar muito próximas do limite estabelecido.

Nesta mesma classificação, a amostra B mostrou estar dentro do limite estabelecido, sem ressalvas quando da aplicação do NMP para coliformes termotolerantes. Entretanto, resultados da inoculação da cultura EC em placas de L-EMB mostraram que as amostras B e C foram positivas para a presença de *E. coli*. Isso porque em meio L-EMB essas amostras apresentaram colônias nucleadas com centro preto e brilho metálico esverdeado, em que SILVA *et al.* (2017) apontam como típicas deste microrganismo.

Autores como GARCIA *et al.* (2016) consideram que a presença de coliformes termotolerantes em alimentos estão relacionados com a transferência pelo contato direto de

fezes com o produto, que pode ocorrer por má higiene dos manipuladores, o que diverge de SILVA *et al.* (2017) que explicam sobre a amplitude de membros no grupo de origem não fecal (várias cepas *Klebsiella pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae* e *Citrobacter freundii*), e por isso o termo coliformes fecais tem sido gradativamente substituído por coliformes termotolerantes.

No entanto, a presença deste grupo de microrganismo ainda indica alguma falha de processo e torna o alimento impróprio para consumo quando excede os limites estabelecidos pela legislação brasileira.

A presença de *E. coli* indica a falta de boas práticas provavelmente negligenciada desde a obtenção do leite. Segundo Silva *et al.* (2017) este microrganismo, sim, pode ser indicativo de contaminação fecal, mas em alimentos “*in natura*” e Souza e Novinski (2017) apontam que as causas podem se dar por higiene inadequada do úbere e tetas da vaca, e até mesmo do manipulador/ordenhador.

Estes resultados para o grupo coliformes termotolerantes se assemelham aos das análises realizadas também no Distrito Federal por Lima e Cardoso (2019), onde 100% dos queijos minas frescal analisados não estavam aptos para o consumo humano, pois havia uma elevada contagem tanto de coliformes totais quanto de termotolerantes.

Sendo o tratamento térmico uma ferramenta eficaz para eliminar a limites aceitáveis as concentrações do grupo de coliformes (SILVA *et al.*, 2017), nos leva a questionar se os leites utilizados na fabricação dos diferentes queijos realmente foram pasteurizados ou se chegaram ao binômio tempo x temperatura adequados ou, ainda, se não houve uma contaminação pós-pasteurização.

O consumo e a utilização do leite cru sem passar pelo processo de pasteurização é preocupante, pois esse alimento pode transmitir doenças como tuberculose, brucelose, listeriose, salmonelose, yersiniose, campilobacteriose, infecção por *E. coli*, entre outras (MAPA, 2019).

Os resultados da análise de *Staphylococcus* mostram que a amostra B apresentou grande crescimento de colônias típicas de *S. aureus*, tendo uma contagem de $5,38 \times 10^3$ UFC/g, portanto encontrando-se fora dos limites da legislação (RDC nº 12/01 de ANVISA) tanto para o queijo obtido por coagulação enzimática com ou sem a presença de bactérias lácticas abundantes de viáveis. As colônias típicas da amostra B apresentaram ainda coagulase e catalase positivas, indicando, portanto, a grande possibilidade da presença de *S. aureus*. As outras amostras não apresentaram crescimento característico desse microrganismo.

Ainda em relação à presença de *S. aureus*, há também a preocupação com a produção da enterotoxina estafilocócica, transformando o alimento em uma ameaça à saúde do consumidor. A quantidade mínima de *S. aureus* para produção e detecção de enterotoxinas estafilocócicas é 10^5 a 10^6 UFC/mL ou g de alimento (FRANCO; LANDGRAF, 2005). Tendo em conta a elevada quantidade do microrganismo na amostra B, essa mostra-se susceptível a presença de enterotoxinas, pois haveria a continuidade no desenvolvimento do microrganismo se não fosse a interrupção para as análises.

A intoxicação apresenta como principais sintomas a náuseas, vômitos, dores abdominais bem dolorosas, diarreia, sudorese e quadros febris, quando a ingestão de toxinas é muito alta. Os sintomas e o tempo de incubação na intoxicação pela enterotoxina variam de acordo com a quantidade de toxina consumida no alimento e a sensibilidade do indivíduo (FRANCO; LANDGRAF, 2005).

Diversos autores também identificaram em suas análises, contagens acima do permitido pela legislação (CHESCA *et al.*, 2015; DIAS *et al.*, 2016; SOUZA e NOVINSKI, 2017; SILVA; BELO, 2018; MOTTIN *et al.*, 2016; MATOS, 2019). Borges *et al.* (2008) discutem que esse tipo de patógeno pode ser detectado no leite cru extraído de vaca portadora de mastite (inflamação do úbere) e sugere a ocorrência de falhas higiênicas na ordenha e obtenção higiênica do leite.

Com relação às análises de *Salmonella*, as placas de Ágar SS das amostras A (uma parte das estrias de esgotamento) B e D apresentaram crescimento aparentemente típico, com colônias transparentes com centro negro, suspeitando-se da presença do microrganismo. A amostra C e parte das estrias de esgotamento da amostra A, apresentaram colônias típicas de *E. coli* (BRASIL, 2013).

Após inoculação em Ágar TSI, entretanto, nenhum dos tubos apresentaram desenvolvimento típico de *Salmonella* (rampa alcalina, fundo ácido, com produção de gás carbônico - CO₂, com ou sem produção de sulfeto de hidrogênio - H₂S).

No tubo da amostra A, houve produção de gás (CO₂) sem escurecimento do meio, com o aspecto totalmente amarelado (fermentação da glicose, lactose e sacarose) e colônias mucosas na rampa, indicativos de *E. coli*, *Enterobacter aerogenes* e *E. cloacae*. No tubo da amostra B, houve produção de gás com forte escurecimento do meio (H₂S), com a acidificação da rampa e com presença de colônias mucosas nesta, indicativos de *C. freundii* e *Proteus vulgaris*. No tubo da amostra C, o ágar ficou liquefeito, apresentou bolhas nas extremidades da rampa, evidenciando a produção de gás, mas sem escurecimento do meio (CO₂), ficou com um aspecto totalmente amarelado (fermentação da glicose, lactose e sacarose) e colônias mucosas na rampa,

indicativos de *E. coli*, *E. aerogenes* e *E. cloacae*. No tubo da amostra D, houve produção de gás com leve escurecimento do meio (H₂S), com rampa acidificada e com presença de colônias mucosas, indicativos de *C. freundii* e *P. vulgaris*. (BRASIL, 2013; VALLS; NACENTE, 2011; SILVA *et al.*, 2017).

Os resultados indicaram ausência de *Salmonella* sp. Não obstante, as possíveis presenças de *E. coli*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *C. freundii* e *P. vulgaris*, microrganismos do grupo coliformes, reforçam a falha ou negligência nas BPF ou na utilização de leite não pasteurizado para a produção do queijo minas frescal, sendo os quatro últimos patógenos oportunistas e causadores de doenças infecciosas como infecção urinária e respiratória (MARTINEZ; TADDEI, 2008).

Os resultados encontrados nesse trabalho são semelhantes àqueles da pesquisa de Machado *et al.* (2017). Em um universo de 10.586 amostras, dentre as bactérias Gram negativas observadas em uroculturas estavam presentes em 977 amostras o microrganismo *E. coli*, em 33 amostras *Proteus mirabilis*, *Citrobacter* spp. em 13 amostras e 2 amostras com *Enterobacter* spp. (MACHADO *et al.*, 2017).

Também semelhantes aos nossos resultados, VALIATTI *et al.* (2015) analisaram 4 amostras de queijos minas frescal, adquiridas diretamente de propriedades rurais do Município de JI-Paraná (RO), e não detectou presença de *Salmonella* em nenhuma das amostras.

Apesar de não se ter desenvolvido colônias típicas, SILVA *et al.* (2017) advertem que eventualmente pode crescer uma cepa lactose positiva de *Salmonella*, provocando uma reação ácida atípica na rampa. Com tal descrição e levando em conta também os resultados do Ágar SS, não deve ser descartada a possibilidade da presença do microrganismo nas amostras B e D, tendo a necessidade de outras análises para certificar-se do resultado final.

Neste sentido, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), técnica utilizada por MEDEIROS (2013) para detecção molecular de *Salmonella* sp. em amostras avícolas, é uma possibilidade de análise a ser realizada.

Considerando todos os resultados obtidos, os microrganismos identificados como presentes nas amostras de queijos analisadas estão provavelmente relacionados à alguma falha nas boas práticas de fabricação. Além de que o desenvolvimento dos microrganismos confirmados (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) são frequentes causadores de DVA's.

A forma de produção do queijo minas frescal exige cuidados sanitários nas diversas etapas, desde a seleção de matéria-prima procedente de animais controlados sanitariamente, passando pelo controle dos processos de produção (manipuladores, equipamentos, instalações) até a distribuição ao consumo. A falta de controle dos pontos críticos nas diversas etapas, aliada

às características intrínsecas do produto conferem ao queijo minas frescal, grande susceptibilidade à contaminação (OPAS, 2009).

Os resultados demonstram, portanto, a importância da aplicação das boas práticas de fabricação. Isso ocorre sobretudo iniciando-se pela obtenção do leite de forma higiênica, onde deve ser aplicado os parâmetros da Instrução Normativa nº 77/18 do MAPA. Além da manutenção e controle das boas práticas nos estabelecimentos produtores/industrializadores deve seguir as exigências da RDC nº 275/02 da ANVISA. Lembrando sempre da importância do treinamento e conscientização constantes dos produtores para a oferta de alimento com valor agregado, com maior tempo de prateleira e seguro para o consumo.

No momento da coleta das amostras, as peças de queijos dos estabelecimentos ficavam em um balcão refrigerado, sendo que em um dos estabelecimentos as peças eram colocadas em cima de uma pia e lavadas em água corrente. Havia também em alguns a utilização de tábuas de madeiras.

Pôde-se presenciar também o meio utilizado para o transporte dos queijos do fornecedor da amostra B. O alimento era transportado sem refrigeração na caçamba de um veículo pequeno de passeio, estando demasiadamente sujo, inclusive a superfície do interior da caçamba, sendo que os queijos estavam empilhados dentro de um material aparentemente de policloreto de vinila (PVC) e naquele momento descobertos.

Os resultados mostram também coerência com resultados encontrados por outros autores que também pesquisaram a qualidade microbiológica dos queijos minas frescal, evidenciando que a qualidade higiênico-sanitária desse produto é sim um problema de saúde pública.

A Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS, 2009) cita que em pesquisas realizadas no Estado de Mato Grosso demonstram o envolvimento do queijo minas frescal em surtos de DVA's com presença de *Salmonella*, *Staphylococcus* coagulase positiva e toxina estafilocócica. Também relata que em análises fiscais (de rotina), realizadas pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Mato Grosso (LACEN-MT), detectou-se presença de *Salmonella* spp., coliformes fecais e *Staphylococcus* coagulase positiva em diversas amostras de queijo entre 2003 e 2007. Acrescenta-se ainda o possível envolvimento no índice de diarreias no estado que não têm causa definida. Ressalta-se que dos 40 surtos de DVA's investigados pela Vigilância Epidemiológica Estadual em 2007, em 04 (10%) deles, o alimento incriminado foi o queijo.

7 CONCLUSÕES

Os resultados das análises dos queijos avaliados mostraram que todas as amostras apresentaram alguma não conformidade com a legislação brasileira, levando-nos a presumir a existência de falhas nas boas práticas de fabricação e o risco elevado de causarem alguma sintomatologia pela veiculação dos microrganismos identificados e quantificados.

A partir dos dados disponibilizados por este trabalho nos permite concluir também que, para minimizar o risco microbiológico na produção de queijo minas frescal, é urgente a educação e treinamento de produtores para a implementação das boas práticas de fabricação.

Esse trabalho oferece dados importantes para uma futura ação educativa junto aos produtores de onde as amostras de queijo minas frescal foram adquiridas.

Para próximas pesquisas sugere-se um levantamento sobre o consumo de queijo minas frescal no Distrito Federal, pois o material é escasso; um levantamento de dados sobre surtos alimentares em que o queijo de modo geral está envolvido; e também uma análise de percepção de risco dos consumidores de queijo minas frescal nesta feira do Distrito Federal.

REFERÊNCIAS

- ABRAS - Associação Brasileira de Supermercados. **Mercado de queijos cresce no país e atrai estrangeiros**. 2014. Disponível em: <<http://www.abras.com.br/clipping.php?area=1&clipping=47233>>. Acesso em: 4 dez. 2019.
- ARRUDA, Maria Digian de Oliveira. **Avaliação da sobrevivência e crescimento de *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* em queijo de coalho durante armazenamento sob baixas temperaturas**. 2016. 92 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal da Paraíba, Centro de Tecnologia, João Pessoa, 2016.
- ATAÍDE, Walécia Souza de *et al.* Avaliação microbiológica e físico-química durante o processamento do leite pasteurizado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 67, n. 1, p. 73-77, 2008.
- BARBOSA, Patrícia Faria *et al.* Análises microbiológicas e físico-químicas de queijos minas frescal comercializados em feiras livres. **REVISA**, v. 8, n. 2, p. 147-152, abr./jun. 2019.
- BORGES, Maria de Fátima *et al.* *Staphylococcus* enterotoxigênicos em leite e produtos lácteos, suas enterotoxinas e genes associados: Revisão. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos-CEPPA**, Curitiba, v.26, n.1, p. 70-86, 2008.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 5: Tecnologias em Serviços de Saúde: descrição dos meios de cultura empregados nos exames microbiológicos. Brasília: ANVISA, 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto nº 9.013, de 29 de Março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 mar. 2017. Seção 1, p. 3.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 77, de 26 de novembro de 2018. Estabelece os critérios e procedimentos para a produção, acondicionamento, conservação, transporte, seleção e recepção do leite cru em estabelecimentos registrados no serviço de inspeção oficial. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 30 nov. 2018. Seção 1, p. 10.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 146, de 07 de março de 1996. Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 mar. 1996. Seção 1, p. 3977.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria nº 352, de 04 de setembro de 1997. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Queijo Minas Frescal. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 08 set. 1997. Seção 1, p. 19684.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, p. 45-53, 10 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 275, 21 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 6 nov. 2002. Seção 1, pág. 126.

CARVALHO, Juliane Döering Gasparin. **Avaliação da qualidade de queijos tipo Minas Frescal elaborados por diferentes processos tecnológicos e comercializados em Campinas-SP**. 2003. 107 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos). Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, 2003.

CHESCA, Ana Claudia *et al.* Patógenos em queijo minas frescal e curado. **Higiene Alimentar**, vol. 29, nº 242/243, mar./abr. 2015.

DIAS, Bruna Ferreira, *et al.* 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.

DIDONET, Fabiana Pieniz. **Estudo sobre a utilização de saneantes na indústria alimentícia para controle de *Listeria monocytogenes***. 2018. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – UNIJUÍ, Ijuí, 2018.

FARIA, Daniele Bezerra. **Contaminação cruzada durante o fatiamento de produto cárneo pronto para o consumo: foco em *Listeria monocytogenes***. 2016. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2016.

FEITOSA, Sarah Borges *et al.* Caracterização microbiológica do queijo minas frescal comercializado em feiras livres. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO**, v.3, n. 01, p. 1-14, ago./dez. 2016.

FLORES, Ariadna Milena Pessoa da Câmara; MELO, Cristiano Barros de. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 37, n. 1, p. 65-72, jan./mar. 2015.

FRANCO, Bernadete Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182p.

GARCIA, Jéssica Karoline Santos *et al.* Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 58-65, ago. 2016.

JUSTINO, Isabela Araújo. **Investigação de resistência adquirida e epidemiologia molecular em enterobactérias produtoras de AmpC cromossômica isoladas de pacientes hospitalizados**. 2018. 67 f. Tese (Doutorado em Biociências aplicadas à Farmácia) - Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2018.

KOCOT, Aleksandra; OLSZEWSKA, Magdalena. Interaction and inactivation of *Listeria* and *Lactobacillus* cells in single and mixed species biofilms exposed to different disinfectants. **Journal of Food Safety**, v. 39, n. 6, 2019.

LIMA, Anabele Azevedo; CARDOSO, Anna Júlia Viera Santana. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal, artesanal, comercializados em feiras livres do Distrito Federal. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 5, n. 9, p. 13673-13688, set. 2019.

LIMA, Igor Moreira; FOGAÇA, Larissa Costa Silva. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijos minas padrão comercializados no município de Vitória da Conquista - Bahia. **Id On line Revista Multidisciplinar e de Psicologia**, v.13, n. 43, p. 819-827, 2019.

MACHADO, Pâmela Araujo *et al.* Prevalência de infecções do trato urinário e perfil de susceptibilidade a antimicrobianos de bactérias isoladas. **Disciplinarum Scientia**, Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 18, n. 2, p. 271-287, 2017.

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Ministério alerta para perigos do consumo de leite cru. 2019. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/noticias/ministerio-alerta-para-perigos-do-consumo-de-leite-cru>>. Acesso em: 4 dez. 2019.

MARCONI, Mário Henrique; GASPAROTTO, Angelita Moutin Segoria. O impacto positivo no uso das boas práticas de fabricação em uma indústria de alimentos PET. **Revista Interface Tecnológica**, v. 15, n. 1, p. 360-372, jun. 2018.

MARTINEZ, Marina Baquerizo; TADDEI, Carla Romano. Enterobacteriaceae. In: **Microbiologia**. TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 35, p. 293-301.

MATOS, Higor Mendes. **Caracterização de queijos tipo minas frescal e ricota comercializados no município de Barra de Garças MT**. 2019. 48 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Univesidade Federal de Mato Grosso, Instituto de Ciências Exatas e da Terra, Barra do Garças, 2019.

MEDEIROS, Nadielly Xavier de. **Deteção molecular de *Salmonella* sp. em amostras avícolas**. 2013. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia (EVZ), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2013.

MENEZES, P. M. S. *et al.* Avaliação da qualidade higiênico-sanitária dos presuntos fatiados comercializados na cidade de São Luís, MA. **Biológico**, São Paulo, v. 72, n.1, p.11-17, 2010.

MOTTIN, Vanessa Daniele *et al.* Quantificação e correlações de parâmetros microbiológicos em queijos minas frescal no sudoeste da Bahia. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zootecnia da UNIPAR**, Umuarama, v. 19, n. 3, p. 137-142, jul./set. 2016.

NETA, Francisca Carvalho Nascimento *et al.* Condições de produção de leite em propriedades familiares localizadas no município de Alegre – ES, Brasil. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 70, n. 3, p. 117-131, mai./jun., 2015.

NETTO, Arlindo Saran; VIDAL, Ana Maria Centola. Composição do leite. In: VIDAL, Ana Maria Centola. **Obtenção e processamento do leite e derivados**. Pirassununga : Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018. 220 p. Cap. 2, p. 22-65.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. **Guias para o gerenciamento dos riscos sanitários em alimentos**. Rio de Janeiro: Área de Vigilância Sanitária, Prevenção e Controle de Doenças - OPAS/OMS, 2009. 320 p.

PINHEIRO, Marita Bianchini *et al.* Análise microbiológica de tábuas de manipulação de alimentos de uma instituição de ensino superior em São Carlos, SP. **Revista Simbio-Logias**, v. 3, n. 5, dez. 2010.

PINTO, Maximiliano Soares *et al.* Segurança alimentar do queijo minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. *Revista Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 39, n. 4, p. 342-347, 2009.

PITHAN-SILVA, Rosana de Oliveira *et al.* Soro em pó: considerações sobre sua participação na cadeia do leite no Brasil. **Revista Indústria de Laticínios**, v. 20, n. 210, p. 79-81, 2016.

REZENDE, Patrick Hernand Leonel *et al.* Aspectos sanitários do queijo minas artesanal comercializado em feiras livres. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 65, n. 377, p. 36-42, nov./dez. 2010.

RIBEIRO, Laryssa Freitas. **Contaminação por bactérias patogênicas na obtenção de leite e produção de queijos tipo minas frescal elaborados a partir de leite cru refrigerado**. 2016. 135 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2016.

RIBEIRO, Vinicius Buccelli; DESTRO, Maria Teresa. *Listeria monocytogenes*. In: **Microbiologia**. TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 29. p. 255-264.

RUWER, Cristiane Marisa; MOURA, Josimara Fernandes de; GONÇALVES, Maria Jacirema Ferreira. Surtos de doenças transmitidas por alimentos em Manaus, Amazonas (2005-2009): o problema do queijo coalho. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 18, n. 2, p. 60-66, 2011.

SALOTTI, B. M. et al. Qualidade Microbiológica do Queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 73, n. 2, p. 171-175, abr./jun. 2006.

SANGALETTI, Naiane. **Estudo da vida útil do queijo Minas frescal disponível no mercado**. 2007. 80f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2007.

SENGER, Ana Eliza Vieira; BIZANI, Delmar. **Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijo minas frescal, produzido de forma artesanal e industrial, comercializado na cidade de Canoas/RS, Brasil**. Revista de Ciências Ambientais, Canoas, v. 5, n. 2, p. 25-42, 2011.

SHINOHARA, Neide Kazue Sakugawa *et al.* *Salmonella* spp., importante agente patogênico veiculado em alimentos. **Revista Ciências Saúde Coletiva**, v. 13, n. 5, p. 1675-1683, 2008.

SILVA, Débora Alves Ferreira da. **Análise microbiológica de amostras de queijo minas frescal comercializado no Estado do Rio de Janeiro**. 2016. 39 f. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional em Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2016.

SILVA, Fernando Teixeira. **Queijo minas frescal**. Brasília: Embrapa, Informação Tecnológica, 2005.

SILVA, Marco Antônio Pereira da. **Influência dos tipos de ordenha, transporte e tempo de armazenamento na qualidade do leite cru refrigerado da região sudoeste do estado de Goiás**. 2008. 60 f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

SILVA, Neusely da *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. 5 ed. São Paulo: Blucher, 2017. 560 p.

SILVA, Raiane Aparecida Pereira da; BELO, Renata França Cassimiro. Avaliação da qualidade microbiológica de queijos do tipo minas frescal produzidos artesanalmente e comercializados no município de Sete Lagoas, Minas Gerais. **Revista Brasileira de Ciências da Vida**, v. 6, n. 3, 2018.

SILVA, Rosa Maria; SANTOS, Ana Carolina de Mello. *Escherichia coli* Patogênica Extraintestinal (ExPEC). In: **Microbiologia**. TRABULSI, Luiz Rachid; ALTERTHUM, Flavio. 6. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. Cap. 41, p. 333-341.

SOUZA, Analu Ferreira de; NOVINSKI, Mônica Alexsandra. **Análise da qualidade sanitária e microbiológica de queijos minas frescal comercializados na cidade de Ponta Grossa - PR**. 2017. 25 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso Superior de Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017.

SPADOTI, Leila Maria *et al.* Análise comparativa e viabilidade econômica da produção industrial de queijo minas frescal tradicional e *light* com diferentes teores de concentrado protéico de soro. **Revista Informações Econômicas**, São Paulo, v. 46, n. 6, p. 13-26, nov./dez., 2016.

VALIATTI, Tiago Barcelos *et al.* Avaliação das condições higiênico sanitárias de queijos tipo minas frescal comercializados em feiras no município JI-Paraná. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, v. 6, n. 1, p. 59-68, 2015.

VALLS, Josep Sancho; NACENTE, R. Baldrís. **Handbook of microbiological Culture Media**. 11 ed. Barcelona: Scharlau Chemie S.A., p. 359-361, 2011.

VAN HOUDT, Rob; MICHELIS, Chris W. Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. **Journal of applied microbiology**, v. 109, n. 4, p. 1117-1131, 2010.

VIDAL, Ana Maria Centola; NETTO, Arlindo Saran. Obtenção higiênica do leite. In: VIDAL, Ana Maria Centola. **Obtenção e processamento do leite e derivados**. Pirassununga : Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, 2018. 220 p. Cap. 1, p. 1-21.

VIEIRA, Katia P. *et al.* **Contaminação de queijo Minas frescal por bactérias patogênicas: um risco à saúde**. ConScientiae Saúde, v. 7, n. 2, p. 201-206, 2008.

VINHA, Mariana Barboza *et al.* Fatores socioeconômicos da produção de queijo minas frescal em agroindústrias familiares de Viçosa, MG. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 9, p. 2023-2029, 2010.

ZACARCHENCO, Patrícia Blumer *et al.* (Ed.). **Brasil dairy trends 2020: tendências do mercado de produtos lácteos**. Campinas: ITAL, 2017. 343 p.

ZANELA, Maira Balbinotti (Ed.); DERETI, Rogério Morcelles (Ed.). **7º dia de campo do leite: da Pesquisa para o Produtor**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2018. 53 p.