

DRIENE BASTOS SOARES

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA
DO QUEIJO MINAS ARTESANAL NA REGIÃO DE
UBERLÂNDIA-MG**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária - mestrado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Área de concentração: Produção animal.

Orientador(a): Dra. Daise Aparecida Rossi

UBERLÂNDIA

2014

DRIENE BASTOS SOARES

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E MICROBIOLÓGICA
DO QUEIJO MINAS ARTESANAL NA REGIÃO DE
UBERLÂNDIA-MG**

Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Medicina Veterinária - mestrado da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Veterinárias.

Uberlândia, 27 de março de 2014

Baca examinadora:

Profa. Dra. Daise Aparecida Rossi
(Orientadora – UFU)

Profa. Dra. Kênia de Fátima Carrijo
(Examinadora – UFU)

Prof. Dr. Celso Jose de Moura
(Examinador – UFG)

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S676c

2014 Soares, Driene Bastos, 1988-
Caracterização físico-química e microbiológica do queijo
minas artesanal na região de Uberlândia-MG / Driene Bastos
Soares. – 2014.
124 f. : il.

Orientador: Daise Aparecida Rossi.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Pro-grama de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.
Inclui bibliografia.

1. Veterinária - Teses. 2. Queijo-de-minas - Teses. 3.
Microbiologia – Alimentos - Teses. I. Rossi, Daise Aparecida.
II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

CDU: 619

Aos meus pais que sempre me apoiou em todas as minhas decisões e estiveram ao meu lado em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Nem sempre é possível expressar em palavras todo o meu sentir e gratidão pelas pessoas que fizeram parte da jornada da minha vida.

É imensurável o meu carinho, afeto, gratidão, respeito, dentre todos os outros sentimentos pelos meus pais. Graças a eles aprendi os verdadeiros valores da vida, aprendi a olhar para dentro de mim com os olhos da sabedoria e então buscar a pessoa que eu quero ser, sempre evoluindo em todos os instantes, com eles aprendi o que é determinação e ir em busca das nossas metas sem medo dos desafios, aprendi o valor do tempo e que tempo que se perde é vida que se vai sem possibilidade de conquistar, aprendi o valor da família, do companheirismo, da amizade, da palavra. Agradeço a vocês meus pais por terem sido e ainda serem fundamentais em minha vida e em todas as minhas conquistas.

Sou imensamente grata pela minha irmã que me ensina a cada dia a cultivar a paciência, a tolerância, a compreensão, mas acima de tudo isso me ensinou a cultivar os sentimentos através do seu exemplo. Em você, irmã, enxergo a outra metade que me falta, com o seu exemplo de bondade vou aprendendo a completar em mim muitos valores que busco nesta vida. Você também faz parte desta conquista.

Agradeço a toda a minha família pela união, carinho e apoio nos momentos que precisei. Com vocês percebi que não caminhamos sozinhos e que sempre temos uns aos outros para nos segurar quando estivermos caindo.

Aos meus amigos sinto muita gratidão pelo afeto e companheirismo que me deram em todos os momentos que precisava. Sem vocês nada faria sentido nesta jornada, afinal a amizade é o “*diáfano esplendor que ilumina os afetos mais puros e santifica o sentimento que, pela força do vínculo, une as vidas na plenitude da confiança, do respeito e da indulgência mútua. Excelsa expressão, que reafirma na consciência a maravilhosa concepção do princípio substancial que alenta nossa existência.*” Pecotche.

Muito obrigada a todos do LABIO que desde o início me acolheram com muita atenção e carinho e sempre me ajudaram nas minhas dificuldades. Vocês me ensinaram que família não é apenas a que nascemos, mas são também as pessoas que convivemos e trocamos lindas experiências. Todos são como irmãos para mim e

guardo um imenso carinho e gratidão. Sem vocês eu não seria capaz de finalizar esta etapa de minha vida.

Não tenho palavras para descrever a minha gratidão e afeto pela minha querida orientadora Daise. A você devo o meu crescimento como pesquisadora, a minha superação de enfrentar o medo de ser amiga de quem me orienta, aprendi a me conhecer melhor em vários aspectos que não enxergava antes e que agora posso melhorar. Você me surpreendeu em todos os fatores, não é mais para mim uma simples orientadora, mas sim uma mãe, pois faz parte não apenas das minhas conquistas acadêmicas como também das minhas superações como ser humano. Sou uma pessoa de muita sorte por ter você no meu caminho.

Finalmente agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade da vida, ter me dotado de uma mente que me permitisse ir em busca do meu verdadeiro ser, ter colocado em meu caminho todas essas pessoas e a Logosofia para que eu pudesse valorizar tudo isso.

*“O homem deve aprender a organizar sua vida
para perpetuar-se dentro de sua própria consciência,
por ser ela a que lhe permite experimentar
a sensação inefável de ser e de existir, e que concentra,
na célula hereditária a síntese perfeita
de tudo quanto realiza durante a vida”.*

(Carlos B. G. Pecotche)

RESUMO

A elaboração de queijos constitui uma das mais importantes atividades da indústria de laticínios no Brasil. Diante da importância econômica e cultural do queijo Minas artesanal, este estudo objetivou verificar as características físico-químicas, microbiológicas e as condições higiênico-sanitárias dos queijos produzidos no município de Uberlândia, para determinar o período mínimo de maturação e outras condições capazes de garantir sua qualidade microbiológica e estabelecer os critérios para posterior elaboração de legislação municipal. As características físico-químicas avaliadas foram umidade, gordura, gordura no extrato seco, acidez titulável, cloreto de sódio, proteína, cinzas e materiais estranhos. As análises microbiológicas basearam-se na pesquisa de coliformes totais, *E. coli*, bolores e leveduras, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Para os isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva avaliou-se o perfil de resistência aos antimicrobianos. Foi investigada também a influência do treinamento de boas práticas na produção dos queijos durante o período chuvoso e seco por até 26 dias de maturação e se o estabelecimento de porcentagem de umidade máxima de 45,9% seria capaz de garantir sua qualidade. Quanto às condições higiênico-sanitárias, realizou-se análises de mãos, equipamentos, potabilidade da água, soro-fermento e leite. Os resultados mostraram que o cumprimento à legislação vigente foi obtido no 26º dia de maturação. As médias para os parâmetros físico-químicos nesse momento foram: 47,15%, 35,9%, 2,08%, 27,46%, 5,34%, 30,10% e 1,97%, para gordura no extrato seco, umidade, cloreto, proteína, cinzas, gordura e acidez titulável, respectivamente, e somente o teor de proteína apresentou diferença significativa em relação aos períodos, sendo maior no período chuvoso. Observou-se que 94/120 (78,3%) amostras apresentaram material estranho no queijo, caracterizando situações de não conformidade. A avaliação microbiológica demonstrou ausência de *Listeria monocytogenes* e presença de *Salmonella* spp. em apenas uma amostra. O maior período de maturação, a redução da umidade dos queijos e o treinamento dos produtores influenciaram na diminuição das contagens de coliformes totais e *E. coli*. As contagens *Staphylococcus* coagulase positiva variaram durante o tempo de maturação e somente no 26º atingiu

o padrão exigido pela legislação. O perfil de susceptibilidade antimicrobiana nestas cepas demonstrou elevada resistência à penicilina G (62,34%), ampicilina (54,55%) e oxacilina (32,47%). Foram observadas inadequações em relação às boas práticas na produção do leite e fabricação dos queijos em todas as etapas de produção. Assim como, houve inconformidades na microbiologia do leite, soro-fermento, mãos dos manipuladores, utensílios, ambiente e potabilidade da água. Dessa forma, além da determinação de um período mínimo de maturação de 26 dias, vários outros critérios devem ser inseridos no sistema de produção, como a diminuição nos índices de umidade dos queijos, a implantação de boas práticas de produção do leite e fabricação, além de um rigoroso controle e fiscalização em todas as etapas de produção.

Palavras chave: Queijo Minas Artesanal. Maturação. Microbiologia. Características.

ABSTRACT

This study aimed to characterize the Minas Artesanal cheese produced in Uberlândia and check the minimum maturation period in which they reached the microbiological standards required by law. The physico-chemical characteristics (humidity, fat, fat in dry extract, acidity, sodium chloride, protein, ash and foreign material) and microbiological (total coliforms, *E. coli*, yeasts and molds, positive coagulase *Staphylococcus*, *Salmonella* spp were evaluated., and *Listeria monocytogenes*) of cheeses produced in rainy and dry season for up to 26 days of maturation, before and after the best practices training. In addition, to assess the hygienic-sanitary conditions in which the cheeses were produced was also performed analyzes of hands, equipment, water potability, *pingo* and milk. The strains identified as positive coagulase *Staphylococcus* were tested for antimicrobial susceptibility. We observed a large amount of foreign material in cheese as hairs, insect fragments and particles not identified, featuring none of the properties were in accordance with the standards of good manufacturing practices. The maturation period and % of cheeses humidity influenced ($p < 0.05$) to total coliform and *E. coli* reduces over time, whereas for positive coagulase *Staphylococcus* there was no significant influence. We defined that microbiological parameters required by law have been achieved on day 26 of maturation. *Listeria monocytogenes* was not found in all samples and only one sample analyzed on the first day of maturation was positive for *Salmonella* spp. The maturation influenced the increase of the average values of chloride, protein, acidity, ash and fat and decreased humidity ($p < 0.05$) in both cheeses produced in the dry and rainy seasons. All samples of water, *pingo*, milk and equipment presented counts for coliform and in hands were identified positive coagulase *Staphylococcus*. Among 77 strains isolated from coagulase positive cheeses, 48 (62.34%) were resistant to penicillin G and 42 (54.55%) to ampicillin, while for the other antibiotics tested, the resistance was lower, 1 (1.3%) to gentamicin, 25 (32.47%) for Oxacillin, 12 (15.58%) for Azithromycin, 6 (7.79%) for Clindamycin, 1 (1.3%) to Sulphazotrim and 14 (18.18%) to Erythromycin. Antimicrobial resistance to oxacillin and ampicillin was influenced by aging time ($p < 0.05$). The sizes of inhibition zones for the antibiotic oxacillin decreased throughout maturation, but increased when ampicillin was tested.

We conclude that 26 days are required for the maturation of cheeses meet the microbiological standards recommended by the legislation, but only this criterion is not sufficient to ensure safety in the consumption of food, requiring strict control and supervision in all production stages.

Keywords: Cheese Artisanal Mining. Maturation. Microbiology. Characteristics

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

	Página
Figura 1. Principais regiões produtoras de queijos artesanais, MG, Brasil	04
Figura 2. Fluxograma de produção do queijo Minas Artesanal	06
Figura 3. Sala de ordenha de uma propriedade produtora de queijo Minas artesanal, Uberlândia, MG, 2012.....	27
Figura 4. Correlação entre as porcentagens de cloreto de sódio e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia em período seco (A) e chuvoso (B)	39
Figura 5. Correlação entre as porcentagens de proteína e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia em período seco (A) e chuvoso (B)	39
Figura 6. Correlação entre as porcentagens de cinzas e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia em período seco (A) e chuvoso (B)	39
Figura 7. Correlação entre as porcentagens de gordura e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia em período seco (A) e chuvoso (B)	40
Figura 8: Correlação entre as porcentagens de umidade e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia em período seco (A) e chuvoso (B)	40
Figura 9. Correlação entre as porcentagens de acidez titulável e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia em período seco (A).	40

Figura 10. Presença de pelo em queijo artesanal produzido na região de Uberlândia, MG (produtor A, queijo com 10 dias de maturação)	43
Figura 11. Presença de fragmentos de insetos em queijo artesanal produzido na região de Uberlândia, MG (produtor B - queijo com 5 dias de maturação).....	44
Figura 12. Contagens médias de <i>E.coli</i> (Log UFC.g-1) ao longo dos dias de maturação, após treinamento em Boas Práticas (BP), Uberlândia-MG.....	56
Figura 13. Contagens médias de coliformes totais (Log UFC.g-1) ao longo dos dias de maturação, após treinamento em BP, Uberlândia-MG..	57
Figura 14. Contagens médias de <i>E.coli</i> (Log UFC.g-1) em queijos artesanais produzidos em Uberlândia-MG, antes e após atingir umidade menor que 45,9%.....	58
Figura 15. Contagens médias de coliformes totais (Log UFC.g-1) em queijos artesanais produzidos em Uberlândia-MG, antes e após atingir umidade menor que 45,9%.....	58
Figura 16: Contagens médias de (Log UFC.g-1) <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva ao longo da maturação em queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG, antes e após treinamento em BP	61
Figura 17. Correlação entre dias de maturação e tamanho do halo (mm) para o antimicrobiano oxacilina em teste de difusão com discos em <i>S. coagulase</i> positiva isolados de queijos artesanais, Uberlândia, MG.....	70
Tabela 1. Padrões microbiológicos para queijos artesanais produzidos no estado de Minas Gerais	12
Tabela 2. Principais etapas que devem ser controlados na cadeia de produção do queijo Minas artesanal.....	33

Tabela 3. Porcentagens médias dos resultados físico-químicos de queijos Minas artesanal produzidos em Uberlândia-MG, no período seco e chuvoso.	35
Tabela 4. Presença de materiais estranhos, macroscopicamente identificados, em amostras de queijos artesanais produzidos em duas propriedades de Uberlândia, MG (agosto a dezembro de 2012).	42
Tabela 5. Contagens médias de <i>E.coli</i> , coliformes totais e bactérias mesófilas em leite e água, antes e após o treinamento em Boas Práticas (BP), Uberlândia, MG, (julho a dezembro, (2012).....	46
Tabela 6. Contagens médias de <i>E.coli</i> , coliformes totais e bactérias lácticas em soro-fermento, antes e após o treinamento em Boas Práticas (BP), Uberlândia, MG (julho a dezembro, 2012).....	49
Tabela 7. Presença/ausência de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva e coliformes totais em mãos de manipuladores de queijos artesanais, antes e após treinamento em Boas Práticas (BP), Uberlândia, MG.....	50
Tabela 8. Contagens médias de bioindicadores em amostras ambientais colhidas em dois produtores de queijos artesanais, Uberlândia, MG.....	51
Tabela 9. Contagens médias de coliformes totais, <i>E. coli</i> e bolores e leveduras (Log UFC.g-1) ao longo da maturação, em queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG, antes e após treinamento de Boas Práticas (BP).....	55
Tabela 10. Contagens médias de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva ao longo da maturação em queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG, antes e após treinamento em Boas Práticas (BP).....	60
Tabela 11. Susceptibilidade aos antimicrobianos de <i>Staphylococcus coagulase</i> positiva isoladas de queijos	66

artesanais produzidos em Uberlândia, MG.....

Tabela 12. Distribuição das 77 cepas de *S. coagulase* positiva isoladas em queijos Minas artesanal, conforme 20 perfis de resistência..... 68

Tabela 13. Cepas de *S. coagulase* positiva resistentes à oxacilina que apresentaram resistência a outros antimicrobianos..... 69

LISTA DE SIGLAS

ABIQ – Associação Brasileira das Indústrias de Queijo

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC – Association Of Analytical Communities

aW – Atividade de Água

BAL – Bactérias láticas

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute

FAO – Food and Agriculture Organization

FDA – Food and Drug Administration

FUNED – Fundação Ezequiel Dias

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

ICMSF – International Commission on Microbiological Specifications for Foods

IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária

IPHAN - Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MRSA – Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MSSA – *Staphylococcus aureus* sensíveis a meticilina

NMP – Número Mais Provável

PBP – Poteína Fixadora de Penicilina

PPHO – Procedimentos Padrões de Higiene Operacional

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

SCA - Specialist Cheesemakers Association

SCP – *Staphylococcus coagulase* positiva

UFC – Unidade Formadora de Colônia

WHO – World Health Organization

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	01
1.1 Objetivos	02
1.1.1 Geral	02
1.1.2 Específicos	03
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	03
2.1 Processo de fabricação do queijo	05
2.2 O processo de maturação dos queijos	07
2.3 Boas práticas de fabricação (BPF)	08
2.4 Material estranho em queijos	10
2.5 Microrganismos deteriorantes e patogênicos em queijos	11
2.5.1 Coliformes 30°C e Coliformes 45°C	12
2.5.2 <i>Staphylococos coagulase positiva</i>	13
2.5.3 <i>Salmonella</i> sp	15
2.5.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	16
2.6 Controle de microrganismos patogênicos em queijos	16
3 MATERIAL E MÉTODOS	19
3.1 Local	19
3.2 Desenho do estudo	19
3.2.1 Primeira etapa	19
3.2.2 Segunda etapa	20
3.2.3 Terceira etapa	21
3.3 Análises	22
3.3.1 Preparo das amostras	22
3.3.2 Análises físico-químicas	22
3.3.2.1 Pesquisa de material estranho	23
3.3.3 Análises microbiológicas	23
3.3.3.1 Antibiograma	24
3.4 Análise dos resultados	25

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
4.1 Caracterização dos produtores e da fabricação de queijos Minas artesanal no município de Uberlândia-MG.....	25
4.2. Boas Práticas de Fabricação	31
4.3 Avaliação físico-química dos queijos	35
4.3.1 Presença de material estranho no queijo Minas artesanal	42
4.4 Avaliação microbiológica	45
4.4.1 Água, soro-fermento (pingo), leite, equipamentos e mãos	45
4.4.2 Avaliação microbiológica dos queijos	52
4.5 Sensibilidade do <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva aos antimicrobianos	65
5.0 CONCLUSÕES	72
REFERÊNCIAS.....	74
ANEXO I	86
ANEXO II	92

1. INTRODUÇÃO

O estado de Minas Gerais é reconhecidamente o mais tradicional produtor de queijos do Brasil. Dentre as variedades produzidas, o queijo artesanal merece destaque por ser um produto secular (KRONE, 2009). O queijo minas recebeu reconhecimento como patrimônio cultural imaterial do Brasil pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional – IPHAN (MENESES, 2006).

A Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural - EMATER identificou cinco microrregiões tradicionais de produção de queijos artesanais em Minas Gerais: Araxá, Cerrado, Serra da Canastra, Serro e Campos das Vertentes. Nestas regiões, existem aproximadamente 9.015 produtores de queijo, com uma produção anual de 26.000 toneladas. Dados mostram a geração de 26.500 empregos diretos no setor, acusando sua importância social e econômica. Também é expressiva a área de abrangência destas regiões, que ocupa 55.527 km² em 46 municípios (ALMEIDA e SOARES, 2008). Dessa forma, a produção artesanal de queijos desempenha um importante papel social, econômico e cultural para o estado de Minas Gerais e para o Brasil. No início de 2014 foi reconhecida pelo IMA a sexta microrregião do queijo Minas artesanal, o Triângulo Mineiro cuja Uberlândia faz parte, através da Portaria nº 1397, de 13 de fevereiro de 2014 (MINAS GERAIS, 2014).

Devido ao alto consumo, a qualidade do queijo artesanal produzido em todo o país vem sendo alvo de constante monitoramento por parte dos órgãos de inspeção. Estes queijos tradicionais variam em suas características, principalmente por serem produzidos com leite não pasteurizado, em locais variados e com diferentes tipos de processos. Sendo assim, é comum que eles não estejam adequados aos parâmetros de qualidade estabelecidos pela legislação vigente (ARAÚJO, 2004). Por ser um queijo feito com leite cru, deve haver um especial cuidado em todas as etapas da cadeia de produção, desde a sanidade do rebanho até a embalagem e exposição à venda do produto final. Os cuidados higiênico-sanitários irão garantir que não haja contaminação que possa levar riscos à saúde dos consumidores (MINAS GERAIS, 2012). Estudos de certificação de cada uma das unidades produtivas devem ser realizados para garantir sua qualidade.

Em dezembro de 2011 o MAPA - Ministério da Agricultura Pecuária e

Abastecimento publicou a Instrução Normativa nº57 sobre o queijo artesanal, permitindo que sua maturação ocorra em um período inferior a 60 dias, desde que estudos comprovem que este novo período não comprometa a qualidade do produto (BRASIL, 2011). Ainda neste ano, o Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) publicou a lei nº19.492 que amplia a produção do queijo minas artesanal para todo o estado de Minas Gerais (MINAS GERAIS, 2011). Em abril de 2013, o IMA criou a Portaria nº 1305 que estabelece as diretrizes para a produção do queijo minas artesanal.

Conhecer os efeitos da maturação sobre as características físico-químicas e microbiológicas dos queijos Minas artesanais desperta o interesse de todos aqueles envolvidos em sua cadeia de produção e que objetivam a melhoria da sua qualidade (MARTINS, 2006). A maturação dos queijos é utilizada como uma ferramenta para realçar as características sensoriais, além de possuir papel importante para garantir a segurança alimentar (SANTOS, 2010). O queijo artesanal deve atender aos padrões microbiológicos que garantem sua qualidade.

A maioria dos estudos que avaliam a qualidade microbiológica do queijo minas artesanal em relação ao período de maturação foi realizado em locais tradicionais na produção desse queijo, como a região do Serro e da Canastra. (ARAÚJO, 2004; DORES, 2007; BRANT *et al.*, 2007; REZENDE, 2010). Desta forma, é necessária a realização de estudos nas outras regiões também produtoras, porém menos tradicionais, para que seja possível oferecer aos consumidores queijos que não tragam perigos à sua saúde. Estes estudos devem dar origem à certificação de propriedades produtoras.

1.1 Objetivos

1.1.1 Geral

Caracterizar a forma e as características de produção do queijo minas artesanal produzido em Uberlândia-MG e verificar o período mínimo de maturação para que o mesmo atinja os padrões microbiológicos exigidos pela legislação vigente.

1.1.2 Específicos

2. Descrever as características físico-químicas dos queijos durante diferentes períodos de maturação.
3. Verificar a presença de materiais estranhos nas amostras.
4. Avaliar as condições higiênico-sanitárias da fabricação dos queijos.
5. Avaliar a influência das boas práticas de fabricação na redução da contaminação microbiana.
6. Verificar a influência do período de maturação nas contagens de bioindicadores e presença de patógenos.
7. Verificar em *Staphylococcus* coagulase positiva, previamente isolados dos queijos, a resistência aos antimicrobianos.
8. Fornecer bases científicas para o estabelecimento de critérios para a certificação de propriedades e posterior legislação municipal.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Em Minas Gerais, devido aos perigos à saúde do consumidor, a comercialização do queijo artesanal chegou a ser interditada pelo Ministério Público em 2001. Entretanto, essa decisão foi temporariamente revogada, como resultado da mobilização dos produtores e do apoio de diversas entidades públicas e privadas. Como resultado desse movimento foi elaborada, aprovada e regulamentada, no decorrer do ano de 2002, legislação estadual específica para o queijo fabricado na fazenda utilizando leite cru, que passou a contradizer a lei federal vigente, por não exigir a passagem obrigatória do produto por entreposto inspecionado e ser submetido a maturação por no mínimo 60 dias (BORELLI, 2006).

As legislações referentes à produção de queijo fabricado com leite cru são atualmente, a Lei Estadual nº 20.549, de 18 de dezembro de 2012, que dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais; Lei Estadual nº 14.185 de 2002, e sua alteração pelo Decreto nº 44.864 de 2008 e pela Lei nº 19.492, que dispõe sobre o processo de produção de queijo minas artesanal.

Decreto nº42.645, de 5 de junho de 2002 (IMA); e Portaria nº 523, de 3 de julho de 2002 (IMA), que dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias, boas práticas na manipulação e fabricação do queijo Minas artesanal e a Portaria nº1.305 de 4 de abril de 2013 (IMA) e estabeleceu as diretrizes para produzir o queijo minas artesanal. Em nível nacional, a Instrução Normativa nº 57 regulamenta desde 15 de dezembro de 2011 a produção do queijo feito com leite cru.

Os estudos realizados em Minas Gerais para verificar a qualidade de queijos Minas artesanais são realizados regionalmente. Esta regionalização das avaliações é importante, já que as formas de produção, qualidade do leite e microclima influenciam diretamente nas características físico-químicas e microbiológicas dos queijos (BRANT *et al.*, 2007). Assim, é sempre necessário caracterizar a região de produção quando se pretende realizar estudos de certificação em alimentos produzidos artesanalmente.

Quatro regiões mineiras: Serro, Alto Paranaíba, Serra da Canastra e Araxá (Figura 1), são consideradas tradicionais e as principais produtoras mineiras, produzindo anualmente 33.570 toneladas de queijo em 46 municípios e gerando 26.870 empregos diretos (ABIQ, 2006).



Figura 1: Principais regiões produtoras de queijos artesanais, MG, Brasil.

Fonte: <http://queijomineiroartesanal.blogspot.com.br/>

Uberlândia é um município com a segunda maior população do estado de Minas Gerais e o maior do Triângulo Mineiro, com população estimada em 611,903 mil habitantes em 2011 (IBGE, 2011). A cidade de Uberlândia, MG, se encontra na latitude de 18° 55' 25"S, longitude de 48° 17' 19"W. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Aw, isto é, tropical quente úmido com inverno frio e seco. O total médio de chuva no mês mais seco fica em torno de 60mm e no mês mais chuvoso em torno de 250 mm, com média anual total entre 1500 a 1600mm. Os meses de verão (dezembro a fevereiro) são responsáveis por aproximadamente 50% da precipitação anual na cidade. A temperatura média mensal nos meses de inverno atinge 18°C enquanto nos meses mais quentes a média fica em torno de 23°C, com média das máximas por volta de 28 a 29°C (SILVA *et al.*, 2003).

Um estudo realizado por Komatsu *et al.* (2010) demonstrou que 22,48% dos queijos comercializados em Uberlândia eram produzidos no município, entretanto todos eram carentes de infraestrutura. Diante desta realidade a Prefeitura Municipal de Uberlândia se preocupando com a qualidade dos queijos da cidade, publicou a Lei nº 10.800, de 13 de junho 2011, que regulamenta a produção do queijo artesanal (UBERLÂNDIA, 2011).

2.1 Processo de fabricação do queijo

É considerado queijo Minas Artesanal, o queijo que apresenta consistência firme, cor e sabor próprios, massa uniforme, isenta de corantes e conservantes, com ou sem olhaduras mecânicas, confeccionado a partir do leite integral de vaca fresco e cru, retirado e beneficiado na propriedade de origem (MINAS GERAIS, 2011).

Apesar de algumas alterações já ocorridas em algumas unidades produtoras, como a utilização de ordenhadeira mecânica e a modernização das instalações físicas, a fabricação do queijo minas artesanal ainda é realizada da mesma forma que no passado, mantendo uma tradição secular, passada de geração a geração (MARTINS, 2006).

Uma das características marcantes desse queijo é o emprego na sua fabricação de um fermento natural, usado pelos queijeiros, denominado “pingo”. Esse fermento é resultante da dessoragem dos queijos já salgados e coletado de um

dia para o outro. O “pingo” é, portanto, um soro fermentado com certa quantidade de sal, que age como inibidor de algumas fermentações indesejáveis e confere ao queijo características típicas de sua variedade (MARTINS, 2006).

De acordo com a Lei Estadual 20.549 de 2012, o processo de fabricação do queijo artesanal deve ser realizado de acordo com o fluxograma apresentado na Figura 2.

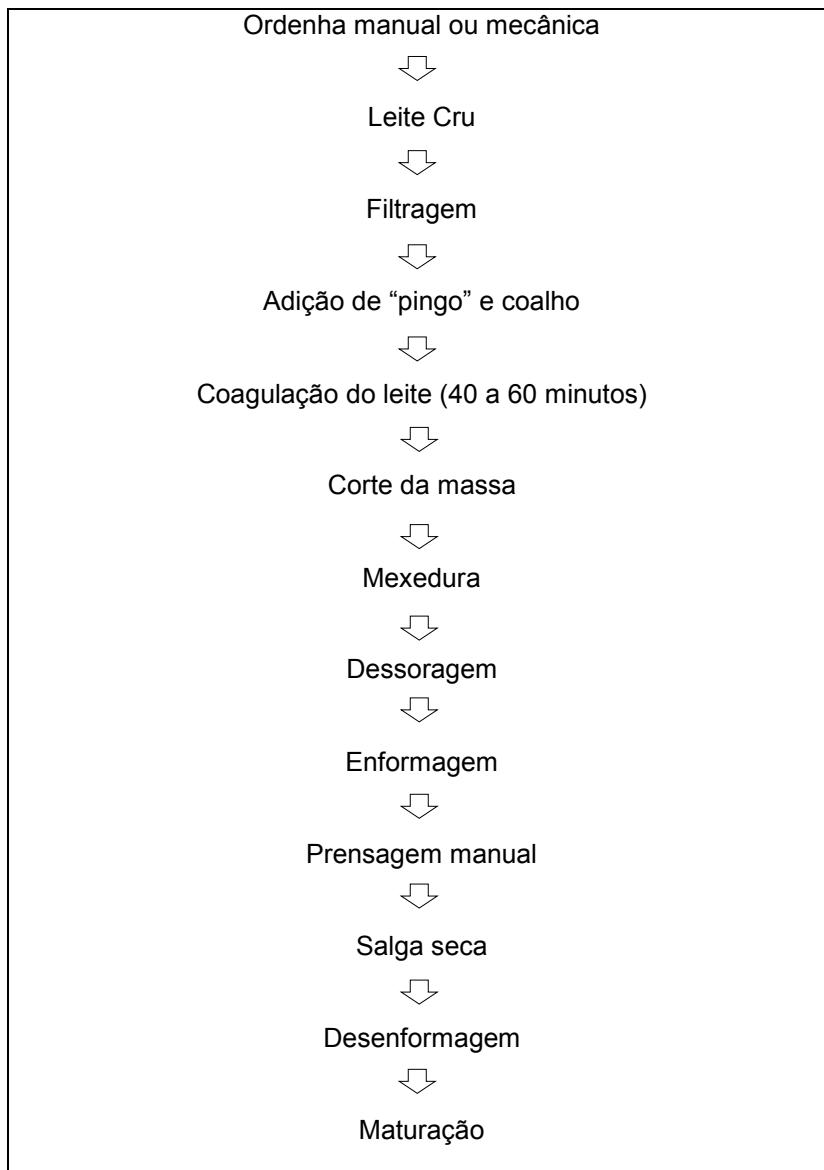


Figura 2: Fluxograma de produção do queijo Minas Artesanal.

Fonte: compilado da Lei Estadual 20.549 de 2012 (MINAS GERAIS, 2012)

2.2 O processo de maturação dos queijos

De acordo com o Decreto Estadual nº 42.645, de 5 de junho de 2002 a maturação objetiva o desenvolvimento do sabor, a desidratação e a estabilização dos queijos até atingir a consistência desejada. Esta fase possui duração específica para cada micro região (MINAS GERAIS, 2002).

A maturação do queijo é um processo complexo envolvendo a formação de variedades de componentes de aroma e sabor por diferentes vias (VIOTTO *et al.*, 1998). Os componentes resultantes do processo de maturação compreendem ácidos graxos, metilcetonas, lactonas, ésteres de lipídeos, ácidos orgânicos, dióxido de carbono, ésteres e álcoois de lactose caracterizando o sabor, cor, aroma e textura do queijo (FOX, 1993).

A lipólise é uma série de reações químicas que ocorrem pela atuação das lipases na gordura através da hidrólise de ligação éster, liberando ácidos graxos e convertendo o triacilglicerol em di e monoglicerídeos, sucessivamente, até a completa separação em glicerol e ácidos graxos livres (KARDEL, 1995). Os principais produtos gerados de suas reações são os ácidos graxos voláteis de cadeia curta incluindo o butírico, caprônico, caprílico e cáprico (ROBINSON, 1987).

Dependendo da estrutura, os ácidos graxos livres (saturados ou insaturados, cadeia curta ou longa) são convertidos em outros componentes através de reações diversas (oxidação, descarboxilação, saponificação) como aldeídos, cetonas, peróxidos, entre outros, que vão conferir sabor e aroma típicos de queijos maturados (KARDEL, 1995).

A modificação bioquímica mais complexa da maturação, e provavelmente a mais importante, é a proteólise, que é resultante da ação de agentes proteolíticos provenientes de diversas fontes. Esta atividade é influenciada pelo sistema de proteinases e peptidases do coagulante residual, das enzimas endógenas do leite, das bactérias do fermento láctico e culturas lácticas secundárias, além da razão sal/umidade, temperatura de maturação e modificações do pH durante a maturação (SOUSA, ARDO e McSWEENEY, 2001). Os produtos deste evento bioquímico são peptídeos, cetonas e aminoácidos livres, que irão garantir o sabor, aroma e textura característicos dos queijos (GUTIERREZ, 2004; SIHUFE *et al.*, 2005).

O aumento da temperatura do ambiente está associado com o aumento da velocidade de maturação, ao passo que a umidade relativa do ar controla a secagem do queijo e seleciona a microbiota da superfície da massa (EARLY, 1998). Quanto maior a umidade do queijo, mais rápida será a sua maturação, porém, menor será a sua estabilidade (FOX e McSWEENEY, 1998).

Dores (2007) estudou o efeito da temperatura na maturação e verificou que este processo sofre aceleração quando é realizada em temperatura ambiente em comparação com o uso de refrigeração. Observou que a temperatura ambiente alterou as variáveis físico-químicas tendo um papel importante na modulação da microbiota dos queijos que atingiram os padrões mínimos exigidos pela legislação mais rapidamente. Martins (2006) verificou em um estudo semelhante, a influência da temperatura ao longo da maturação e observou que queijos maturados em temperatura ambiente apresentaram redução no peso, altura, diâmetro, umidade, atividade de água e aumento de gordura, pH, nitrogênio total, proteína total, cloreto de sódio, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 12%. Já em queijos maturados sob refrigeração, os parâmetros físico-químicos mantiveram-se constantes, com exceção de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 12%, cujos valores médios aumentaram durante a maturação.

Pesquisas têm demonstrado que a maturação do queijo minas artesanal foi decisiva para reduzir as contagens de coliformes totais, *E. coli* e *S. aureus*. (MARTINS, 2006; DORES, 2007). No entanto, avaliações microbiológicas de queijos coletados durante a comercialização têm apresentado contaminações acima dos padrões. Cruz e colaboradores (2008) verificaram que 25/72 (34,72%) queijos coletados no comércio de Montes Claros-MG estavam contaminados por coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva, sendo que em 9 (12,5%) e 49 (68%), as contagens estavam acima das permitidas para coliformes termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva, respectivamente.

2.3 Boas práticas de fabricação (BPF)

West (2008) realizou um estudo sobre a história do queijo feito com leite cru no mundo e verificou que ele foi proibido primeiramente nos Estados Unidos pela

Food and Drug Administration – FDA. A proibição ocorreu após esta agência relacionar surtos de toxinfecções com o consumo desses alimentos, e posteriormente, a União Europeia fez o mesmo.

Após tal fato, para liberar a produção de queijo com leite cru na Europa a *Specialist Cheesemakers Association* (Reino Unido), baseado em evidências científicas, desenvolveu e publicou um Código de Boas Práticas (SCA, 2004) para instruir seus membros em como produzir um queijo com leite cru de forma segura. Este código determina que “o leite deve ser de primeira qualidade”, se possível a partir de seu próprio rebanho, ou pelo menos de um único rebanho, de animais alimentados com capim, tanto quanto possível, tratados com antimicrobianos apenas quando necessário, e que animais doentes fossem estritamente removidos da sala de ordenha”. O monitoramento da qualidade do leite seria realizado pelas contagens bacterianas e de células somáticas, e a elaboração do queijo dentro do menor tempo possível após a ordenha. Também recomenda o uso de boas práticas de higiene pessoal e acompanhamento constante das temperaturas e dos níveis de acidez durante a fabricação. Quanto ao ambiente de maturação do queijo, a recomendação é que fosse mantido limpo, e ainda, que medidas sanitárias periódicas fossem implantadas ao final da maturação para detectar problemas emergentes, com registro do lote. Por meio destas propostas, os queijeiros artesanais têm afirmado que eles compreendem, cientificamente, os meios pelos quais seus produtos podem ser produzidos de forma higiênica e que são capazes de monitoramento de suas próprias práticas produtivas, com o mínimo supervisão do governo, para garantir a segurança do consumidor (WEST, 2008).

De forma geral as BPFs abordam os procedimentos realizados quanto à higienização das instalações, equipamentos e utensílios; controle de pragas e vetores; segurança da água; saúde e hábitos higiênicos dos colaboradores; descrição das tecnologias empregadas na fabricação; prevenção da contaminação cruzada; definição de responsabilidades e periodicidade; análises e padrões utilizados na seleção e no controle de qualidade de matérias-primas, ingredientes e produtos acabados; procedimentos de *recall* e de atendimento ao consumidor, dentre outros (TEODORO *et al.*, 2007). A não aplicação de tais práticas expõe o leite e aos seus derivados a diferentes oportunidades de contaminação, compromete a

qualidade do produto final e pode causar danos para a saúde do consumidor.

Na produção do queijo Minas artesanal, as BPFs são abordadas em três portarias do Instituto Mineiro de Agropecuária: Portaria nº 517, de 14 de junho de 2002 (estabelece normas de defesa sanitária para rebanhos fornecedores de leite para a produção de queijo minas artesanal); Portaria nº 518, de 14 de junho de 2002 (dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do queijo minas artesanal); e Portaria nº 523, de 23 de julho de 2002 (estabelece normas sobre as condições higiênico-sanitárias e as boas práticas de manipulação e fabricação).

Dentro das boas práticas são recomendados também os procedimentos padrões de higiene operacionais (PPHO), que são procedimentos estabelecidos para cada um dos itens das boas práticas de fabricação, considerados de importância crítica no aspecto higiênico. Os PPHO devem abranger: 1) segurança da água; 2) condições e higiene das superfícies de contato com o alimento; 3) prevenção contra a contaminação cruzada; 4) higiene dos empregados; 5) proteção contra contaminantes e adulterantes do alimento; 6) identificação e estocagem adequadas de substâncias químicas e de agentes tóxicos; 7) saúde dos empregados; 8) controle integrado de pragas; e 9) registros (BRASIL 2003).

2.4 Material estranho em queijos

Qualquer material presente no queijo que não seja pertinente ao produto é considerado estranho, portanto é um indicativo de condições de fabricação inadequadas (A.O.A.C, 1984). Os contaminantes mais comuns em queijos artesanais são fezes, pelo humano e animal, material terroso e fragmentos de insetos , que ocorrem ainda durante a fase de ordenha, principalmente quando esta é manual (BORSARI, 2001). Estudos realizados por Pimentel Filho *et al.* (2005), na região do Alto Paranaíba, identificaram material estranho em todas as amostras de queijos minas artesanais analisadas, destacando-se a presença de pelos humanos e de animais, fragmentos de insetos e areia.

A Resolução RDC 175 (08 de julho de 2003) do Ministério da Saúde, estabelece que a presença de fragmentos microscópicos e materiais macroscópicos

em alimentos são prejudiciais para a saúde humana, determinando risco ao consumidor. Dentre eles, pelos de roedores são reconhecidos como transportadores mecânicos de agentes infecciosos, e representam risco adicional para a saúde humana (BRASIL, 2003; SOUZA, 2008).

Martins (2006), Pimentel Filho (2005) e Dores (2007) realizaram pesquisas de materiais estranhos em queijo minas artesanal do Serro e encontraram mais sujidades no período de seca do que na época das águas. Poeira, areia e ardósia foram muito frequentes e pelos de animais e do homem foram encontrados em todas as amostras. Outros trabalhos realizados em vários tipos de queijos demonstraram presença de corpos estranhos em praticamente 100% dos produtos (MAIA e BONFANTE, 2011; LUCAS *et al.*, 2012).

2.5 Microrganismos deteriorantes e patogênicos em queijos

Os derivados de leite, e principalmente os queijos, são alimentos altamente nutritivos, ideais para o crescimento de microrganismos patogênicos e deteriorantes. *Salmonella*, *Bacillus cereus*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* são alguns exemplos de microrganismos patogênicos associados a surtos de toxi-infecções alimentares, em que o leite e seus derivados foram envolvidos (HAJDENWURCEL, 2002). Esta condição é particularmente importante em queijos fabricados com leite cru. No estado de Minnesota, estado americano que permite a comercialização de leite cru, entre os anos de 2001-2010, vários surtos alimentares foram associados ao consumo deste alimento. Os microrganismos mais incriminados foram: *Campylobacter* spp., *Cryptosporidium* spp., *E. coli* O157, *E. coli* não produtora de *Shiga* toxinas e *Salmonella* spp. (ROBINSON *et al.*, 2014). Estes microrganismos são geralmente transferidos para a massa do queijo.

Vários estudos sobre a qualidade microbiológica dos queijos artesanais demonstraram que os mesmos encontravam-se fora dos parâmetros microbiológicos exigidos pela legislação (ARAÚJO, 2004; GUEDES NETO, 2004; MARTINS, 2006; DORES, 2007). O Decreto nº44.864 de 2008 (tabela 1) determina os padrões microbiológicos para queijos artesanais no estado de Minas Gerais (MINAS

GERAIS, 2008).

Tabela 1: Padrões microbiológicos para queijos artesanais produzidos no estado de Minas Gerais.

Microrganismos	Padrões ¹			
Coliformes 30°C	n=5	c= 2	m= 1.000	M=5.000
Coliformes 45°C	n=5	c= 2	m=100	M=500
S.coagulase positiva	n=5	c= 2	m100	M=1.000
<i>Listeria</i> sp.	n=5	c=0	m=0	
<i>Salmonella</i> sp.	n=5	c=0	m=0	

¹ Decreto nº 44.864, de 01/08/2008; MINAS GERAIS (2008)

n = número de unidades retiradas da amostra; c = número máximo de resultados positivos permitidos; m = separa as contagens satisfatórias das contagens aceitáveis; M = indica o limite entre as contagens aceitáveis e as contagens não satisfatórias.

2.5.1 Coliformes a 30°C e Coliformes a 45°C

Os coliformes podem causar defeitos em queijos levando à deterioração como o estufamento precoce, alteração do formato e do sabor. Além disto, existem cepas patogênicas de *Escherichia coli* e a presença destes microrganismos indica o risco de existir outros patógenos Gram negativos, como *Salmonella* spp. e *Shigella* spp (GUEDES NETO, 2004).

A presença de coliformes em alimentos pode indicar processamento inadequado e/ou recontaminação pós-processamento, sendo as causas mais frequentes de sua presença, aquelas provenientes da matéria-prima contaminada, equipamento mal higienizado ou manipulação inadequada (ARAÚJO, 2004).

Muitas estirpes de *Escherichia coli* são comprovadamente patogênicas para o homem e os animais, podendo causar gastroenterites agudas, principalmente em crianças (DORES, 2007). A sua presença em alimentos indica contaminação de origem fecal e possível presença de enteropatógenos (FRANCO e LANDGRAF, 2008).

2.5.2. *Staphylococos coagulase positiva*

Staphylococos coagulase positiva é resistente a condições adversas, como a baixa atividade de água (aW), alto teor de sal e estresse osmótico. Em resposta à baixa aW, vários compostos se acumulam nas suas células, o que reduz a aW intracelular para coincidir com o aW externo (MONTVILLE e MATTHEWS 2008). A maioria das cepas de *S. aureus* pode crescer em uma faixa de aW de 0,83 a >0,99 (FDA, 2012). *S. aureus* é um fraco competidor, mas a sua capacidade de crescer sob estresse osmótico e ampla faixa de pH resulta na sua presença e multiplicação em uma ampla variedade de alimentos, incluindo carnes defumadas que não favorecem o crescimento de outros agentes patogênicos de origem alimentar (MONTVILLE E MATTHEWS, 2008).

Algumas linhagens de *S. aureus* presentes em alimentos são capazes de produzir enterotoxinas que causam toxinfecção alimentar. A intoxicação pelo consumo de alimentos é de ocorrência mundial e permanece como a principal causa de intoxicação alimentar em países onde existem dados estatísticos confiáveis (WILLIAMS e WITHERS, 2010). Estafilococos coagulase positiva e suas toxinas são as principais ameaças para a segurança alimentar do queijo artesanal (ORNELAS, 2005).

As toxinas estafilocócicas são produzidas no alimento quando o microrganismo está presentes em altos números e sob condições adequadas de temperatura, pH, atividade de água e oxigênio (BORGES *et al.*, 2008). Segundo a International Commission on Microbiological Specifications for Foods - ICMSF - (1996), para a formação de enterotoxinas em quantidade suficiente para provocar intoxicação, são necessárias 10^5 a 10^6 UFC.g⁻¹ de alimento. Os parâmetros considerados ótimos para o crescimento e produção de enterotoxinas em queijos são: temperatura de 35° a 40°C, pH de 6,0 a 7,0, atividade de água >0,98, concentração de sal (NaCl) de 0 a 0,5% e disponibilidade de oxigênio de 5 a 20% (ICMSF, 1996; STEWART, 2003).

A presença de *Staphylococcus* spp nos alimentos é encarada como um indicador de deficiências de caráter higiênico no processo de obtenção do alimento e particularmente nas operações de manipulação (BORGES *et al.*, 2008). Somente a

presença de *Staphylococcus aureus* nos queijos não implica necessariamente na ocorrência de intoxicações. Porém, o risco existe principalmente quando se considera que esse microrganismo é o mais envolvido na mastite bovina, que o leite é um excelente meio para o seu desenvolvimento e que pequenas concentrações de toxinas são suficientes para causar doença em seres humanos, principalmente em crianças e idosos (BORGES et al., 2008; CONTRERAS e RODRÍGUEZ, 2011).

De acordo com VERAS, et al. (2003), análises realizadas pela Fundação Ezequiel Dias (FUNED), no período de 1997 a 2002, em queijos artesanais sem origem determinada, comercializados nas cidades de Manhuaçu, Itaúna, Uberlândia e Belo Horizonte demonstraram a presença de enterotoxina estafilocócica.

Sintomas de intoxicação alimentar estafilocócica geralmente têm um início rápido, aparecendo em torno de três horas após a ingestão (intervalo de 1 a 6 horas). Os sintomas mais comuns incluem: náuseas, vômitos, cólicas abdominais e diarreia, mas os indivíduos podem não demonstrar todos os sintomas. Em casos graves há relato de cefaleia, dores musculares, podendo ocorrer alterações na pressão arterial e pulsação. A recuperação é geralmente entre 1 a 3 dias (STEWART 2003; FDA 2012). Fatalidades são raras (0,03% para o público em geral), mas são ocasionalmente relatados em crianças pequenas e idosos (taxa de mortalidade de 4,4%) (MONTVILLE e MATTHEWS 2008).

S. aures é o agente mais prevalente em mastite de vacas leiteiras, tanto de infecções clínicas como subclínicas (FERREIRA et al., 2006). Esse microrganismo se destaca pela capacidade de ser ou se tornar resistente a um grande número de antimicrobianos (FREITAS et al., 2005). Ferrera et al. (2006) associou o agravamento da resistência bacteriana ao uso frequente e indiscriminado de antimicrobianos e, aos mecanismos de transferência de resistência entre microrganismos.

Os antimicrobianos são amplamente utilizados na produção animal como medida terapêutica no tratamento de infecções, como medida subterapêutica na prevenção de doenças e como promotores do crescimento. Uma concentração de antimicrobianos insuficiente para eliminar todas as bactérias patogênicas do organismo, podem levar esses microrganismos a se adaptar levando ao aparecimento de linhagens de bacterianas resistentes (KUTSZEPA et al., 2009).

Freitas *et al.* (2005) verificaram em 59 espécimes de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de leite, que 100% eram sensíveis a vancomicina e 96% a norfloxacina. Entretanto, algumas cepas apresentaram múltipla resistência para seis a nove antimicrobianos simultaneamente, permitindo concluir que o percentual de multirresistência era preocupante.

A resistência aos β-lactâmicos pode ser mediada por PBP2a, uma proteína fixadora de penicilina (PBP), que tem baixa afinidade por esta classe de antimicrobianos. A PBP2a é codificada pelo gene *mecA* que se situa em um *Staphylococcal Chromosomal Cassette mec* (SCCmec), o qual confere a resistência à meticilina/oxacilina e cujos genes são transferíveis entre espécies de estafilococos (DEURENBERG e STOBBERINGH, 2008).

A resistência das bactérias presentes nos alimentos aos antimicrobianos pode representar um risco para a saúde pública, já que por meio do consumo de produtos de origem animal, como o leite, ou por meio das eliminações vesicais e intestinais, partes das bactérias resistentes acabam se disseminando e também aos seus genes de resistência (KUTSZEPA *et al.*, 2009). Estudos que compararam o padrão genotípico e de suscetibilidade a drogas antimicrobianas para o gênero *Staphylococcus* concluíram que há um alto grau de similaridade genética entre cepas de origem humana e animal (FONTANA, 2002; FERREIRA *et al.*, 2006).

2.5.3. *Salmonella* sp

São bacilos gram-negativos, não esporulados, aeróbios facultativos, catalase positiva, oxidase negativa, em geral são móveis com flagelos peritríquios. O pH ótimo de crescimento está próximo da neutralidade, mas crescem a pH entre 4 e 9. A temperatura de crescimento está entre 7°C e 47°C, sendo a ótima entre 35°C e 37°C e Aw mínima para crescimento de 0,94 (JAY, 2005).

Geralmente os sintomas da salmonelose humana são caracterizados por diarreia, febre, dores abdominais e vômitos, aparecendo após 12 a 36 horas depois do contato com o microrganismo, que permanece entre um a quatro dias (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Entre os alimentos que mais apresentam risco encontram-se os ovos, carnes de aves, produtos cárneos processados e produtos lácteos

(MENDONÇA *et al.*, 2003).

A presença de *Salmonella* sp., em queijo Minas artesanal, foi observada por Araújo (2004) em 7/37 queijos e por Martins (2006) em 1/8. No entanto Pinto (2004), Ornelas (2005) e Dores (2007) não detectaram a *Salmonella* sp. nas amostras analisadas.

2.5.4 *Listeria monocytogenes*

O gênero *Listeria* é amplamente distribuído na natureza e possui como principais reservatórios o solo, fezes humanas ou de outros animais e silagem. Uma importante característica desta espécie é a capacidade de adaptação ambiental, podendo multiplicar-se em temperaturas de refrigeração, entre 2°C a 4°C e sobreviver por mais de 100 dias a 4°C. São capazes de se multiplicar em intervalos de temperatura entre 2,5°C e 44°C, em concentrações entre 10,5% a 30,5% de NaCl (JAY, 2005). A única espécie patogênica é a *Listeria monocytogenes*, sendo os alimentos as principais fontes de infecção para o homem.

De acordo com Pintado *et al.* (2005), o uso de leite cru na fabricação de queijos é de particular interesse na saúde pública, devido ao perigo da presença de *Listeria monocytogenes*, bem como de outras bactérias patogênicas.

Poucos estudos abordando *L. monocytogenes* foram realizados em queijos artesanais fabricados no Brasil e não há registro sobre surto de listeriose relacionado ao consumo de alimentos no Brasil. Investigações em queijos Minas artesanais não detectaram *Listeria* sp. em nenhuma das amostras (MARTINS, 2006; PINTO, 2004; ARAÚJO, 2004 e DORES, 2007). Entretanto, Ornelas (2005) verificou a presença de *Listeria* spp. em uma das 40 amostras (2,5%) de queijos artesanais produzidos na Serra da Canastra, porém não confirmou se era *L. monocytogenes*.

2.6 Controle de microrganismos patogênicos em queijos

Os queijos são, em geral, produtos muito manipulados e, por este motivo, passíveis de contaminação, especialmente de origem microbiológica. Estas condições podem ser agravadas, quando processados com leite cru, sem o emprego

das Boas Práticas e tecnologia adequada, ou sem se observar o tempo mínimo de maturação (PINTO *et al.*, 2009)

Para assegurar a qualidade do queijo Minas artesanal são necessárias ações e monitoramento nas diversas fases envolvidas em sua produção, incluindo a obtenção higiênica do leite, o processamento do queijo, seu armazenamento na propriedade rural, transporte e comércio (PIMENTEL FILHO *et al.*, 2005).

Outra forma de proporcionar a qualidade microbiológica de um queijo, mesmo havendo uma contagem inicial de microrganismos elevada, é a maturação. Durante a maturação, além do desenvolvimento das características sensoriais, também auxilia para que os padrões microbiológicos estabelecidos pela legislação vigente sejam atingidos, uma vez que as alterações que ocorrem nesse processo promovem uma redução significativa para alguns microrganismos patogênicos (SANTOS, 2010).

A maturação do queijo em temperatura ambiente também influência diretamente na redução de umidade, que é um fator determinante no crescimento bacteriano, isto porque, quanto menor a umidade, mais concentrados estarão os seus constituintes, resultando entre outros fatores, na diminuição da atividade de água (aW) (DORES, 2007). A atividade de água (Aw) na matriz alimentar influencia de forma direta no crescimento microbiano (JAY, 2005).

Também as enzimas lactoferrina, lactoperoxidase, α -lactalbumina e as imunoglobulinas, que podem ser produzidas ou liberadas durante a maturação, possuem ação antimicrobiana (SGARBIERI, 2004). Somam-se a estas, a influência das bactérias lácticas frente aos microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. (RODRIGUEZ, *et al.*, 2005; MACEDO *et al.*, 2004, SANTOS, 2010). Durante a maturação, as bactérias lácticas competem com deteriorantes e patógenos por nutrientes, diminuindo os seus números por exclusão competitiva. Além disso, alguns grupos de bactérias lácticas produzem metabólitos tóxicos específicos para alguns patógenos ou possuem como produto de sua fermentação, substâncias como o ácido lático, que também inibe vários patógenos e deteriorantes (PINTO *et al.*, 2004).

Outra bactéria patogênica que pode estar presente no queijo é a *Brucella*

abortus, cuja quantidade se reduz gradualmente durante a maturação, mas até que o produto se torne seguro podem ser necessários alguns meses de cura (FAO/WHO, 1986).

Um trabalho realizado por Plommet *et al.* (1988) avaliou a sobrevivência de *Brucella abortus* (cepa de referência 544) em queijos moles fabricados a partir de leite de vacas infectadas experimentalmente na França. Fizeram 3 lotes de queijo tipo Camembert que foram armazenados a 12°C, em ambiente com alta umidade, por 35 a 40 dias. Inicialmente, a brucela do leite ficou concentrada na coalhada e as contagens permaneceram altas por 20 horas, em seguida, a contagem foi decrescendo de acordo com a queda de pH, sendo que com 18 dias de maturação nenhuma *B. abortus* foi detectada. As amostras com 20-25 dias de maturação foram fornecidas a camundongos por via oral e não houve manifestação de nenhum sinal clínico de infecção e tampouco a brucela foi isolada a partir dos animais necropsiados.

Em pesquisa realizada no México, Estrada *et al* (2005), utilizaram leites estéreis com baixo teor de gordura inoculados com cultura iniciadora de iogurte e duas concentrações (10^5 e 10^8 UFC/ml) de *Brucella abortus*, para verificar a viabilidade das mesmas. Observaram que, após 10 dias de armazenamento a 4°C, ainda havia 10^5 UFC/ml de *Brucella abortus* viáveis no leite fermentado de maior contaminação, apesar do baixo pH (pH<4). Não foram observadas colônias após 23 dias de armazenamento.

Fontanesi (2012) observou que não houve isolamento da *Brucella abortus* 1119-3 após 25 dias de cura a 18°C no queijo parmesão em meio Farrel. ou seja, a contaminação, se presente, estava abaixo do limite de detecção da técnica (50UFC/g).

Por fim, a bactéria de maior preocupação em queijos feitos com leite cru é o *Mycobacterium bovis*. Starikoff (2011) observou na cura do queijo tipo parmesão que durante o período de 63 dias a 18°C determinou uma redução média de 1,36 log UFC/g de *M. bovis*. No entanto, considerando que o leite possa ter 4 log UFC/ml do agente, o estudo concluiu que a cura por 60 dias não pode garantir a redução do patógeno a níveis seguros.

Assim, a maturação isoladamente não pode garantir de forma segura a

qualidade microbiológica do queijo, sendo necessário principalmente a conscientização do produtor principalmente no controle de brucelose e tuberculose.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

Foram utilizadas para o estudo, duas propriedades rurais produtoras de queijos Minas artesanal indicadas pela Prefeitura Municipal de Uberlândia. O critério de seleção foi o de serem as únicas em processo de adequação para registro no Serviço de Inspeção Municipal.

As análises microbiológicas e físico-químicas foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Animal Aplicada da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia (LABIO-FAMEV-UFU).

3.2 Desenho do estudo

O estudo foi realizado em três etapas distintas: 1) verificação das condições física e situação higiênico-sanitária das instalações, análises microbiológicas e físico-químicas dos queijos e análise dos resultados preliminares; 2) efeito da interferência nos procedimentos de produção em pontos considerados inadequados na avaliação preliminar e treinamentos em boas práticas de fabricação; 3) realização de análises microbiológicas e físico-químicas de amostras produzidas após interferência e treinamento; análise dos resultados e redação dos requisitos mínimos necessários para garantir a qualidade dos queijos produzidos.

Adicionalmente realizou-se a pesquisa de materiais estranhos macroscopicamente em todos os queijos e verificou-se a resistência aos antimicrobianos em *Staphylococcus coagulase* positiva recuperados dos queijos.

3.2.1 Primeira etapa

Para a avaliação das condições higiênico-sanitárias da produção do leite, das instalações e do processamento dos queijos, incluindo maturação e embalagem, foram realizadas visitas técnicas e aplicação de questionário estruturado (anexo I),

descrito por Araújo (2004).

Foram analisados dois lotes diferentes de queijos de cada um dos produtores. Cada lote foi composto de 12 queijos que eram mantidos nas propriedades nas condições de maturação usuais. Após 1, 3, 5, 8, 10, 12, 15, 17, 19, 22, 24 e 26 dias de maturação foi coletado um queijo na embalagem original para análise. O transporte foi realizado em caixa de isopor contendo gelo e as análises imediatamente realizadas no LABIO-FAMEV-UFU.

Foram analisados em todos os períodos de maturação, os microrganismos recomendados na Lei Estadual nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002 (MINAS GERAIS, 2002) e sua alteração pelo Decreto Estadual nº 44.864, de 1º de agosto de 2008 (MINAS GERAIS, 2008): coliformes totais, *E. coli*, bolores e leveduras e *Staphylococcus* coagulase positiva, perfazendo 48 parcelas. Microrganismos identificados como *Staphylococcus* coagulase positiva foram submetidos ao teste de susceptibilidade aos antimicrobianos. A presença de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em 25g foram realizadas após 1, 8, 15 e 22 dias de maturação, totalizando 16 parcelas.

As análises físico-químicas de umidade, acidez titulável, gordura, gordura no extrato seco, cloreto de sódio, proteínas, cinzas e material estranho foram realizadas em todas as amostras coletadas, totalizando 48 parcelas.

Adicionalmente, foram realizadas coletas da superfície das mãos dos manipuladores, do balde da ordenha, das bancadas onde os queijos são manipulados, das prateleiras onde ocorre a maturação e das formas do queijo para análise microbiológica. As coletas foram realizadas por meio de swabs estéreis e delimitador estéril de 50cm², utilizando como meio de transporte o caldo Leethen (Oxoid). As amostras foram mantidas refrigeradas até chegar ao laboratório e imediatamente analisadas. Também foram coletadas amostras da água e leite utilizados na fabricação. Nestas amostras foram realizadas contagens de coliformes totais, coliformes termotolerantes e bactérias heterotróficas mesófilas.

3.2.2 Segunda etapa

Foi realizado um questionário estruturado por Araújo (2004) (Anexo I) de forma verbal com cada produtor a respeito de informações gerais da propriedade,

produtor e produção, da obtenção da matéria-prima, da queijaria, do acondicionamento e destino do lixo, da água de consumo, da criação de animais, dos manipuladores, dos equipamentos e utensílios usados, dos processo de limpeza, destino do soro, embalagem e rastreamento. Posteriormente esses dados foram analisados e observados os pontos de não conformidade.

Os procedimentos não conformes foram reforçados nos treinamentos que foram oferecidos aos produtores, sempre focados na educação sanitária e na introdução de boas práticas tanto na obtenção do leite quanto na fabricação dos queijos. A primeira parte do treinamento foi teórica, demonstrando através da apostila (anexo II) todos os procedimentos corretos a serem realizados na produção de forma a atender a legislação vigente, adicionalmente foram tiradas todas as dúvidas dos produtores. A segunda parte compreendeu a aplicação da teoria na prática, seguindo todos os passos corretos da obtenção higiênica do leite e os procedimentos de higienização de equipamentos e utensílios.

O conteúdo oferecido aos produtores na forma de uma apostila (anexo II) permaneceu com eles para que pudessem consultar posteriormente. Adicionalmente, foi elaborado um *check list* contendo os pontos de verificação mais importantes em futuras fiscalizações das propriedades. Este *check list* foi sugerido aos fiscais do Serviço de Inspeção Municipal.

3.2.3 Terceira etapa

Após o treinamento em boas práticas foram coletados queijos de três fabricações em cada uma das propriedades. O número de amostras por fabricação, itens analisados e frequência de análises foram as mesmas já descritas na etapa 1 (item 3.2.1), porém foram analisadas 72 parcelas para coliformes totais, *E. coli*, bolores e leveduras e *Staphylococcus* coagulase positiva; 24 parcelas para detectar a presença de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* em 25g realizadas após 1, 8, 15 e 22 dias de maturação; e 72 parcelas para as análises físico-químicas de umidade, acidez titulável, gordura, gordura no extrato seco, cloreto de sódio, proteínas, cinzas e material estranho.

3.3 Análises

3.3.1 Preparo das amostras

Após a chegada ao laboratório, as amostras tiveram sua embalagem externa higienizada com álcool etílico 70% e levadas a fluxo laminar para retirada das alíquotas analíticas.

Porções das amostras a serem analisadas foram aliquotadas assepticamente em forma de seção cruzada, que é a indicada para queijos cilíndricos (WOLFSCHOON-POMBO et al., 1983). O procedimento foi realizado em fluxo laminar (VECO®). Foram retiradas 25g para análises de coliformes totais e *E. coli*, *Staphylococcus coagulase* positiva e bolores e leveduras para a diluição inicial em 225mL de água peptonada 0,1% estéril (OXOID®). Outras duas porções de 25g foram adicionadas em água peptonada tamponada (OXOID®) e caldo listeria (DuPont Qualicont®) para pré-enriquecimento para análises de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*, respectivamente.

Alíquotas foram retiradas para realização de análises físico-químicas. Após a retirada da unidade analítica, os queijos foram observados quanto sua aparência geral, presença de olhaduras, sujidades e outras características que podem ser relacionadas à sua qualidade geral.

3.3.2 Análises físico-químicas

Para a determinação da umidade, gordura, gordura no extrato seco, acidez titulável, cloretos, cinzas e proteína total, em todos os queijos coletados como descrito anteriormente, foram utilizados os métodos oficiais descritos na Instrução Normativa 68, de 12 de dezembro de 2006 (BRASIL, 2006).

A proteína total (PT) foi determinada de modo indireto, multiplicando-se o percentual de nitrogênio total (NT) pelo fator 6,38, indicado para proteína derivada de leite (SILVA e QUEIROZ, 2005).

3.3.2.1 Pesquisa de material estranho

Após a retirada das alíquotas para as análises anteriores, foi realizada observação direta para a presença de corpos estranho na parte externa e interna nos queijos, como recomendado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (BRASIL, 2003a). Para isso, os queijos foram inspecionados visualmente após cortes com facas estéreis em toda a sua extensão.

3.3.3 Análises microbiológicas

Para a enumeração de coliformes totais e *E. coli* nos queijos foi utilizado o método cromogênico Compact Dry EC® (Nissui Pharmaceutical Co. Ltd.), aprovado pelos órgãos de certificação internacional: AOAC 110402, Microval MV0806-004LR e Nordaval 037, incubado a 35°C±2°C por 24 horas.

Coliformes totais e termotolerantes no leite, água, “pingo” e *swabs* de equipamentos foram quantificados pela técnica do número mais provável (NMP) descritos por Silva *et al.* (2007).

Os protocolos de análise para realização do número mais provável para coliformes totais e termotolerantes, quantificação de bactérias mesófilas, bolores e leveduras e *Staphylococcus coagulase* positiva foram realizadas de acordo com os descritos por Silva *et al.* (2007).

A enumeração de *Staphylococcus coagulase* positiva no queijo e no *swab* de mão foi realizada em agar seletivo Baird Parker (Oxoid®), incubado a 35°C por 48 horas, com confirmação pela prova da coagulase. Bolores e leveduras foram quantificados na superfície do agar DRBC (Dichloran-Rose Bengal-Chloramphenicol Agar (Difco®), incubado a 25°C a por 5 dias e bactérias mesófilas em PCA - agar plate count (Difco®) após incubação a 35°C por 48 horas.

A presença/ausência de *Salmonella* spp. em 25g de queijo ou 25mL do leite foi realizada pelo método molecular Bax System (Dupont Qualicon®), com pré-enriquecimento em água peptonada tamponada e procedimentos descritos pelo fabricante (USER GUIDE, 2009). O método é aprovado pela AOAC 100.201 e

AFNOR QUA 13/3-11/02 (USER GUIDE, 2009) e validado pelo MAPA, conforme IN Nº40 de 12/12/2005 (BRASIL, 2005).

Listeria monocytogenes em 25g de queijo ou 25mL do leite também foi determinada pelo método molecular Bax for *Listeria monocytogenes* 24E (Dupont Qualicon®). Este método é aprovado para análise de alimentos pela AOAC 080901 e AFNOR QUA-18/05-07/08 e pelo MAPA IN nº40 de 2005 (BRASIL, 2005).

3.3.3.1 Antibiograma

Foram selecionadas para realização de antibiograma *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas das amostras de queijo. De cada uma das amostras que apresentaram contagem do microrganismo, de 3 a 5 colônias foram submetidas à análise.

O teste de difusão com disco foi utilizado para testar a susceptibilidade aos antimicrobianos (BAUER; KIRB; SHERRIN, 1966). Os procedimentos foram realizados de acordo com recomendações do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2012).

Para o teste, três a cinco colônias puras previamente semeadas em TSA - agar triptona de soja (Oxoid®), bem isoladas, de mesmo tipo morfológico foram transferidas para um tubo contendo 5mL de NaCl 0,85%. A turbidez foi ajustada à da solução padrão de MacFarland a 0,5 e após, semeada na superfície do ágar Mueller Hinton (MH) (DIFCO®).

Os critérios de escolha dos antimicrobianos basearam-se nos seguintes pontos: utilização dessas drogas na medicina veterinária e humana (NCCLS, 2012), ocorrência de resistência dentro da produção leiteira e na medicina humana. Foram testados os seguintes antimicrobianos: gentamicina (10µg) (aminoglicosídeo), penicilina G (10U) (beta-lactâmico), clindamicina (2µg) (lincosamida), azitromicina (15µg) (macrolídeo), ampicilina (10µg) (beta-lactâmico), oxacilina (1µg) (beta-lactâmico), sulfazotrim (25µg) (sulfonamidas), eritromicina (15µg) (macrolídeo) (LABORCLIN®).

Após incubação a 37°C por 18 a 20 horas, foram medidos os diâmetros dos halos de inibição (em milímetros), com auxílio de paquímetro e os microrganismos

classificados como sensível (S), intermediário (I) ou resistente (R) ao antimicrobiano testado.

3.4 Análise dos resultados

Os resultados microbiológicos dos ensaios antes e depois dos treinamentos foram tabulados e testados quanto à normalidade dos dados. O teste *t* de Student foi utilizado para verificar diferenças entre dados pareados com 95% de confiança. O mesmo teste verificou diferenças entre contagens de microrganismos antes e após o queijo atingir a umidade de 45,9%.

As correlações de Pearson e Spearman foram utilizadas para verificar a correlação entre os resultados obtidos em contagens de bioindicadores e os parâmetros físico-químicos ao longo da maturação. Também foi verificado se havia correlação entre o tempo de maturação (em dias) com o tamanho dos halos medidos para cada um dos antimicriobanos testados. Os procedimentos foram realizados conforme orientações de Ayres (2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização dos produtores e da fabricação de queijos Minas artesanal no município de Uberlândia

Apesar de o queijo Minas artesanal ser produzido e comercializado no município de Uberlândia há mais de 20 anos, a iniciativa de cadastrar e reconhecer oficialmente as propriedades produtoras é recente, com início em 2012. Portanto, não se conhece as características de produção desses queijos e se o mesmo é fabricado em condições semelhantes aos produzido em regiões tradicionais, como a do Serro, por exemplo, e ainda se os manipuladores possuem hábitos higiênicos que permitam que estes queijos atendam às normas preconizadas na Portaria nº 523, de 3 de julho de 2002 (MINAS GERAIS, 2002a) e Portaria nº518 de 14 de junho de 2002 (MINAS GERAIS, 2002b).

Entre os produtores de queijos artesanais da região, somente dois eram cadastrados na Prefeitura Municipal de Uberlândia e demonstraram interesse em participar de um programa de melhoria da qualidade. Uma propriedade está localizada a 20 km de Uberlândia e a outra localizada a 80 km.

De acordo com as respostas obtidas com o questionário aplicado (ANEXO I), a fabricação de queijo é a única atividade que gera a renda para os dois produtores sendo, portanto, uma produção familiar. O rebanho de um produtor é da raça girolando e do outro cruzamento de Girolando e Jersey, que são raças mais especializadas na produção leiteira. A base alimentar dos animais é a pastagem com braquiária, mas o produtor com mais condições complementa a alimentação com silagem e concentrado. Ambos os produtores complementam a sua fabricação dos queijos com leite de propriedades vizinhas, onde os próprios produtores realizam a ordenha, e assim um produz 7 queijos por dia e o outro 48 queijos. O soro resultante da fabricação dos queijos é destinado para alimentação animal (suínos, bezerros, cães).

As visitas técnicas e o preenchimento do questionário estruturado permitiu descrever as condições de produção e a estrutura física nas duas propriedades.

Nas duas propriedades são realizadas duas ordenhas/dia, sendo uma com ordenha manual e outra mecânica. Não há obrigatoriedade na legislação para a adoção de determinado tipo de ordenha, somente recomenda-se que deva ocorrer em condições adequadas de higiene. Em ambas as propriedades a sala de ordenha é coberta, mas aberta nas laterais, o piso é cimentado, com algumas partes quebradas, permitindo a exposição do solo. O local de espera das vacas é aberto e não pavimentado (Figura 3). As condições destas estruturas estão inadequadas de acordo com a Portaria 518 de 2002 (MINAS GERAIS, 2002b), que determina que os currais de espera devam ter bom acabamento, dotado de piso concretado ou revestidas com blocos de cimento ou pedras rejuntadas, com declive para o escoamento da água. Recomenda-se também que as salas de ordenha devem dispor de piso impermeável revestido de cimento áspero com declive para escoamento da água.



Figura 3: Sala de ordenha da propriedade “B” produtora de queijo Minas artesanal, Uberlândia, MG, 2012.

O tempo decorrido entre o início da ordenha e início da produção dos queijos oscila entre 60 a 180 minutos. A Lei Estadual 20.594 de 2012 recomenda que o início da fabricação dos queijos ocorra em até 90 minutos após o início da ordenha (MINAS GERAIS, 2012).

Quanto aos aspectos físicos da queijaria o piso é de cimento, assim como o revestimento das paredes. A vedação das entradas não é completa propiciando a entrada de moscas e outros animais. A iluminação é natural e artificial e o local é bem arejado. A bancada utilizada na fabricação dos queijos em uma propriedade é de mármore e na outra de granito. De acordo com a Portaria nº518 de 2002 (MINAS GERAIS 2002b), a superfície das bancadas de trabalho devem ser planas e lisas, sem cantos vivos, frestas e soldas salientes, sendo proibido o uso de madeira ou outro material poroso, porém, não especifica quais materiais podem ser usados para revestir a bancada. Trabalho realizado por Martins (2006) concluiu que ardósia não é um material adequado para construção de mesas para fabricação desse queijo, pois esse material possibilita a formação de incrustações minerais (pedra de leite) na sua superfície e a limpeza com produto ácido provoca a sua corrosão.

A água utilizada na fabricação e na higienização é proveniente de minas e cisternas e é armazenada em caixas d’água vedadas, sem nenhum tratamento como cloração ou filtração. A Lei 19.492 de 2011 estabelece que a água utilizada na

produção do queijo Minas artesanal deve ser potável e provir de nascente ou cisterna revestida e protegida do meio exterior ou de poço artesiano, observadas as seguintes condições: ser canalizada desde a fonte até o depósito ou caixa d'água da queijaria ou do quarto de queijo; ser filtrada antes de sua chegada ao reservatório e ser clorada com cloradores de passagem ou outros sanitariamente recomendáveis a uma concentração de 2ppm (duas partes por milhão) a 3ppm (três partes por milhão). Estas condições não foram observadas nas propriedades.

Em ambas as propriedades, uma média de 10L de leite são utilizados para fabricar um quilo de queijo. Com relação ao processo de fabricação, o leite é filtrado em tecido e peneira plástica e colocado em tambores plásticos, e após a utilização, lavados em água e mergulhados em solução sanitizante. Esta etapa da produção encontra-se de acordo com legislação, com exceção da utilização de panos. A Portaria 523 de 2002 recomenda que os utensílios que entram em contato com o alimento devem ser de material que não transmita substâncias tóxicas, odores e sabores, não seja absorvente e anticorrosivo e seja capaz de resistir a repetidas operações de limpeza e desinfecção. O leite selecionado para a produção do Queijo Minas Artesanal deverá ser coado logo após a ordenha, em coador apropriado, não sendo permitido o uso de panos (MINAS GERAIS, 2002a).

Após o leite ser vertido no tambor, o mesmo é adicionado do “pingo” e o coalho. O “pingo” é adicionado na proporção de 200ml/100L de leite. Os produtores utilizam como “pingo”, uma porção do soro coletado ao final da dessoragem dos queijos, que permanece armazenado sob refrigeração até a fabricação do dia posterior. Os produtores relataram que quando utilizado por muito tempo, em torno de 30 dias, o “pingo” fica com aspecto fermentado. Neste momento, o mesmo é descartado, porém o novo soro-fermento é obtido de queijos produzidos com o “pingo” alterado. Em regiões produtoras tradicionais como a Canastra, a forma mais comum de reposição do pingo é adquirindo de outro produtor que não esteja tendo problemas na fabricação. Ademais, apenas 4% dos produtores dessa região utilizam outras formas de reposição do pingo, como queijo Canastra curado e ralado adicionado ao leite ou leite desnatado (desnate natural) e fermentado que foi reservado no dia anterior (SILVA, 2007). Como ainda são poucos os produtores de Uberlândia que fabricam o queijo Minas artesanal, o ideal seria utilizar as ultimas

técnicas descritas por Silva (2007) ao invés de utilizar soro-fermento alterado, o que provavelmente, leva à perpetuação do problema aos queijos.

Os dois produtores utilizam coalho industrial e o tempo de coagulação varia entre 40 a 45 minutos. Para mexer na massa um produtor utiliza espátula de madeira enquanto o outro a de polietileno. A prensagem é feita com as mãos e tecido de poliéster e a salga é realizada com sal grosso na massa já enformada em formas de plástico. Ao final do dia, após a coleta do pingo, os queijos, ainda enformados, são transferidos para as prateleiras de madeira para iniciar o processo de maturação em temperatura ambiente. No dia seguinte as formas são retiradas e os queijos passam a ser virados diariamente até a embalagem e comercialização.

Antes da embalagem, os queijos são lavados com água ou soro objetivando realizar uma limpeza superficial. Posteriormente, os queijos são embalados em sacos plásticos transparentes, sem indicação da data de produção e validade, informações nutricionais ou identificação da propriedade, não havendo, portanto, rastreabilidade. O peso médio dos queijos é de aproximadamente um quilo. O procedimento de lavagem do queijo não é descrito pelas legislações, no entanto é uma prática usada por vários queijeiros de regiões tradicionais (ORNELAS, 2005; MARTINS, 2006).

Os queijos, após 3 a 4 dias de maturação, são vendidos dentro do próprio município principalmente para padarias e pastelarias.

De acordo com a Instrução Normativa nº57 de 2011 queijos artesanais só podem ser comercializados após um período de maturação de 60 dias. Períodos de maturação inferiores são permitidos somente quando pesquisas demonstrem que a maturação por menor tempo não representa risco à saúde do consumidor (BRASIL, 2011). Considerando as recomendações da Lei Estadual nº 19.942 de 2011, os queijos artesanais também só podem ser comercializados após maturação por um período mínimo de 60 dias, um período inferior seria permitido caso pesquisas comprovem que um tempo menor garante segurança ao produto (MINAS GERAIS, 2011).

A Lei Estadual 20.549 de 2012, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais preconiza que na ausência de regulamento que especifique o tempo de maturação para o queijo minas artesanal no município

de origem, a constatação do dessoramento é suficiente para caracterizá-lo como queijo meia-cura. No entanto, para que os queijos sejam registrados no IMA – Instituto Mineiro de Agropecuária, e tenha reconhecimento pelo Sistema Brasileiro de Inspeção/ Produtos de Origem Animal - SISBI/POA, nas regiões tradicionais de produção, o período de maturação deve variar entre 17 a 22 dias de acordo com a Portaria nº1305 de 2013 (MINAS GERAIS, 2013).

Com respeito à higienização das instalações, ambos os produtores consideraram que os procedimentos que realizam no local de trabalho é adequado. Realizam a pré-lavagem do tanque de fabricação com água, enxaguam com solução sanitizante e executam um novo enxague com água. As bancadas de manipulação da massa são higienizadas após a fabricação, na seguinte sequência: enxague com água, lavagem com água, sabão e sanificantes. Este processo é também o realizado para os panos e outros utensílios usados na fabricação. A Portaria nº523 de 2002 estabelece as condições de higienização de uma forma geral, afirmando que: a queijaria deverá ser submetida a rigorosa limpeza antes, durante e após a fabricação do queijo; as queijarias, os equipamentos e utensílios, e todas as demais instalações, incluindo os desaguamentos, deverão ser mantidos em bom estado de conservação; deverão ser tomadas precauções adequadas para impedir a contaminação dos alimentos quando as áreas, os equipamentos e os utensílios forem limpos ou desinfetados com água, detergentes, desinfetantes ou soluções destes.

O lixo é colocado em um latão com saco plástico para depois ser queimado. A legislação preconiza que o lixo deverá ser retirado das áreas de trabalho no mínimo uma vez por dia, e imediatamente após sua remoção, os recipientes utilizados para o armazenamento e todos os equipamentos que tenham entrado em contato com ele deverão ser desinfetados (MINAS GERAIS, 2002a). O manejo destes resíduos é importante, pois além dos problemas causados ao ambiente, a eliminação inadequada do lixo ainda serve de abrigo e fonte de alimento para roedores, insetos, entre outros animais, que em consequência geram várias doenças aos humanos (SALGADO *et al.*, 2011).

Os manipuladores afirmaram que realizam exames periódicos para verificar sua saúde, alegam que utilizam roupa limpa com proteção e touca durante a

fabricação do queijo, porém não usam máscaras para proteção da boca e nariz. Consideram seus hábitos higiênicos adequados, como lavar as mãos, não fumar ou tossir durante a produção, tem bom asseio pessoal e ausência de afecções.

Não há registro documentado de nenhuma das atividades relacionadas à produção dos queijos, saúde dos manipuladores, higienização dos equipamentos e instalações ou defeitos e problemas observados nos queijos.

As respostas obtidas no questionário estruturado proposto por Araújo (2004) e visitas demonstraram várias deficiências nas propriedades, tanto do ponto de vista de estrutura física quanto sanitária.

Em relação às estruturas físicas, as principais falhas observadas foram: inadequação do local de ordenha, falhas de vedação na queijaria contra animais e insetos, e ainda, necessidade de reestruturação geral das queijarias.

Do ponto de vista sanitário, as maiores deficiências estavam relacionadas a não utilização de boas práticas na obtenção do leite, ausência de controle da mastite, a higienização das mãos não é realizada com frequência, e ainda, a água não é tratada.

Estas informações embasaram o treinamento em boas práticas na obtenção do leite e na fabricação dos queijos, assim como, em orientações para adequações nas estruturas físicas das propriedades.

4.2. Boas Práticas de Fabricação

Na Europa quando foi criado o Código de Boas Práticas para a produção do queijo fabricado com leite cru, pela Associação Especialista de Queijeiros, propôs-se que os próprios produtores fizessem um controle de todo o seu processo produtivo com o devido registro (SCA, 2004). No Brasil, apesar de existir uma legislação definindo estas boas práticas (BP) para a produção do queijo Minas artesanal, estes princípios são aplicados por poucos proprietários, devido à falta de consciência da sua importância.

O treinamento dos produtores foi focado em procedimentos que visavam corrigir as principais não conformidades observadas anteriormente e nas

recomendações de BP preconizados pela Portaria nº 523, de 3 de julho de 2002 (MINAS GERAIS, 2002a).

O treinamento foi realizado com os dois produtores em dias diferentes nas respectivas propriedades. Participaram do treinamento, cinco pessoas relacionadas com a produção do queijo. Dois fiscais do serviço de inspeção municipal acompanharam a atividade.

Além da exposição oral, foi confeccionada uma apostila (ANEXO II) com os conteúdos ministrados, que foi disponibilizada aos participantes. Os principais pontos abordados foram: controle da sanidade do rebanho e sua importância para a saúde humana, obtenção higiênica do leite, controle de mastite, higiene pessoal e higienização dos utensílios, equipamentos e estrutura física. O treinamento prático constou de: diluição do hipoclorito de sódio utilizado na desinfecção de equipamentos e utensílios, uso e concentração do hipoclorito de sódio para higienização da água até a instalação do clorador por passagem. Seguiu-se demonstrando o processo de higienização dos utensílios e equipamentos, com um enxague inicial, lavagem com água e sabão, aplicação da solução desinfetante por 30min e enxágue final. Para finalizar a prática o produtor realizou uma simulação da ordenha utilizando os procedimentos descritos na apostila.

Nesta etapa, adicionalmente ao treinamento de BP, foi confeccionado um resumo dos principais pontos que devem ser controlados para garantir as condições higiênico-sanitárias dos queijos (Tabela 2). Este documento foi sugerido aos fiscais do serviço de inspeção municipal como itens a serem preferencialmente verificados durante as fiscalizações.

Apesar de ser uma produção artesanal, o processo de fabricação do queijo Minas artesanal deve ser rastreável, havendo necessidade de introdução de registros. Os registros além de auxiliar na detecção de situações que representam risco à saúde dos consumidores podem também, ser uma fonte de informação aos produtores na identificação de procedimentos que comprometem a qualidade sensorial dos queijos.

Tabela 2: Principais etapas que devem ser controlados na cadeia de produção do queijo Minas artesanal.

Etapa	Risco	Medidas Preventivas	Registro
Aquisição de animais	Animal pode apresentar doenças que levam risco para o rebanho e para a saúde pública	Atestado de vacinação para brucelose, febre aftosa e testes negativos para brucelose e tuberculose.	Data: Dados do animal: Resultados do teste:
Sanidade do rebanho	Presença de doenças no rebanho	Vacinação para brucelose, febre aftosa Teste para brucelose e tuberculose.	Data: Vacinação/teste: Dados dos animais vacinados/testados Resultados teste:
Tratamento de doenças	Presença de resíduos de medicamentos no leite	Respeitar o período de carência	Data: Animal doente: Medicamento: Período de carência:
Ordenha	Contaminação do leite com material estranho (sujidades)	Higienização do local da ordenha, dos equipamentos, higiene do ordenhador e dos tetos dos animais. Filtração do leite	Horário da higienização: Substâncias usadas: Horário da ordenha:
Ordenha	Mastite: contaminação do leite, principalmente <i>S. aureus</i> Contaminação do leite por fezes e urina (Coliformes total e termotolerante, <i>Salmonella</i> sp)	Teste da caneta telada ou de fundo preto, três primeiros jatos de leite/ diariamente. Teste CMT/mínimo mensal. Animais positivos: ordenha separada até final do tratamento. Limpeza das instalações e equipamentos durante	Teste usado: Data: Resultado do teste para cada animal: Destino do animal: Destino do leite:

		e após ordenha.	
Lavagem	Contaminação da água	Cloração da água conforme legislação vigente.	Data: Forma de cloração: Medição do cloro: Análise:
Fabricação do queijo	Tempo de atuação antimicrobianos naturais do leite.	Iniciar a fabricação do queijo até 90 minutos do início da ordenha	Horário do início da fabricação do queijo:
Fabricação do queijo	Presença de animais e insetos dentro da queijaria	Aplicar medidas de controle de pragas; manter a estrutura da queijaria em boas condições de vedação.	Controle de pragas: Localização das armadilhas: Data da vistoria das armadilhas: Medidas tomadas:
Fabricação do queijo	Utensílios e equipamentos contaminados	Higienizar os utensílios e equipamentos antes, durante e após a fabricação.	Método de higienização:
Maturação/cura do queijo	Multiplicação bacteriana no queijo	Deixar o queijo maturando por um período mínimo de 26 dias.	Data início da maturação: Data final maturação:
Armazenamento, transporte e comércio.	Contaminação do queijo por material estranho	Usar embalagens com qualidade higiênica, transportar em recipiente fechado sem contato com outros produtos.	Quantidade de queijo: Data do lote: Destino:
Comercialização	Não identificação	Rotulagem adequada: identificação do produtor, datas, lote, informação nutricional, etc	Informação nutricional e análise do rótulo

4.3 Avaliação físico-química dos queijos

A média dos resultados de cada parâmetro físico-químico pode ser observado na tabela 3.

Tabela 3: Porcentagens médias ($n=120$) dos resultados físico-químicos dos queijos Minas artesanal analisados, em Uberlândia-MG.

Parâmetro (%)	Média Geral (n=96)
Proteína	27,46±3,17
Cloreto	2,08±0,59
Cinzas	5,34±0,83
Gordura	30,10±3,67
Umidade	35,39±8,11
GES	47,15±4,63
Acidez titulável	1,97±1,42

GES – gordura no extrato seco.

A porcentagem média de proteína dos queijos neste estudo foi de 27,5%. Este resultado estava acima daqueles obtidos em Araxá, Bambuí, Canastra e Montes Claros por Araújo (2004), Silva (2007), Resende (2010), Lempk (2013), que obtiveram 24,4%, 23,9%, 24% e 21,09%, respectivamente.

O teor de proteína é um dos componentes dos queijos artesanais que mais pode ser afetado pelo processo de fabricação. Não há padronização na tecnologia da produção entre as diferentes regiões, entre produtores de uma mesma região ou mesmo em produções de uma mesma propriedade. Dentre as diferenças no processo de fabricação que podem afetar a retenção de proteínas na coalhada podem ser destacadas: temperatura do leite no processo de coagulação, corte da massa e mexedura. Estes fatores são subjetivos em produções artesanais, já que são dependentes do tempo entre ordenha e fabricação dos queijos, avaliação “do ponto” pelos produtores rurais, variabilidade entre os agentes coagulantes utilizados, entre outros fatores. Quando a massa é quebrada antes do ponto ocorre perda de

proteína pelo soro (PINTO *et al.*, 2004; ARAÚJO, 2004; SILVA, 2007; RESENDE, 2010).

A porcentagem média de cloreto nos queijos produzidos em Uberlândia foi de 2,08%. Análises de queijos artesanais produzidos na Serra da Canastra e Araxá apresentaram médias de 1,96% e 2,06, respectivamente (ARAÚJO, 2004). Já Lempk (2013) determinou que o teor médio de cloretos foi de 1,82%, em queijos produzidos em Montes Claros. É provável que os maiores índices observados sejam consequência da diminuição da umidade e concentração deste elemento nos queijos, devido ao longo período de maturação, além da falta de padronização da salga.

A ausência de padronização nas porcentagens de cloreto de sódio em queijos artesanais já foi observada por diversos autores (ARAÚJO, 2004; MARTINS, 2006; LEMPK, 2013). As diferenças acontecem entre produtores e dentro de uma mesma propriedade. Normalmente, a quantidade de sal utilizada resulta da preferência e/ou “saberes” adquiridos ou transmitidos pelos produtores rurais com a arte de fabricar queijo (SILVA, 2007). A variação também se explica pelo tipo de salga e de sal, ausência de pesagem do sal e/ou quantidade utilizada versus quilos de queijo, além do tempo da salga não ser bem definido (PINTO *et al.*, 2004).

A acidez média nos queijos de Uberlândia foi de 1,97%, valor maior que os relatados por Resende (2010), Araújo (2004), Martins (2006) e Silva (2007) que foram respectivamente de 0,72% na região da Canastra, 0,77% em queijos artesanais de Araxá, 0,99% no Serro e 1,21% em outros municípios da Canastra.

Por ser prensado manualmente, o queijo Minas artesanal apresenta retenção de soro desuniforme, o que interfere na quantidade de lactose eliminada. Assim, diferentes teores de lactose podem ser convertidos em ácido láctico nos queijos por bactérias lácticas provenientes do leite, soro-fermento e ambiente (RESENDE, 2010). A acidez é resultado da multiplicação de microrganismos fermentadores (SANTOS, 2010). Assim, este parâmetro é influenciado tanto pelo conteúdo de lactose residual quanto pelo número e tipo de microrganismos presentes no leite e no soro-fermento.

Durante a maturação, após a fermentação da lactose pelas bactérias lácticas, outros microrganismos “não starter” irão utilizar o lactato presente e produzir

diferentes compostos responsáveis pelo odor e sabor característicos de cada variedade. Estes microrganismos contribuem também na proteólise, influenciando na textura dos queijos (SIHUFÉ *et al.*, 2005). A desaminação que ocorre na proteólise, a descarboxilação de aminoácidos e a dissociação de ácidos, principalmente o ácido láctico, são fatores que contribuem para o aumento do pH e consequentemente diminuição da acidez (DORES, 2007). Assim, a acidez tende a aumentar nos primeiros dias após a fabricação e após um período de estabilização durante a maturação, há tendência de diminuição. Desta forma, vários fatores podem ter contribuído para os queijos produzidos em outras regiões tenham índices menores de acidez que os produzidos em Uberlândia.

A média de gordura nos queijos de Uberlândia foi de 30,1%, superior aos 28%, 27,62% e 23,6%, encontrados por Oliveira *et. al.* (2013) em queijos produzidos no Serro, Cerrado e Canastra, respectivamente. Também menor que queijos produzidos em Araxá, com porcentagem média de 28,29% (ARAÚJO, 2004). O inverso ocorreu com a gordura no extrato seco (GES), que no presente estudo obteve média de 47,15%, inferior aos resultados obtidos nas regiões do Serro, Canastra e Cerrado, que foram de 52,95%, 52,67% e 51,62% respectivamente (OLIVEIRA *et. al.*, 2013) e em Araxá, com 50,83% (ARAÚJO, 2004).

Dos componentes do leite, o teor de gordura é o que mais varia em função da alimentação e também por outros fatores como a raça e genética (COELHO *et al.*, 2010). No queijo a gordura ainda é influenciada pela mexedura da coalhada durante o processo de fabricação (LEMPK, 2013).

A média de umidade neste estudo foi de 35,39%, valor inferior aos de Araújo (2004) e Oliveira *et al.* (2013), nas regiões de Araxá, Serro, Canastra e Cerrado, cujos valores foram de 44,32%, 47,38%, 44,9% e 46,51% respectivamente. Durante as visitas às propriedades de Uberlândia, não foi observado nenhum controle do tamanho dos grãos da coalhada durante o corte. A variação no tamanho dos grãos resulta em queijos com variados teores de umidade. Esse fator é importante, pois quanto menor o grão, menor será o teor de umidade do queijo (PINTO *et al.*, 2004).

Os teores de gordura e umidade dos queijos estão diretamente relacionados com a forma de prensagem e de se trabalhar com a massa. Quando há corte brusco da coalhada pode ocorrer rompimento em sua estrutura, liberando lipídios, proteínas

e outras substâncias que serão perdidas na dessoragem. A força aplicada durante a prensagem provoca maior ou menor compactação da massa, formando queijos com diferentes teores de umidade e gordura (MACHADO, 2002).

Maiores porcentagens de gordura e proteína no leite interferem positivamente no rendimento do queijo (RESENDE, 2010). No entanto, os procedimentos utilizados na fabricação também influenciam positiva ou negativamente no rendimento, entre eles: tamanho dos grãos na quebra da coalhada, tempo e temperatura na mexedura, que interferem significativamente nas perdas de proteína e gordura no soro (ARAÚJO, 2004).

O teor médio de cinzas nos queijos produzidos em Uberlândia foi de 5,3%, acima do relatado por Lempk (2013) que foi de 4,05%. Rocha (2004) afirma que o teor de cinzas é de grande importância na textura final dos queijos. A massa de queijo é um conjunto, em que o cálcio forma a estrutura, atuando como elemento de ligação.

Resende (2010) verificou que variações na composição podem ser explicados pela falta de padronização no processo de produção do queijo, por variação na quantidade de soro-fermento adicionada, por espécies e concentrações variadas da microbiota endógena do soro-fermento e por variações no tempo e quantidade de sal utilizada no processo de salga dos queijos.

As porcentagens de cloreto, proteínas, cinzas, gordura, acidez titulável e umidade foram influenciadas pelo tempo de maturação ($p<0,05$). A única exceção foi a gordura no extrato seco (GES) que não sofreu influência ($p>0,05$). Dores (2007) e Martins (2006) também concluíram que o tempo de maturação influenciou nas porcentagens dos mesmos parâmetros observados neste trabalho. Este resultado era esperado e provavelmente é consequência da perda de água que ocorre em queijos madurados em temperatura ambiente

Houve correlação significativa entre o tempo de maturação e as porcentagens de cloreto de sódio, proteína, cinzas, gordura, umidade e acidez (Figuras 4,5,6,7,8, 9).

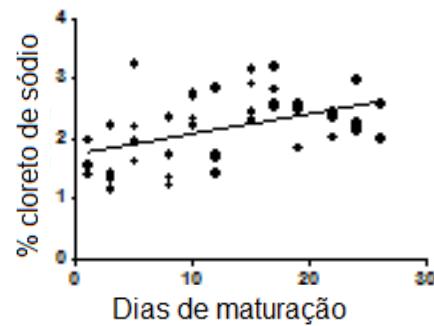


Figura 4: Correlação entre as porcentagens de cloreto de sódio e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia, $r^2=0,33$.

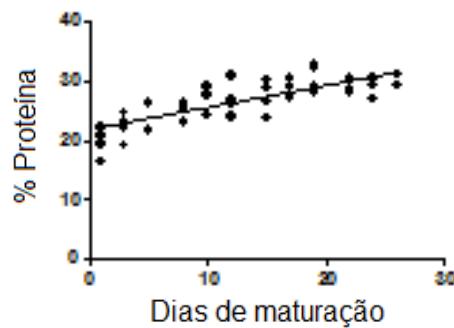


Figura 5: Correlação entre as porcentagens de proteína e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia, $r^2=0,79$.

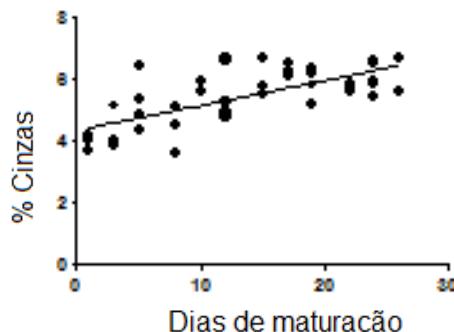


Figura 6: Correlação entre as porcentagens de cinzas e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia $r^2=0,61,5$.

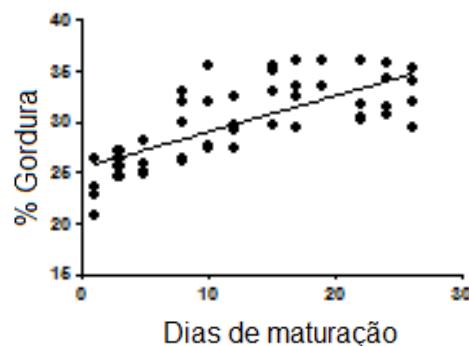


Figura 7: Correlação entre as porcentagens de gordura e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia, $r^2=0,65$.

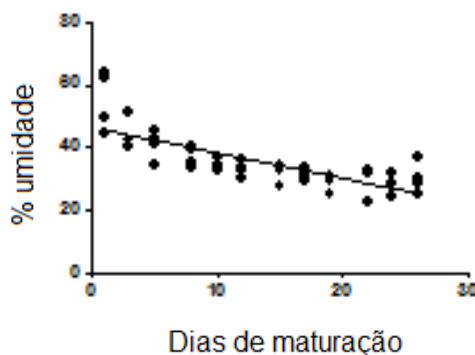


Figura 8: Correlação entre as porcentagens de umidade e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia, $r^2=0,76$.

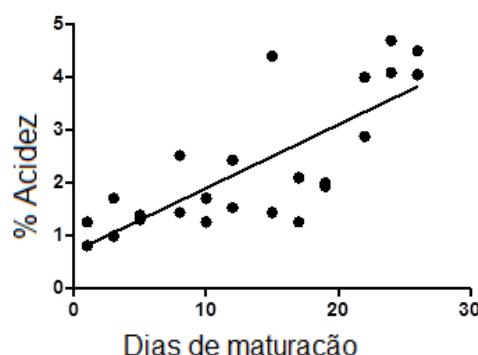


Figura 9: Correlação entre as porcentagens de acidez titulável e o período de maturação (dias) em queijo Minas artesanal produzido no município de Uberlândia, $r^2=0,78$.

Observa-se que a acidez aumentou ao longo da maturação. É provável, que nos queijos artesanais produzidos na região de Uberlândia, os fenômenos bioquímicos que ocorrem durante a maturação não tenham sido ainda estabilizados.

Por outro lado, ainda tem a presença de microrganismos acidulantes, como os coliformes, que podem ter influenciado na concentração de ácido lático.

Os resultados indicam que os queijos produzidos nesta região requerem mais tempo até sua estabilização, já que aparentemente não houve produção de compostos nitrogenados que neutralizam o ácido lático. Assim, durante o período analisado ainda havia quantidade significativa de lactose, que continuou a ser fermentada em ácido lático, não possibilitando ainda, que outros microrganismos auxiliares da maturação (*não starter*) utilizassem este composto e realizassem outras funções como a desaminação e descarboxilação de aminoácidos, que são responsáveis pela diminuição do pH (DORES, 2007). De forma geral, estes últimos fenômenos são acompanhados pela liberação de compostos aromáticos que contribuem para o sabor e odor característicos dos queijos, além de a proteólise também auxiliar na textura. Porém, as características sensoriais não foram avaliadas nos queijos. Por serem produzidos com leite cru, não há aprovação pelos comitês de ética em pesquisa, para que sejam avaliados por comensais.

Uberlândia não é tradicionalmente uma região produtora de queijo Minas artesanal e nas visitas realizadas foi possível observar que possuem problemas no manejo do soro-fermento, que é a principal fonte de bactérias *starter* e *não starter* para os queijos.

De acordo com o padrão de identidade e qualidade de leite e derivados determinados pela Portaria nº146 de 1996 (BRASIL, 1996) os queijos podem ser classificados baseados no teor de GES e umidade. Assim os queijos da região de Uberlândia são classificados como gordos ($45\% < \text{GES} < 59,9\%$), por apresentarem GES média de 47,15%. Após o 10º dia de maturação os queijos podem ser classificados como de baixa umidade ou de massa dura, pois a umidade é inferior a 35,9%, porém antes deste período, são classificados como de média umidade. Alguns estudos também classificaram os queijos maturados a temperatura ambiente das regiões do Serro e da Canastra como sendo gordo e de média umidade (MARTINS, 2006; DORES, 2007; SILVA, 2007; RESENDE, 2010; FERNANDES et al., 2011), semelhante ao encontrado no presente estudo, porém diferente do que foi encontrado por Lempk (2013), que classificou os queijos de Montes Claros como semigordos e de alta umidade.

Avaliando o teor médio de GES entre o 3º e o 5º dia de maturação, período que os produtores usualmente comercializam o queijo, e em umidades inferiores a 45,9%, preconizada pela legislação estadual (MINAS GERAIS, 2008) para a comercialização do queijo, os valores são 26,43% e 31%, respectivamente. Em ambas as situações o queijo é classificado como semi-gordo.

4.3.1 Presença de material estranho no queijo Minas artesanal

A presença de sujidades macroscópicas foi observada em 94/120 (78,3%) queijos analisados (Tabela 4). Dentre as sujidades, foram encontradas pequenos fios de cabelo, fragmentos de insetos e várias partículas não identificadas. Outros estudos identificaram material estranho em 100% dos queijos analisados (MARTINS, 2006; DORES, 2007). Nestes estudos, a avaliação foi microscópica, possibilitando uma pesquisa mais minuciosa, enquanto que na avaliação dos queijos produzidos em Uberlândia foi realizada apenas a observação direta de materiais macroscópicos, o que justifica a incidência menor.

Tabela 4: Presença de materiais estranhos, macroscopicamente identificados, em amostras de queijos artesanais produzidos em duas propriedades de Uberlândia, MG (agosto a dezembro de 2012).

Sujidades	Propriedade A (n=60)	Propriedade B (n=60)	TOTAL (n=120)
	n (%)	n (%)	n (%)
pelos*	137 (50%)	162 (56%)	299 (78,3%)
restos de insetos	69 (51,67%)	98 (80%)	167 (66%)
não identificados	140 (65%)	435(91,7%)	575 (78,3%)
TOTAL	346	695	

*pelos de humanos ou de animais; n (%) - número e porcentagem por produtor.

Pequenos pelos que podem ser provenientes de humanos ou animais (Figura 10) foram observados nas 94/120 (78,3%) amostras. Martins (2006) e Dores (2007) encontraram em todos os queijos avaliados sujidades como pelos de animais (bovino, rato ou cão) e pelo humano. Essas sujidades podem ser carreadas pelo vento e contaminar o leite durante a ordenha, ou então que a filtração do leite não

ocorreu de forma satisfatória. Elas são indicativas da presença de animais na área de produção e/ou contaminação pelo próprio queijeiro, que usam as mãos sem a devida proteção, para a manipulação e enformagem dos queijos.

O tipo de ordenha, manual ou mecânica, não influenciou na presença de materiais estranhos nos queijos, já que nos queijos produzidos em ambas as propriedades foram encontradas altas quantidades de material estranho. Provavelmente, outros fatores como a inadequação nas estruturas das salas de ordenha e salas de fabricação, associadas às deficiências na higienização dos utensílios, equipamentos e na manipulação sejam as principais causas da presença de materiais estranhos nos queijos. Essa mesma situação foi observada por Dores (2007), que encontrou pontos escuros nos queijos e concluiu que este resultado foi devido a condições insatisfatórias na higiene de equipamentos e utensílios.

A presença de material estranho nos queijos é, provavelmente, consequência de não conformidades nas propriedades de acordo com a que a Portaria nº 523 de 2002 (MINAS GERAIS, 2002a). Esta portaria estabelece a proibição da entrada de quaisquer animais em todos os lugares onde se encontrem matérias-primas, material de embalagem, queijo pronto para o consumo e em qualquer lugar onde sejam realizadas etapas da fabricação do queijo Minas artesanal.



Figura 10: Presença de pelo em queijo artesanal produzido na região de Uberlândia, MG (produtor A, queijo com 10 dias de maturação).

A presença de pelos de animais em alimentos pode carrear microrganismos envolvidos em intoxicações alimentares como *Staphylococcus aureus* (MAIA, 2011).

Fragmentos de insetos estavam presentes em 66% das amostras (Figura 11), uma porcentagem abaixo do que se esperava, uma vez que a estrutura das

queijarias não permitia um bloqueio adequado e por isso grande quantidade de insetos rodeavam os queijos. No entanto, mesmo não sendo encontradas essas sujidades em todos os queijos, somente a ausência de fragmentos macroscópicos não garante a ausência de consequências à saúde do consumidor. Insetos são vetores mecânicos importantes e foram observados nas salas de fabricação e maturação em todas as visitas realizadas. Na RDC 175 tem escrito que insetos são vetores mecânicos e por isso veiculam agentes infecciosos carreando contaminantes para os alimentos, representando risco para a saúde humana (BRASIL, 2003).

Vários são os trabalhos que têm demonstrado que pelos de animais e fragmentos de insetos são as sujidades mais frequentes no queijo (PERESI *et al.*, 2001; MARTINS, 2006; DORES, 2007).



Figura 11: Presença de fragmentos de insetos em queijo artesanal produzido na região de Uberlândia, MG (produtor B - queijo com 5 dias de maturação).

Em todos os queijos contaminados foram encontradas grande quantidade de pontos escuros e pequenos fragmentos, que não puderam ser identificadas macroscopicamente. Estudos que utilizaram avaliação microscópica para diagnóstico verificaram a presença de ardósia, madeira, elemento histológico vegetal, areia e fibra sintética (MARTINS, 2006; DORES, 2007, LUCAS *et al.*, 2012). Dores (2007) demonstrou que no período da seca, a maior contaminação por material estranho se dá por material terroso e pontos marrons, consequência de uma grande quantidade de partículas suspensas no ambiente devido à baixa umidade relativa do ar.

A presença de sujidades em queijos Minas artesanais pode representar risco à saúde do consumidor. Além do risco físico, os fragmentos podem carrear agentes patogênicos, e não há nenhum tipo de tratamento capaz de reduzir o risco da sua eventual presença em etapas subsequentes, além da maturação. Segundo a Resolução nº 175, de 8 de julho de 2003 (BRASIL, 2003), os queijos não devem apresentar material prejudicial à saúde humana, como: fragmentos de insetos (vivos ou mortos), parasitos, excrementos de insetos e/ou de outros animais e objetos cortantes e pontiagudos. A presença desses materiais indica condições insatisfatórias na produção dos alimentos e a detecção macroscópica destes torna o produto/ lote avaliado impróprio para o consumo humano e dispensa a determinação microscópica.

A presença dos materiais estranhos nos queijos é também indicativa de inadequações na estrutura física. Segundo a Portaria nº523 de 2002 (MINAS GERAIS, 2002a), as instalações produtoras devem ser construídas de forma a permitir a limpeza adequada e a devida inspeção. Devem possuir telas e/ou dispositivos que impeçam a entrada e o alojamento de insetos, roedores e/ou pragas, e também, a entrada de contaminadores do meio, tais como fumaça, pó, vapor, e outros. As propriedades avaliadas neste estudo não possuíam instalações que atendiam a esta legislação.

4.4 Avaliação microbiológica

4.4.1 Água, soro-fermento “pingo”, leite, equipamentos e mãos

Os resultados das análises microbiológicas realizadas na água e leite podem ser observados na Tabela 5. Os resultados obtidos nas diferentes coletas foram muito variáveis, demonstrando a pouca padronização nos procedimentos de higiene na ordenha e falhas ou ausência no tratamento da água.

Dentre os diferentes fatores que influenciam negativamente na qualidade microbiológica de queijos artesanais e outros alimentos, a água merece destaque. Além do contato direto com o alimento, o uso de água sem qualidade microbiológica adequada comprometerá os processos de higienização na ordenha e ordenhadeira,

além de contaminar equipamentos e instrumentos utilizados na fabricação. As consequências podem ser a veiculação de deteriorantes que podem comprometer a textura, o odor, o sabor e a aparência dos queijos até a veiculação de patógenos. Desta forma, a água utilizada na produção de alimentos deve ser potável (SILVA, 2007).

De acordo com a Portaria nº2914 de 12/12/2011 do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011a), para ser considerada potável, a água deve apresentar ausência de coliformes totais e *E. coli* em 100mL da amostra e no máximo $5,0 \times 10^2$ UFC de bactérias mesófilas, além de outras exigências.

Tabela 5: Contagens médias¹ de *E. coli*, coliformes totais e bactérias mesófilas em leite e água, antes e após o treinamento em BP, Uberlândia, MG, (julho a dezembro, 2012).

	LEITE		ÁGUA	
	ANTES (n=4)	DEPOIS (n=6)	ANTES (n=4)	DEPOIS (n=6)
<i>E. coli</i> NMP/100mL	420	410	28	83
Coliformes totais NMP/100mL	880	570	28	690
Mesófilas UFC.mL ⁻¹	$2,7 \times 10^6$	$2,2 \times 10^6$	$1,0 \times 10^4$	$9,1 \times 10^3$

¹ Contagens em triplicata; BPF – boas práticas.

A água de ambas as propriedades, antes e após o treinamento em boas práticas, apresentaram contagens acima dos padrões microbiológicos exigidos. Antes do treinamento, as contagens médias foram de 28 NMP/100mL para coliformes totais e *E. coli*. Após o treinamento em boas práticas, diferente do esperado, houve aumento nas médias tanto para coliformes totais como para *E. coli*. As maiores contagens médias foram consequência do aumento das contagens em um dos produtores, que provavelmente, não tratou a água. Neste produtor, as médias foram de 915 e 136 NMP/100mL de água para coliformes totais e *E. coli*, respectivamente. Já o outro produtor, após o treinamento e cloração da água, apesar de não ter atingido o padrão exigido, as contagens de coliforme total e *E. coli* foram reduzidas, atingindo médias de 4,5 e 3,0 NMP/100mL, respectivamente. No

entanto, este último não monitorava a quantidade de cloro.

As amostras coletadas após o treinamento coincidiram com o período das chuvas e este pode ter sido um dos fatores que contribuiu para o aumento do número de microrganismos na água, além da prática de não cloração de um deles. Martins (2006) verificou que das propriedades da região do Serro, 62,5% se encontraram fora dos padrões exigidos pela legislação em relação à qualidade da água. Verificou ainda, que a contaminação da água por coliformes totais no período chuvoso foi maior que no período seco, mesmo em produtores que realizam a cloração. A análise da água de propriedades produtoras de queijo Minas da mesma microrregião, Serro, também demonstrou inadequação em relação aos padrões legais para coliformes totais. No entanto, *E. coli* não foi isolada de nenhuma amostra (SANTOS, 2010).

O fato de a água permanecer não potável mesmo nas propriedades que realizavam cloração é provavelmente consequência do método utilizado, adição do cloro direto no reservatório de água, sem um controle adequado de sua concentração, entre outros fatores. A Lei Estadual 19.492 de 2011 recomenda que a água utilizada para a produção do queijo, além de passar por cloradores, deve também ser canalizada da fonte até o reservatório e ser filtrada (MINAS GERAIS, 2011). Martins (2006) ainda ressalta que é necessário agregar medidas preventivas para proteger as fontes de água, o que também é recomendado pela Lei Estadual 20.549 de 2012 (MINAS GERAIS, 2012).

A água contaminada é provavelmente uma importante fonte de contaminação do leite e do queijo. Nas propriedades estudadas a água não potável é usada tanto na lavagem dos utensílios que entram em contato direto com o leite e o queijo como na lavagem do produto final.

Não foi observada a presença de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. em nenhuma das amostras de leite utilizadas para a fabricação dos queijos artesanais. Este resultado concorda com o resultado obtido por Santos (2010), que analisou microscopicamente leite utilizado na fabricação de queijos artesanais na microrregião do Serro-MG.

Apesar das recomendações aos produtores sobre a obtenção higiênica do leite, as contagens de bactérias mesófilas, coliformes totais e *E. coli* no leite foram

semelhantes antes e após o treinamento (Tabela 5). Fator este indicativo de poucas mudanças no processo de produção, não favorecendo uma melhor qualidade ao produto final.

De acordo com a Lei Estadual nº14.185, os padrões microbiológicos do leite para *E. coli* é de no máximo 100 UFC/mL⁻¹ e para mesófilas, $\leq 1,0 \times 10^5$ UFC.mL⁻¹ (MINAS GERAIS, 2002). Portanto, todas as amostras apresentaram contagens acima das permitidas para *E. coli*, coliformes totais e bactérias mesófilas, antes e após o treinamento em boas práticas. Outros estudos também têm relatado contaminações por *E. coli*, coliformes totais e mesófilas no leite acima dos padrões recomendados (MARTINS, 2006; SANTOS, 2010).

As contagens de bioindicadores no leite antes e após treinamento em boas práticas (Tabela 5) sinalizam para condições inadequadas na obtenção do leite e no seu armazenamento até o momento da fabricação dos queijos. A redução do número de *E. coli* no leite está relacionada diretamente ao controle do risco da presença de matéria fecal. Já a diminuição nos números de coliformes totais e mesófilas pode ser associada com condições adequadas de higienização e manipulação e com o tempo/temperatura de manutenção do leite da ordenha até o beneficiamento (FAGAN *et al.*, 2008). Assim, é necessário que as boas práticas sejam efetivamente implementadas, incluindo o respeito ao tempo entre ordenha-fabricação preconizado na Lei Estadual nº20,549 de 2012, que deve ser de no máximo 90 minutos (MINAS GERAIS, 2012).

Os principais pontos de contaminação do leite são: a água residual do latão, latão, resfriador, tetos, três primeiros jatos, teteiras, balde e mãos do ordenhador (SILVA *et al.*, 2011). Já para a multiplicação dos microrganismos, o binômio tempo/temperatura é o principal fator determinante para seus números finais no leite (LORENZETTI, 2006). Segundo Fagan *et al.* (2008), a qualidade microbiológica do leite depende fundamentalmente da implantação de boas práticas na produção e menos das condições de infraestrutura e nível tecnológico da propriedade leiteira.

Todas as amostras de soro-fermento “pingo” apresentaram contaminação por coliformes totais e *E. coli* maior que 1100 NMP/100mL (Tabela 6). Martins (2006) encontrou resultados semelhantes com alta contaminação no “pingo”, 3,21 Log UFC/mL (1622 UFC/mL) para coliformes totais e 2,2 Log UFC/mL (158 UFC/mL)

para *E. coli*. Assim, apesar de o soro-fermento possuir a função de substituir o fermento láctico nas produções artesanais, pode representar uma importante fonte de contaminação do queijo por esses microrganismos.

A falta de padronização na salga dos queijos pode afetar diretamente o teor de sal no soro-fermento (PIMENTEL FILHO *et al.*, 2005), e consequentemente, a sua microbiota. A alta contaminação no “pingo” ocorre devido ao fato do produtor colher este soro-fermento de queijos já contaminados, que passa a ser fonte de recontaminação constante das produções subsequentes.

Tabela 6: Contagens médias¹ de *E.coli*, coliformes totais e bactérias lácticas em soro-fermento, antes e após o treinamento em BP, Uberlândia, MG (julho a dezembro, 2012).

Microrganismos	ANTES (n=4)	DEPOIS (n=6)
<i>E. coli</i> NMP/100mL	940	>1100
Coliformes totais NMP/100mL	1100	>1100
Bactérias lácticas UFC.mL ⁻¹	$3,3 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$

¹ Contagens em triplicata; BPF – boas práticas

O soro-fermento possui como principal função agregar uma microbiota desejável aos queijos. Essa microbiota desejável deve ser capaz de exercer as funções do fermento *starter* e não *starter*, que é utilizado na forma liofilizada em produções industriais. Deve ser capaz de fermentar rapidamente a lactose, utilizar o lactato na produção de compostos que contribuem para o *flavor*, e ainda, competir com microrganismos deteriorantes ou patógenos, controlando ou reduzindo sua população (SILVA, 2007). O soro-fermento utilizado pelos produtores de Uberlândia, apesar da presença de coliformes, apresentou predominância de bactérias lácticas, com contagem média de $2,1 \times 10^6$ UFC.mL⁻¹, e provavelmente, exerceu alguma das funções esperadas, como a inibição de alguns contaminantes indesejáveis por exclusão competitiva.

Coliformes totais foram detectados na mão dos manipuladores em 8/10 (80%) das amostras analisadas e *Staphylococcus* coagulase positiva em 5/10 (50%) (Tabela 7). Segundo Medeiros (2013) as mãos são uma das principais fontes de contaminação por *Staphylococcus* sp. nos queijos.

Foram observadas maiores percentuais de amostras positivas para ambos os microrganismos analisados nas mãos dos manipuladores após o treinamento em boas práticas. Este resultado não era esperado, mas reflete a realidade de treinamentos esporádicos, sem monitoramento posterior ou possibilidade de alguma forma de “vantagem” ou “desvantagem” pelos produtores. Indicando, que isoladamente, treinamentos não são suficientes para alteração significativa no comportamento dos produtores. O mesmo foi observado por Araújo (2004), que entrevistou produtores de queijos artesanais e, constatou que 43% (16/37) mesmo já havendo participado de algum tipo de treinamento, não utilizavam o conhecimento aprendido na sua prática diária.

Tabela 7: Presença/ausência de *Staphylococcus* coagulase positiva e coliformes totais em mãos de manipuladores de queijos artesanais, antes e após treinamento em BP, Uberlândia, MG (julho a dezembro, 2012).

		S.C.P.	Coliformes totais
Antes	1	-	-
	2	-	-
	3	-	+
	4	-	+
	5	+	+
Após	6	-	+
	7	+	+
	8	+	+
	9	+	+
	10	+	+

S.C.P. – *Staphylococcus* coagulase positiva; (+) positivo; (-) negativo; BP: boas práticas

Produtor A: amostras 1,3,5,7,9; Produtor B: amostras 2,4,6,8,10.

Os resultados das análises realizadas nas amostras ambientais, coletadas do balde, bancadas, prateleira e formas utilizadas para a fabricação dos queijos estão descritos nas Tabelas 8.

Tabela 8: Contagens médias de bioindicadores em amostras ambientais colhidas¹ em dois produtores de queijos artesanais antes e após treinamento em boas práticas, Uberlândia, MG.

Local coletado	MESÓFILAS (UFC/cm ²)			<i>E. coli</i> (NMP/cm ²)		
	Antes (n=4)	Após (n=6)	GERAL	Antes (n=4)	Após (n=6)	GERAL
Bancada	$2,8 \times 10^3$	$7,3 \times 10^4$	$3,8 \times 10^4$	5,1	3,1	4,1
Prateleira	$7,9 \times 10^5$	$2,8 \times 10^5$	$5,3 \times 10^5$	280	120	200
Balde de leite	$8,6 \times 10^2$	$9,2 \times 10^3$	5×10^3	3,0	5,3	4,1
Forma de queijo	$2,6 \times 10^5$	$1,4 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	280	3,1	140

¹ – Períodos de coleta: julho, agosto, setembro, outubro, novembro de 2012.

E. coli foi identificada em todas as amostras, sendo as maiores contagens observadas nas prateleiras de madeira utilizada para a maturação dos queijos. Apesar de os resultados indicarem redução nas contagens após o treinamento em boas práticas, essa não foi suficiente para prevenir sua presença. Estes resultados indicam que a higienização das superfícies não está sendo adequadamente executada e que são fontes constantes para a contaminação do leite e do queijo.

As contagens de bactérias heterotróficas mesófilas não foram modificadas pelo treinamento em boas práticas. A prateleira de madeira foi também a superfície que apresentou as maiores contagens. Este resultado era esperado por diferentes motivos: 1) transferência da microbiota dos queijos para a superfície (incluindo bactérias lácticas; 2) sempre há queijos em maturação, o que compromete a higienização, e; 3) prateleiras de madeira.

O uso de equipamentos e utensílios de materiais inadequados como madeira ou outros que também são porosos propicia a manutenção da contaminação por serem de difícil higienização. Materiais como a madeira, podem favorecer a formação de biofilmes e tornar-se uma fonte constante de contaminação dos queijos (MARTINS, 2006). Contudo, a utilização de utensílios de madeira é uma prática tradicional na produção artesanal de queijos, estando ligada a fatores culturais difíceis de serem modificados (GUEDES NETO, 2004). Além disso, de acordo com a Portaria nº518 de 2002 as prateleiras para maturação dos queijos poderão ser constituídas de madeira, plástico ou outro material aprovado pelo IMA (MINAS

GERAIS, 2002b).

Algumas condições não conformes foram observadas nas propriedades avaliadas, incluindo: qualidade da água utilizada na higienização dos equipamentos e utensílios de ordenha, o uso de leite de outras propriedades, falta de controle no tempo decorrido entre a ordenha e a fabricação dos queijos, incluindo neste último item, a falta de registros. Também foi observada, por meio de análises, altas contagens de bioindicadores no leite, soro-fermento e superfícies de equipamentos e utensílios, além da presença de *E. coli* e *Staphylococcus coagulase* positiva nas mãos dos manipuladores. Todas estas situações são fontes de contaminação para os queijos, que necessitam de controle.

Monitoramento e fiscalização das práticas envolvidas na obtenção e armazenamento do leite utilizado e na fabricação de queijos artesanais são obrigatórios para prevenir a presença de deteriorantes e patógenos no alimento ofertado ao consumidor. Uma vez que o processo de fabricação não é suficiente para garantir a qualidade dos queijos.

Os resultados obtidos neste estudo aliado ao de Araújo (2004) reforçam a necessidade de treinamentos contínuos, monitoramento e fiscalização na produção higiênica do leite, particularmente em produtores de queijos artesanais, onde não há nenhuma etapa posterior capaz de garantir individualmente, a produção de queijos que não levem riscos ao consumidor.

4.4.2 Avaliação microbiológica dos queijos

A avaliação quantitativa dos microrganismos exigidos pela Lei Estadual nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002 e sua alteração pelo Decreto Estadual nº 44.864, de 1º de agosto de 2008 (MINAS GERAIS, 2002; 2008) é constituída por: coliformes totais, *E. coli* e *Staphylococcus coagulase* positiva foram realizadas (Tabelas 9 e 10). Os resultados qualitativos para a presença em 25g do queijo para *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp., exigidos pela legislação (MINAS GERAIS, 2002) estão apresentados de forma descritiva no texto. Pesquisou-se além destes, bolores e leveduras, microrganismos deteriorantes, que estão relacionados principalmente com a vida útil do produto(Tabela 9).

A presença de *Listeria monocytogenes* não foi observada em nenhuma das amostras de queijo e *Salmonella* spp. foi detectada em somente uma das amostras (1/40). Esta amostra foi analisada no primeiro dia de maturação e era proveniente do terceiro lote analisado após o treinamento para BPF.

A baixa incidência ou a não identificação de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. têm sido observadas em queijos artesanais em diferentes estudos realizados no Brasil, apesar do uso de leite não pasteurizado para a fabricação. Em regiões típicas de fabricação desse queijo no Brasil, como Serro e Canastra, não foi identificada a presença de *L. monocytogenes* (DORES, 2007; MARTINS, 2006; RESENDE, 2010).

Martins (2006) encontrou somente 2/112 (1,79%) amostras positivas para *Salmonella* sp. em queijos artesanais produzidos na região do Serro-MG. Estas amostras eram de queijos maturados por 8 e 15 dias em refrigeração e provenientes de um mesmo produtor, dentre os oito estudados. Já em queijos artesanais maturados em temperatura ambiente em Montes Claros, em 2/18 (11,11%) amostras, este patógeno estava presente aos oito dias de maturação (LEMPK, 2013).

Assim, apesar da eventual presença em queijos artesanais, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp. são de baixa incidência nesta matriz alimentar, apesar de o leite utilizado na fabricação não ser submetido à pasteurização. Provavelmente, a ausência ou baixo número destes patógenos em queijos artesanais seja consequência de exclusão competitiva e produtos metabólicos da microbiota endógena produzidos durante a fermentação e maturação. Estes fenômenos foram também descritos por Guedes Neto *et al.*, (2005); Martins (2006); Dores (2007) e Santos (2010).

Guedes Neto *et al.* (2005) afirmam que a competitividade das bactérias do ácido láctico (BAL) durante o processo de maturação pode resultar na redução ou ausência de alguns patógenos. Segundo os autores, o efeito das BAL está associado à produção de ácido láctico, consequente redução de pH, produção de peróxido de hidrogênio, síntese de substâncias antimicrobianas, bacteriocinas e redução do açúcar disponível e do potencial de oxi-redução. A interferência de uma microbiota mista e variada, com bactérias lácteas, enzimas e substâncias

antimicrobianas tornando o ambiente impróprio para a sobrevivência de *Salmonella* e *L. monocytogenes* também são comentados por Dores (2007) e Santos (2010).

Particularmente, bactérias do gênero *Salmonella* são sensíveis ao baixo pH e podem ser inibidas em valores abaixo de 4,0, mas, dependendo da espécie, valores de pH menores que 5,5 são suficientes para a sua eliminação (FRANCO e LANDGRAF, 1996). Assim, mesmo se presente nos períodos iniciais da maturação, como observado em uma amostra neste estudo, este microrganismos pode não ser mais detectado ao longo da maturação. Segundo Martins (2006), o acúmulo de ácido lático no meio e os baixos valores de pH durante a maturação sem refrigeração de queijos fabricados com leite cru favorece o metabolismo das bactérias do ácido lático e o acúmulo de metabólitos que serão responsáveis pela inibição e eliminação de alguns microrganismos patogênicos (MARTINS, 2006).

Pesquisas têm também demonstrado que a atividade antimicrobiana das bactérias lácticas atuam inibindo microrganismos patogênicos como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella* sp. (MORENO et al., 2000; ALEXANDRE et al., 2002; MACEDO et al., 2004).

Além das bactérias do ácido lático, as altas contagens de microrganismos bioindicadores em queijos artesanais também podem contribuir para a baixa incidência, ou não sobrevivência de patógenos como *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*. Bioindicadores como o grupo coliforme competirão pelos nutrientes presentes na matriz láctea e também produzirão ácido lático e outros metabólitos que se acumularão no queijo durante a maturação. Na única amostra positiva para *Salmonella* neste estudo, as contagens de coliformes totais e *E. coli* foram respectivamente, $5,1 \times 10^4$ UFC.g⁻¹ e 9×10^2 UFC.g⁻¹.

As contagens de bioindicadores, antes e após treinamento em boas práticas, em queijos artesanais produzidos em Uberlândia maturados em temperatura ambiente por até 26 dias podem ser observadas na Tabela 9.

As contagens de coliformes totais e *E. coli* diminuíram significativamente nos queijos fabricados após o treinamento e implantação de boas práticas na produção do leite e fabricação dos queijos ($p < 0,05$). Provavelmente, a redução nas contagens sejam consequências da implantação de práticas higiênico-sanitárias adequadas na produção do leite e na fabricação, já que as contagens destes microrganismos no

leite teve a mesma tendência (Tabela 5). A contaminação nos queijos, principalmente nos períodos iniciais da maturação são consequentes do somatório da contaminação inicial do leite e da manipulação. Posteriormente, outros fatores irão interferir na sua multiplicação, como o tempo e a temperatura, presença de competidores, entre outros.

Resultado semelhante ao deste estudo foi encontrado por Resende (2010) que observou redução ($p<0,05$) na contagem de coliformes totais e *E. coli* em queijos produzidos em queijarias cadastradas em serviços de inspeção, e consequentemente, com implantação de boas práticas. Esse autor concluiu que a adoção de boas práticas agropecuárias e de produção exigidas ao longo do processo de cadastramento da queijaria teria contribuído positivamente na diminuição das contagens de coliformes a 30°C e coliformes a 45°C no queijo.

Tabela 9: Contagens médias ($n=120$) de coliformes totais, *E. coli* e bolores e leveduras (Log UFC.g^{-1}) ao longo da maturação, em queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG, antes ($n=48$) e após ($n=72$) treinamento de BP (julho a dezembro de 2012)

Dias de maturação	<i>E. coli</i>		Coliformes 35°C		Bolores e Leveduras	
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após
1	5,58 ^a	3,41 ^b	6,88 ^a	3,86 ^b	5,18 ^a	4,71 ^a
3	3,62 ^a	2,71 ^b	6,14 ^a	2,73 ^b	5,47 ^a	5,43 ^a
5	4,85 ^a	2,19 ^b	5,50 ^a	2,27 ^b	5,43 ^a	5,89 ^a
8	3,36 ^a	2,21 ^b	5,24 ^a	2,48 ^b	5,29 ^a	6,04 ^a
10	4,13 ^a	2,19 ^b	4,88 ^a	2,62 ^b	5,29 ^a	5,61 ^a
12	4,12 ^a	2,00 ^b	5,99 ^a	2,14 ^b	5,62 ^a	5,78 ^a
15	3,54 ^a	2,00 ^b	4,19 ^a	2,18 ^b	5,58 ^a	5,61 ^a
17	2,78 ^a	2,00 ^b	3,72 ^a	2,14 ^b	5,68 ^a	5,52 ^a
19	3,99 ^a	2,00 ^b	4,67 ^a	2,00 ^b	4,61 ^a	5,78 ^a
22	2,85 ^a	2,00 ^b	3,80 ^a	2,00 ^b	5,30 ^a	5,24 ^a
24	2,41 ^a	2,00 ^b	2,42 ^a	2,00 ^b	5,91 ^a	5,13 ^a
26	2,18 ^a	2,00 ^b	2,72 ^a	2,00 ^b	4,95 ^a	5,26 ^a

Letras diferentes entre colunas antes e após indicam diferença significativa pelo test t ($p<0,05$). BP-boas práticas de ordenha, fabricação e manipulação.

A redução dos números de *E. coli* e coliformes totais após o treinamento em boas práticas foram gradativas e influenciadas pelos dias de maturação ($p<0,05$)

(Figuras 12 e 13). Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Martins (2006) e Dores (2007).

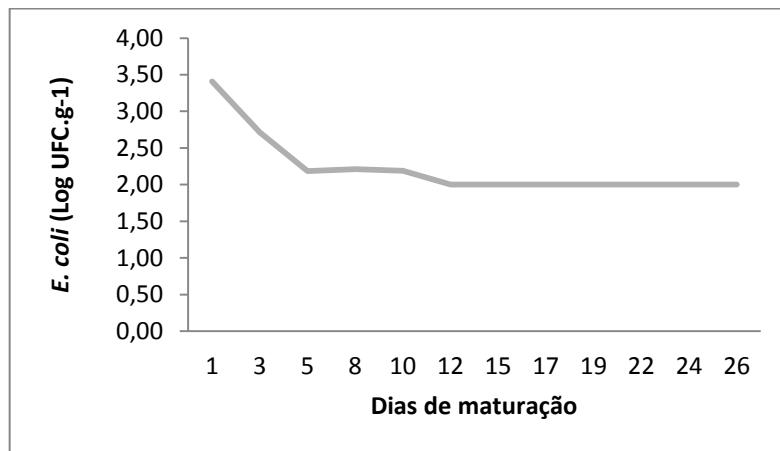


Figura 12: Contagens médias de *E. coli* (Log UFC.g⁻¹) ao longo da maturação, após treinamento em BP, Uberlândia-MG.

Apesar da redução acentuada das contagens médias de *E. coli* aos cinco dias de maturação, somente após 12 dias, as contagens atingiram o padrão legal exigido, que é de no máximo 10^2 UFC.g⁻¹ (MINAS GERAIS, 2008).

Assim como para as contagens de *E. coli*, os números de coliformes totais foram acentuadamente reduzidos aos cinco dias de maturação em temperatura ambiente, mas já aos três dias, atingiu os padrões preconizados pela legislação, que é de no máximo 10^3 UFC.g⁻¹ (MINAS GERAIS, 2008). Este período de maturação, suficiente para a redução a níveis aceitáveis de coliformes totais só foi observado ao final de sete semanas por Santos (2010). Já Martins (2006) verificou que eram necessários seis dias para a redução das contagens em dois ciclos log. Neste estudo, a redução nos números de *E. coli* e coliformes totais aos cinco dias de maturação foi de aproximadamente um ciclo Log.

Antes do treinamento e introdução de BP nas propriedades, apesar de haver redução nas contagens, os números máximos tolerados pela legislação para coliformes totais e *E. coli* só foram atingidas aos 3 e 12 dias de maturação, respectivamente.

A adequação do número de coliformes totais e *E. coli* exigidos na legislação (MINAS GERAIS, 2008) obtidos neste estudo e sua relação com os dias de

maturação, parece não ser, isoladamente, um critério a ser considerado para garantir a qualidade dos queijos artesanais. Dados obtidos em outros estudos demonstram que outros fatores influenciam na redução destes microrganismos. Dores (2007) verificou que até o oitavo dia de maturação todos os queijos Minas artesanais apresentavam contagens não conformes para *E. coli* e coliformes totais.

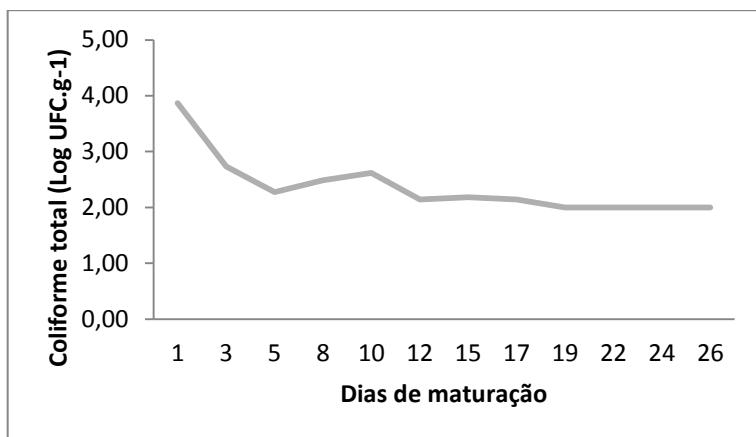


Figura 13: Contagens médias de coliformes totais (Log UFC.g-1) ao longo da maturação, após o treinamento em BP, Uberlândia-MG.

O Decreto nº 44.864, de 1º de agosto de 2008 (MINAS GERAIS, 2008) que altera o Regulamento da Lei n. 14.185, de 31 de janeiro de 2002, dispõe sobre o processo de produção do queijo Minas artesanal. Neste decreto, um dos parâmetros preconizados para a comercialização deste alimento é que atinja a umidade de 45,9%. As diferenças entre as contagens de *E. coli* e coliformes totais ($p<0,05$) obtidas neste estudo, antes e após atingir a umidade de 45,9% podem ser observadas nas figuras 14 e 15.

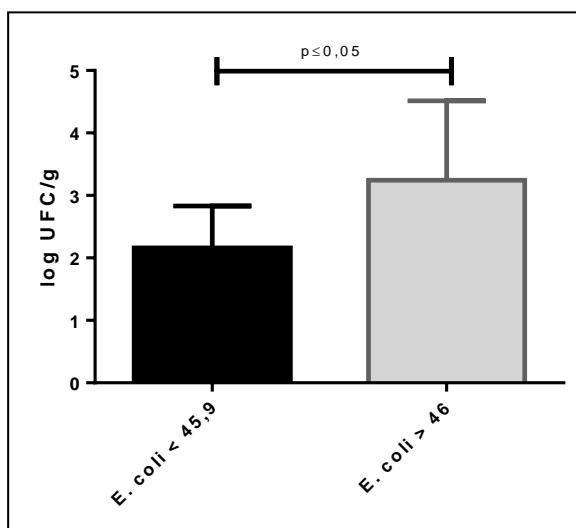


Figura 14: Contagens médias de *E.coli* (Log UFC.g⁻¹) em queijos artesanais produzidos em Uberlândia-MG, antes e após atingir umidade menor que 45,9%.

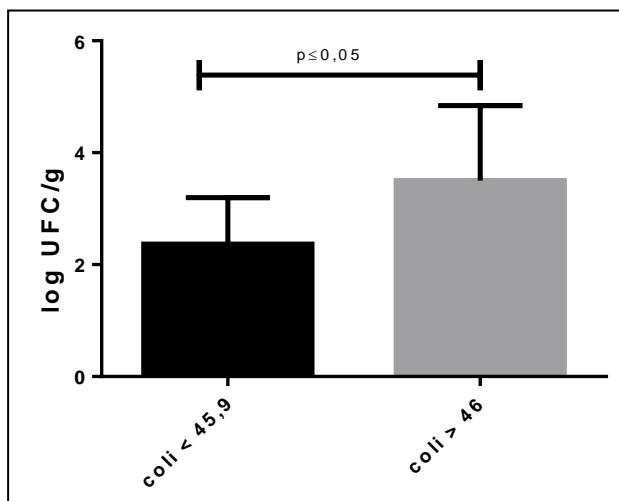


Figura 15: Contagens médias de coliformes totais (Log UFC.g⁻¹) em queijos artesanais produzidos em Uberlândia-MG, antes e após atingir umidade menor que 45,9%.

A redução da umidade em porcentagens $\leq 45,9$ influencia significativamente ($p<0,05$) na diminuição das contagens de *E. coli* e coliformes totais. Apesar disso, não foi suficiente para que todas as amostras se adequassem ao padrão preconizado pela legislação (MINAS GERAIS, 2008). Considerando todas as amostras analisadas, os padrões para coliformes totais foram atingidos quando a umidade dos queijos atingiu 40,4%, e para *E. coli* ocorreu com 31,7%.

A orientação de boas práticas na obtenção do leite e fabricação dos queijos não influenciou nas contagens de bolores e leveduras nos queijos (Tabela 9). Não há exigência legal para a contagem ou padrões para estes microrganismos na legislação vigente, provavelmente, por serem deteriorantes mais relacionados à vida de prateleira e aparência dos queijos que pelo risco a saúde dos consumidores. Resende (2010) afirma que a contaminação do queijo por bolores e leveduras sugere falhas nos procedimentos de higiene no ambiente, sobretudo do ar, por isso não teve significativa diferença entre antes e após o treinamento.

Nos últimos anos, há um interesse crescente por produtos alimentícios não industrializados e mais naturais, produzidos sem o uso de aditivos, como é o caso dos queijos artesanais. Estes produtos são considerados por parte da população como mais naturais, e consequentemente, mais saudáveis. Entretanto, a produção artesanal de queijos seguros microbiologicamente, é um desafio, uma vez que vários patógenos podem estar presentes e representar risco ao consumidor (ROLA *et al.*, 2013). Dentre os perigos microbiológicos relacionados ao consumo de queijos artesanais, destacam-se *S. aureus* e suas toxinas.

Neste estudo, o treinamento para implantação de boas práticas na produção do leite e fabricação dos queijos e o tempo de maturação não foi suficiente para reduzir os números de *Staphylococcus coagulase positiva* ($p>0,05$). As contagens apresentaram alta variabilidade e não houve correlação entre as contagens e o tempo de maturação de queijos (Tabela 10 e Figura 16).

Tabela 10: Contagens médias de *Staphylococcus* coagulase positiva ao longo da maturação em queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG, antes e após treinamento em BP (julho a dezembro de 2012).

Dias de maturação	Log UFC.g ⁻¹	
	Antes	Após
1	1,00 ^a	1,57 ^a
3	2,47 ^a	2,34 ^a
5	1,92 ^a	3,42 ^a
8	1,00 ^a	1,57 ^a
10	1,00 ^a	2,80 ^a
12	2,03 ^a	3,08 ^a
15	1,00 ^a	2,66 ^a
17	1,00 ^a	1,53 ^a
19	2,62 ^a	1,43 ^a
22	2,31 ^a	1,79 ^a
24	2,23 ^a	2,84 ^a
26	3,51 ^a	1,00 ^a

Letras diferentes entre colunas antes e após indicam diferença significativa ($p<0,05$).

BP – boas práticas na ordenha, fabricação e manipulação.

A Lei Estadual nº14.185 de 2002 preconiza que a contagem máxima tolerável para *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos artesanais é de ≤ 100 UFC/g (2 Log UFC/g) (MINAS GERAIS, 2002). Este limite só foi observado na totalidade de amostras analisadas após 26 dias de maturação, e somente nos queijos produzidos após a implantação de boas práticas. Contagens acima das permitidas para estes microrganismos também foram observadas em queijos Minas artesanais comercializados em feiras livres de Uberlândia (REZENDE et. al., 2010). Estes autores também não encontraram diferença significativa entre as contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos produzidos em queijarias cadastradas e não cadastradas. Santos (2010) observou resultado semelhante ao deste estudo em queijos artesanais produzidos na microrregião do Serro. Concluiu que pelo fato de a redução microbiana não apresentar-se contínua ao longo da maturação, não é possível estipular um período que garanta a segurança do consumo de queijos artesanais.

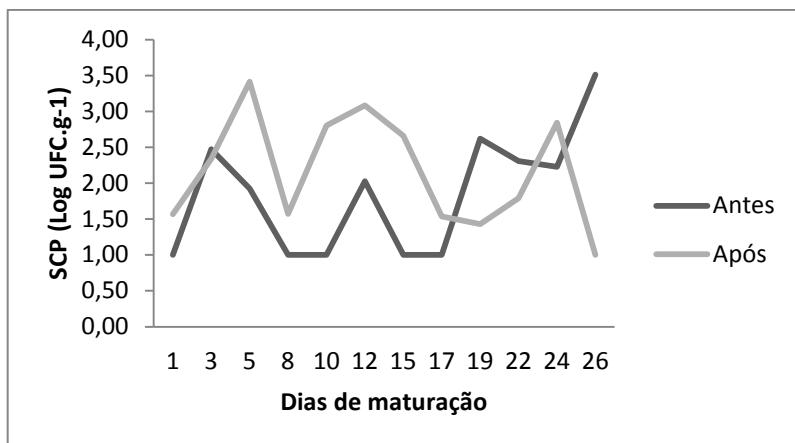


Figura 16: Contagens médias de (Log UFC.g^{-1}) *Staphylococcus* coagulase positiva ao longo da maturação em queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG, antes e após treinamento em BP (julho a dezembro de 2012).

Resultado contrário ao encontrado neste estudo foi relatado por Tunç e Hos (2012) que determinaram valores logarítmicos para redução de *Staphylococcus aureus* durante a maturação de queijos brancos e calcularam os tempos de sobrevivência. Os autores verificaram que os valores de *S. aureus* nas amostras analisadas entre sete e 63 dias de maturação foram menores do que nos queijos maturados por até sete dias.

Um estudo desenvolvido por Rola e colaboradores (2013), demonstrou que a qualidade do leite cru e a higiene das pessoas envolvidas no processo de produção tem um grande impacto sobre a qualidade microbiológica do queijo. O referido estudo revelou que o queijo produzido de forma artesanal, feito a partir de leite cru, nem sempre satisfaz os critérios de higiene de produção, pois *S. aureus* foi detectado em 77,8% das amostras. Tais autores observaram a ocorrência do microrganismo em 44,4% das amostras de leite bovino cru e a contaminação no início do processo de produção causou sua disseminação para equipamentos e ambiente. Ainda demonstrou que os níveis de contaminação por *S. aureus* observados em diferentes tipos de amostras como de leite cru e coalhada tendiam a aumentar, enquanto que em amostras de grãos de coalhada após a enformagem do queijo, os níveis permaneceram estáveis. No entanto, em amostras coletadas na fase de prensagem, a contaminação com *S. coagulase* positiva aumentou novamente e começou a diminuir após sete dias de maturação. Como após 10

semanas de maturação a bactéria não foi mais detectada, os autores concluíram que *S. aureus* diminuiu durante a maturação de queijo. Estes resultados não podem ser diretamente comparados aos obtidos nos queijos fabricados em Uberlândia, já que os queijos só foram analisados até 26 dias de maturação, que é de aproximadamente quatro semanas.

A legislação estadual preconiza uma umidade mínima de 45,9% como critério para a comercialização de queijos artesanais (MINAS GERAIS, 2008). A redução a estes níveis não foi suficiente para que os queijos atingissem a contagem máxima tolerada para *Staphylococcus coagulase* positiva. A atividade de água é um fator intrínseco importante que direciona o crescimento de microrganismos nos alimentos (JAY, 2005). Fox e colaboradores (2004) afirmam que devido ao fato do queijo ser um produto da concentração do leite (proteína, gordura e sais minerais), durante a maturação há uma redução da atividade de água, particularmente pela perda de água que também concentra o sal adquirido durante a salga. Além disto, há formação de ácido lático pelas bactérias, o que contribui para a preservação do produto, e tem-se a redução do potencial de óxido-redução e a presença de bacteriocinas produzidas pelas bactérias iniciadoras que restringem ou inibem o crescimento de microrganismos *non-starter*. O cloreto de sódio (NaCl) é um ingrediente importante na diminuição da atividade de água e aumento de vida útil dos produtos. Além disso, o NaCl contribui para complementação da dessoragem no queijo, o que favorece a liberação da água livre da massa; formação de casca no queijo; seleção da microbiota do queijo e controle de microrganismos deterioradores e patógenos; além de controlar a atividade enzimática que atua na definição de textura e aromas dos queijos (McSWEENEY, 2004).

No entanto, a perda de umidade associada ao aumento da concentração de NaCl não foram suficientes para redução das contagens de *Staphylococcus coagulase* positiva nos queijos produzidos em Uberlândia. Tanto as contagens realizadas antes quanto após o treinamento de boas práticas, não apresentaram redução significativa na contagem do microrganismo.

A principal fonte de contaminação do leite por *Staphylococcus* é a mastite, já que este é o agente mais prevalente na infecção de bovinos (PINHEIRO DE SÁ et al., 2004; FREITAS et al., 2005; BANDEIRA et al., 2013). O leite cru e os produtos

produzidos a partir do leite cru são frequentemente contaminados com diferentes cepas de *Staphylococcus aureus* (ROSENGREN *et al.*, 2010). Essas cepas são isoladas desde a pele do úbere e tetos, feridas e mucosa dos animais, até equipamentos de ordenha, piso e maçanetas (JØRGENSEN *et al.*, 2005a). Contaminação por manipuladores humanos também é possível (JØRGENSEN *et al.*, 2005b). Na Escócia, *S. aureus* foi o mais frequente patógeno isolado em queijos produzidos a partir de leite cru (WILLIAMS e WITHERS, 2010). Assim, a contaminação do leite e a manipulação inadequada podem contribuir no aumento do número destes microrganismos nos queijos artesanais (ARAÚJO, 2004).

De acordo com Tunç e Hos (2012) fatores tais como cultura *starter*, concentração de sal, temperatura, duração e condições de armazenamento podem afetar a qualidade microbiológica do queijo que será maturado. Assim, a presença de bactérias leva a deformação ou destruição do queijo, o que resulta na diminuição da qualidade do produto final, e a presença de *Staphylococcus aureus* é um problema adicional devido ao impacto negativo sobre a saúde humana.

No caso das propriedades estudadas, os níveis de contaminação podem ter sido potencializados pela aquisição de leite de outras propriedades, já que nesta situação, é difícil o controle sanitário do rebanho e da higiene da ordenha. Adicionalmente, observou-se que por tratar-se de uma produção familiar, o ordenhador é também o queijeiro e o responsável pelas outras atividades relacionadas como a viragem e embalagem dos queijos, o que favorece a contaminação cruzada.

Mesmo o consumo dos queijos em que os números de *Staphylococcus coagulase positiva* são reduzidos a níveis aceitáveis após determinado período de maturação representam perigo ao consumidor. Muitas cepas possuem a capacidade de produzir enterotoxinas e as condições de manutenção dos queijos artesanais favorecem sua produção.

Independente da temperatura ótima de multiplicação dos microrganismos, a produção de enterotoxinas estafilocócicas são favorecidas pelo aumento da temperatura (ótimo a 37°C), pH neutro (ótimo a 6,5 – 7,5), alta atividade de água (ótimo a 0,99), condições atmosféricas (aeróbicas e anaeróbicas) e microbiota concorrente (geralmente só há produção de enterotoxina quando a contaminação

inicial for elevada) (BERGDOLL, 1990). Estas condições são facilmente observadas em queijos artesanais, particularmente nos períodos iniciais da produção e quando há baixa atividade de bactérias lácticas. Dependem também das práticas de produção destes queijos, onde normalmente não há padronização, com consequente variação da umidade e do teor de sal, que podem resultar em maior atividade de água.

Na literatura são encontrados relatos que mesmo em períodos mais avançados de maturação, e em condições adversas, *S. aureus* pode estar presente em queijos. Bautista *et al.* (1986) em estudo em queijo branco produzido a partir de leite cru, relataram que durante o período de armazenamento deste queijo, o número de *Staphylococcus aureus* pode aumentar e gerar risco de intoxicação alimentar. Abdalla *et al.* (1993) determinou que *Staphylococcus aureus* pode sobreviver por 30 dias no queijo branco mantido em água salgada. Tunç e Hos (2012) observaram que *Staphylococcus aureus* podem sobreviver durante longo período de tempo na produção de queijo branco, demonstrando que o microrganismo é tolerante a ambientes adversos, tais como água salgada e temperaturas específicas de armazenamento. Para minimizar o risco que representa para a saúde humana, os autores afirmam que o queijo não deve ser consumido antes do completo período de maturação, que para este produto é de 63 dias de armazenamento.

As enterotoxinas estafilocócicas são termoestáveis e o aquecimento posterior do alimento em condições usuais não torna seu consumo seguro (SILVA *et al.*, 1997).

Adicionalmente aos riscos à saúde decorrentes da produção de enterotoxinas, *Staphylococcus* spp. é intrinsecamente capaz de apresentar resistência aos antimicrobianos ou adquirir genes de resistência de outros microrganismos por meio da recombinação gênica (BERNARD *et al.*, 2004; LIMA *et al.*, 2005). Assim, mesmo que a ingestão não represente um perigo direto, já que o quadro alimentar clássico é caracterizado por uma intoxicação, o contato com bactérias resistentes representam um risco adicional. A possível transferência de bactérias resistentes aos antimicrobianos tem mobilizado esforços de controle por parte de várias instituições internacionais, incluindo WHO (World Health Organization), OIE (World Organization for Animal Health) e Codex Alimentarius, principalmente devido: infecções de difícil controle e transferência dos genes de resistência para microrganismos de origem

humana, incluindo a microbiota endógena (BRASIL, 2008a).

4.5 Sensibilidade do *Staphylococcus coagulase positiva* aos antimicrobianos

Korb e colaboradores (2011) apontam a mastite como a principal causa da utilização de antimicrobianos na bovinocultura leiteira (40,4% do total do consumo), e pesquisas apontam que *Staphylococcus aureus* é o agente etiológico mais prevalente (PINHEIRO DE SÁ et al. 2004, FREITAS et al., 2005).

Neste estudo, foram isoladas e identificadas 77 estirpes de *Staphylococcus coagulase positiva* dos queijos. A Tabela 11 apresenta os resultados obtidos pelo teste de sensibilidade aos antimicrobianos para as 77 cepas de *Staphylococcus coagulase positiva*. Os maiores percentuais de resistência, considerando também os isolados com resistência intermediária, foram para os antimicrobianos da classe dos β -lactâmicos sub-classe das penicilinas (penicilina G e ampicilina). Para penicilina G foram encontradas 48 cepas resistentes (62,34%) e para ampicilina 42 (54,55%). Para eritromicina, antimicrobiano da classe dos macrolídeos, houve 34 cepas resistentes (44,15%), seguido da oxacilina, também um antimicrobiano da classe dos β -lactâmicos sub-classe das penicilinas, com 25 cepas resistentes (32,47%). Para azitromicina e clindamicina houve menores percentuais de resistência com 20,77% e 9,09%, respectivamente. Os antimicrobianos que demonstraram maior eficiência contra os *Staphylococcus coagulase positiva* foram gentamicina e sulfazotrim, com 98,7% de cepas sensíveis para cada antibiótico. Resultados semelhantes aos trabalhos de Zafalon (2008) quanto à resistência para penicilina, que foi de 63,3%. No entanto para eritromicina, azitromicina e clindammina as resistências foram menores de 0,7%, 3,4% e 4,8% respectivamente. Gandra (2009), também avaliando a resistência de SCP obteve um resultado maior para penicilina, ampicilina e clindamicina que foram de 100%, 100% e 18,2%, já para oxacilina e eritromicina as porcentagens foram menores, 9,1% e 18,2%.

Tabela 11: Susceptibilidade aos antimicrobianos de *Staphylococcus* coagulase positiva isoladas de queijos artesanais produzidos em Uberlândia, MG.

CLASSE	ANTIMICROBIANO	NÚMERO DE CEPAS n (%)		
		RESISTENTE	INTERMEDIÁRIO	SENSÍVEL
β -lactâmico (penicilinas)	Penicilina G (10U)	48 (62,34%)	0 (0%)	29 (37,66%)
	Ampicilina (10 μ g)	42 (54,55%)	0 (0%)	35 (45,45%)
	Oxacilina (1 μ g)	25 (32,47%)	0 (0%)	52 (67,53%)
Macrolídeo	Eritromicina (15 μ g)	14 (18,18%)	20 (25,97%)	43 (55,84%)
	Azitromicina (15 μ g)	12 (15,58%)	4 (5,19%)	61 (79,22%)
Lincosamida	Clindamicina (2 μ g)	6 (7,79%)	1 (1,3%)	70 (90,91%)
Aminoglicosídeo	Gentamicina (10 μ g)	1 (1,3%)	0 (0%)	76 (98,7%)
Inibidor da via folato	Sulfazotrim (25 μ g)	1 (1,3%)	0 (0%)	76 (98,7%)

De acordo com o CLSI (2013) *S. aureus* resistentes a oxacilina são considerados resistentes a outros agentes β -lactâmicos, pelo fato de muitos casos de infecções por este microrganismo terem respondido fracamente a terapia com outros antimicrobianos desta classe. Este fato pode explicar os altos percentuais de resistência observados dentro deste grupo.

A penicilina é um dos antimicrobianos mais utilizados no tratamento de enfermidades animais, bastante utilizado na pecuária leiteira, portanto, é de se esperar que exerça uma grande pressão de seleção sobre os microrganismos. Estudo desenvolvido por Korb (2011) revelou que 24% dos produtores afirmaram usar constantemente esse medicamento, principalmente para o tratamento de mastites. Segundo o autor, na Dinamarca, o uso de penicilina foi proibido na cadeia leiteira, pelo fato de ser usado no controle de infecções humanas.

Vários trabalhos têm demonstrado a resistência de *S. aureus* à penicilina. Cunha (2012) analisou 65 amostras de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos. Destas 50 foram sensíveis aos antimicrobianos analisados (oxacilina, penicilina e vancomicina) e 15 (23,08%) apresentaram resistência apenas à penicilina. Andrade (2012) avaliaram 75 cepas de *S. aureus* isolados de leite com mastite subclínica no Distrito Federal e observaram que as bases farmacológicas que tiveram maior porcentagem de isolados resistentes foram penicilina (71,2%), ampicilina (52,9%) e enrofloxacina (39,9%). Já as bases que obtiveram maior sensibilidade foram gentamicina (79,8%), neomicina (76,9%), norfloxacina (76,9%),

cefalexina (74,1%), cefazolina (74,1%), lincomicina (74,1%), oxacilina (74,1%), tetraciclina (74,1%), tobramicina (74,1%) e ceftiofur (71,2%). Percentuais ainda maiores de resistência a penicilina foi relatado por Rapini e colaboradores (2004) em cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho, em que encontraram 100% de cepas resistentes.

Estudo realizado por Kobayashii *et al.* (2009) em isolados de *S. coagulase* positiva provenientes de amostras clínicas de pacientes em um hospital público de Goiânia, encontraram maiores percentuais de resistência, com 97,6% para penicilina, 70,4% para eritromicina, 68,5% para oxacilina, 62,9% para gentamicina e 53,5% para sulfazotrim. Apesar da origem das amostras ser diferente das amostras do presente estudo, este resultado alerta para o risco que este patógeno representa para a saúde humana, pelo fato de bactérias resistentes a antimicrobianos serem transmitidas ao homem pela ingestão de alimentos contaminados.

Dos antimicrobianos de primeira escolha, de acordo com CLSI (2012), para o tratamento de infecções causadas por *Staphylococcus* spp. em seres humanos (azitromicina, eritromicina, clindamicina, oxacilina, penicilina e sulfazotrim), apenas a penicilina têm apresentado baixa eficiência.

Como relação ao perfil de resistência dos isolados de *Staphylococcus* coagulase positiva observa-se que 31 (40,26%) isolados foram multirresistentes, por apresentarem resistência a três ou mais antibióticos. A maioria dos isolados apresentou resistência a três e cinco antimicrobianos (12 cepas – 15,58% cada), demonstrados na tabela 12 nos perfis A6, A7, A8 e A9, para cepas resistência a três antimicrobianos, e perfis A14, A15 e A16, para isolados resistentes a cinco antimicrobianos.

Segundo Sena (2000), a elevada resistência múltipla a antimicrobianos representa um risco potencial à saúde pública e pode dificultar o tratamento de doenças, agravando quadros clínicos potencialmente curáveis. Além disso, a resistência das bactérias presentes nos alimentos representa um risco adicional, já que por meio do consumo de produtos de origem animal, como o leite, ou por meio das eliminação vesicais e intestinais, partes das bactérias resistentes acabam se disseminando e ocasionando a resistência bacteriana nos seres humanos (KUTSZEPA *et al.*, 2009). A União Europeia viu-se obrigada a tomar um conjunto de

medidas destinadas a controlar o fenômeno da resistência aos antimicrobianos. Várias entidades, nacionais e internacionais, estão em alerta para este fenômeno, tendo já sido criadas estratégias para o combate às resistências (WHO, 2001; INSA, 2010).

Tabela 12: Distribuição das 77 cepas de *S. coagulase positiva* isoladas em queijos Minas artesanal, conforme 20 perfis de resistência.

Perfil	Resistência a antimicrobianos	Número de cepas resistentes
A1	Oxa	4
A2	Oxa; Pen	2
A3	Oxa; Amp; Pen	1
A4	Oxa; Amp; Pen; Eri	1
A5	Oxa; Pen; (Eri)	1
A6	Oxa; (Azi); Cli; Pen; (Eri)	2
A7	Oxa; Cli; Amp; Pen; Eri	1
A8	Oxa; (Azi); Cli; Amp; Pen; (Eri)	1
A9	Oxa; Azi; Amp; Pen; Eri	9
A10	Oxa; Azi; Eri	1
A11	Oxa; Azi; (Cli); Eri	1
A12	Oxa; Cli; Amp; Pen; Sut; Eri	1
A13	Oxa, Gen, (Azi), Cli, Amp, Pen, (Eri)	1
A14	Amp, Pen	16
A15	(Eri)	5
A16	Amp, Pen, (Eri)	9
A17	Azi, Amp, Pen, Eri	1
A18	Cli, Amp, Pen, (Eri)	1
A19	Azi	1
A20	Sem resistência	18
TOTAL		77

*Perfis entre parênteses: cepas com resistência intermediária aos antimicrobianos. OXA:oxacilina; AMP: ampicilina; PEN: penicilina; ERI: eritromicina; AZI: azitromicina; CLI: clindamicina; SUT: sulfazotrim; GEN: gentamicina.

Diversos estudos têm demonstrado aumento do padrão de resistência aos antimicrobianos por *S. coagulase positiva* (AARESTRUP *et al.*, 2008; FLEMING *et al.*, 2010). Muitas vezes, os antimicrobianos de uso veterinário são administrados por proprietários e tratadores sem nenhum critério técnico, o que pode levar a um erro de dosagem e duração do tratamento contribuindo para agravar os casos de resistência bacteriana (BRITO, 2006).

Tabela 13: Cepas de *S. coagulase* positiva resistentes à oxacilina que apresentaram resistência a outros antimicrobianos.

	Cepas resistentes à OXA	Tipo de resistência*
Cepas resistentes à PEN	19 (76%)	Cruzada
Cepas resistentes à AMP	14 (56%)	Cruzada
Cepas resistentes à ERI	18 (72%)	Associada
Cepas resistentes à AZI	14 (56%)	Associada
Cepas resistentes à CLI	6 (24%)	Associada
Cepas resistentes à SUT	1 (4%)	Associada

OXA: oxacilina; AMP: ampicilina; PEN: penicilina; ERI: eritromicina; AZI: azitromicina; CLI: clindamicina; SUT: sulfazotrim. * Classificação segundo KAHLMETER e MENDAY (2003).

A resistência cruzada é definida como a resistência aumentada a antimicrobianos dentro da mesma classe, enquanto a associada considera-se a resistência aumentada a drogas de diferentes classes (KAHLMETER e MENDAY, 2003). Conforme indicado na tabela 13 entre os isolados resistentes a oxacilina os maiores percentuais de resistência estavam associados a penicilina (76%), eritromicina (72%), ampicilina e azitromicina (56% cada), demonstrando a ocorrência tanto de resistência cruzada como associada neste estudo em relação aos isolados resistentes a oxacilina. A associação da resistência à oxacilina com a resistência aumentada a outros antimicrobianos é condizente com a literatura. Sadoyama e colaboradores (2000), ao compararem os isolados nosocomiais de *Staphylococcus* coagulase positiva, observaram um percentual de resistência elevada (>90%) para eritromicina, clindamicina, gentamicina e sulfametoxazol-trimetoprim entre os isolados resistentes a oxacilina. Kim e colaboradores (2004) verificaram uma maior resistência entre os isolados de *S. coagulase* positiva resistentes a oxacilina para a eritromicina (97,7%), gentamicina (95%), clindamicina (84,3%) e menor para sulfametoxazol-trimetoprim (8,9%).

O uso indiscriminado e/ou inadequado de antimicrobianos pode favorecer o aumento da resistência à droga em questão ou à outra relacionada, dificultando o controle de microrganismos multirresistentes (BERNARDES *et al.*, 2004). Dessa forma, a emergência de resistência a uma classe de antimicrobiano após exposição à outra diferente tem grande importância clínica (ALYASEEN *et al.*, 2005). As estratégias terapêuticas empíricas tem se tornado problemáticas em função da alta prevalência de *Staphylococcus* coagulase positiva resistentes à oxacilina

multirresistente (FLUIT *et al.*, 2001), nos quais a resistência a um determinado agente tem sido associada à resistência aumentada a antimicrobianos relacionados (resistência cruzada) e totalmente não relacionados entre si (resistência associada) (WIMMERSTEDT e KAHLMETER, 2008).

Ao correlacionar o tempo de maturação com o tamanho do halo no antibiograma verificou-se que o processo de maturação influencia na resistência do *Staphylococcus coagulase* positiva a alguns antimicrobianos.

Como pode ser observado na figura 17 o tamanho do halo para oxacilina diminui ao longo dos dias de maturação ($p<0,05$) e a partir do 19º dia a reta de tendência ($Y = -0,4012*X + 27,55$) se encontra abaixo da faixa que delimita o tamanho do halo de sensível a resistente. A leitura de halos com menos de 21 milímetros classifica o microrganismo como resistente a este antimicrobiano.

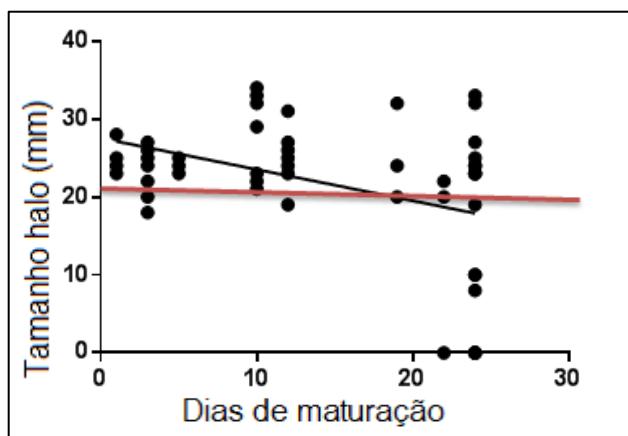


Figura 17: Correlação entre dias de maturação e tamanho do halo (mm) para o antimicrobiano oxacilina em teste de difusão com discos em *S. coagulase* positiva isolados de queijos artesanais, Uberlândia, MG.

De acordo com Novak (1999) e Soares (2010) a detecção da resistência à oxacilina por métodos fenotípicos em isolados de *Staphylococcus* spp. tem sido dificultada devido ao fenômeno da heteroresistência, onde duas populações, sensível e resistente, existem em uma mesma cultura. Estudos realizados por Aarestrup (2001) relataram que o fenótipo de heteroresistência pode estar relacionado com a temperatura de incubação, tamanho do inóculo e presença de NaCl, assim como, induzida pelos próprios antimicrobianos beta-lactâmicos. Um fenótipo menos frequente é a resistência homogênea, onde toda população de

células é altamente resistente. Provavelmente, a ocorrência de resistência a oxacilina ao final do período de maturação está relacionada a este fenômeno de heteroresistência. Assim, é provável que inicialmente havia presença de populações distintas de *Staphylococcus* nas amostras de queijo, com predomínio de cepas sensíveis ao antimicrobiano.

Nas últimas décadas, tem-se observado a emergência de microrganismos resistentes aos antimicrobianos, dentre os quais se destaca *S. coagulase positiva* resistente à meticilina (MRSA - ou Methicillin-resistant *Staphylococcus coagulase positiva*). Essas linhagens não são comumente relatadas em animais, entretanto, nos últimos anos, há registros de aumento de casos de infecções em animais domésticos (RICH *et al.*, 2004), sugerindo que as infecções mamárias por MRSA, em bovinos leiteiros, podem ser consideradas sério problema no campo (LEE *et al.*, 2004).

De forma geral a resistências aos beta-lactâmicos provém de mutações nas proteínas ligantes de penicilina (PBPs) que levam à diminuição da afinidade da ligação do antibiótico ao local de ação (McCULLOCH, 2006). A resistência do *Staphylococcus coagulase positiva* à oxacilina é determinada, na grande maioria das vezes, pela presença do gene *mecA* localizado no cromossomo. Este gene é responsável pela síntese da proteína ligadora de penicilina (*penicillin-binding protein*) 2a, ou 2' (PBP2a ou PBP2'), que substitui as outras proteínas ligadoras de penicilina na membrana e têm baixa afinidade não só para a oxacilina como para os outros antimicrobianos betalactâmicos (SCHITO, 2006).

A resistência fenotípica à oxacilina é extremamente variável e depende da expressão do gene *mecA* (LEE, 2003). Essa variabilidade é reconhecida como heteroresistência fenotípica, e se caracteriza pelo fato de que toda população bacteriana heterogeneamente resistente, assim como todas as células, carregam o gene *mecA*, marcador genotípico da resistência, porém nem todas expressam fenotipicamente sua resistência da mesma forma (MARANAN, 1997). Níveis de resistência dos estafilococos aos antimicrobianos beta-lactâmicos dependem fortemente das condições externas (MATHEWS e STEWART, 1984; COOKSON e PHILLIPS 1990).

Como demonstrado nos resultados físico-químicos ao longo da maturação,

principalmente na época da seca ocorre um significativo aumento da concentração de cloreto nas amostras, o que pode ser um forte fator que justifica o aumento da resistência das cepas à oxacilina, uma vez que de acordo com Mathews e Stewart (1984) o sal produz uma elevação acentuada na resistência expressa de cepas de *Staphylococcus* meticilina resistentes.

As alterações físico-químicas que ocorrem na maturação podem ter influenciado para que o *Staphylococcus* expressasse o gene *mecA*. Propagação clonal de cepas MRSA multirresistentes tem sido relatada entre hospitais geograficamente separados, e mesmo entre países diferentes, sendo que vários desses clones MRSA pandêmicos já foram identificados. No entanto, apesar do grande conhecimento sobre a disseminação clonal de MRSA, sabe-se pouco sobre a epidemiologia molecular das cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva sensíveis a meticilina – MSSA (CHAVES *et al.*, 2005).

5.0 CONCLUSÕES

O estudo demonstrou que o período de maturação em que as amostras de queijo Minas artesanal apresentaram conformidade com a legislação vigente foi de 26 dias. Logo, há necessidade de estabelecer novos períodos para comercialização dos mesmos, de forma que a garantir a segurança do consumidor e as características do queijo, considerando os devidos cuidados com as características de propriedade livre para brucelose e tuberculose.

As análises físico-químicas dos queijos mostraram que o único parâmetro que apresentou diferença significativa em relação às épocas chuvosa e seca foi o teor de proteína, que foi maior no período chuvoso. Os queijos foram classificados como gordos e de baixa umidade ou massa dura.

A presença de sujidades macroscópicas foi observada em 78,3% dos queijos, indicando condições não conformes na produção do leite e do queijo.

O maior período de maturação, a redução da umidade dos queijos e o treinamento dos produtores influenciaram na diminuição das contagens de coliformes totais e *E. coli*. Porém é essencial que haja medidas de controle mais rigorosas para alcançar os padrões microbiológicos exigidos pela legislação vigente.

As contagens *Staphylococcus* coagulase positiva variaram ao longo da

maturação e foram necessários 26 dias para que todas as amostras analisadas atingissem o padrão microbiológico exigido pela legislação. Além disso, foi observada considerável resistência aos antimicrobianos: penicilina G, ampicilina e oxacilina, o que deve ser considerado como um perigo adicional aos produtores e consumidores de queijos artesanais.

A presença de falhas em relação às boas práticas na produção do leite e na fabricação dos queijos foi detectada em todas as etapas de produção. As análises microbiológicas indicaram inadequações no leite, soro-fermento, mãos dos manipuladores, higienização dos utensílios e ambiente, assim como, na potabilidade da água. Todas essas inconformidades contribuem para a inadequada qualidade microbiológica dos queijos.

Neste estudo, as principais fontes de contaminação identificadas foram: qualidade do leite, tempo entre ordenha e fabricação, qualidade do soro-fermento, qualidade da água, higiene do manipulador e higienização das instalações. Dessa forma, para garantir a segurança dos consumidores várias medidas devem ser conjuntamente implantadas, como respeito ao tempo de maturação, diminuição nos índices de umidade dos queijos e efetiva implementação de boas práticas de produção do leite e fabricação. Para sua efetivação é necessário o reforço e repetição dos treinamentos, registro das atividades, rastreabilidade dos lotes, associado ao monitoramento e fiscalização regulares.

REFERÊNCIAS

- A.O.A.C. Extraneous Material: Isolation. In: _____ . Official Methods of Analysis, 14thed, Washington, D.C., 1984. P. 887-935.
- AARESTRUP, F. M. Comparative ribotyping of *Staphylococcus intermedius* isolated from members of the Canidea gives possible evidence for host specificity and co-evolution of bacteria and hosts. **International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 51, p.1343-1347, 2001.
- ABDALLA, O. M., DAVIDSON, P. M., CHRISTEN, G. L. Survival of selected pathogenic bacteria in white pickled cheese made with lactic acid bacteria or antimicrobials. **Journal of Food Protection**, v. 56 n. 11, 972-976, 1993.
- ABIQ. Associação Brasileira das Indústrias de Queijo. **Consumo de queijos em diversos países**. Informação pessoal: abiq@abiq.com.br. 18/09/2006.
- ALEXANDRE, D. P., SILVA, M. R., SOUZA, M. R., SANTOS, W. L. M. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo Minas artesanal do Serro (MG) frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina veterinária e Zootecnia**. v. 54, n. 04. Belo Horizonte. Jul/Ago, 2002.
- ALMEIDA, E.F.L.; SOARES, M.O.O. **Queijo artesanal: alternativa de Minas Gerais para a pecuária familiar**. In: ENCONTRO DE PRODUTORES DE GADO LEITEIRO F1: AVANÇOS TECNOLÓGICOS. 6., 2008, Belo Horizonte, MG. Anais... Belo Horizonte: PUC MINAS, 2008. p.215-225.
- ALYASEEN, S. A.; PIPER, K. E.; ROUSE, M. S.; STECKELBERG, J. M.; PATEL, R. Selection of crossresistance following exposure of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates to ciprofloxacin or cefepime. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** v. 49 p. 2543- 2545, 2005.
- ANDRADE, H. H. Genotipagem de cepas de *Staphylococcus aureus* isolados de mastites subclínicas bovina no Distrito Federal e entorno. Dissertação (Pós graduação em saúde animal) Brasília, UnB, 2012.
- ARAÚJO, R. A. B., MONTEIRO, M. S., FERREIRA, C. L. F., RIBEIRO Jr, J. I. FURTADO, M. M. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do queijo Minas artesanal da região de Araxá**. Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2004.
- AYRES, M. **Aplicações Estatísticas nas Áreas das Ciências Biológicas e Médicas**. Belém: Sociedade Civil Mamirauá, 2000, 272 p.
- BANDEIRA, F. S.; PICOLI, T.; ZANI, J.L.; SILVA, W. P. da; FISCHER, G. Frequência de *Staphylococcus aureus* em casos de mastite bovina subclínica, na região Sul do Rio Grande do Sul. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 80, n. 1, p.1-6, jan./mar., 2013.
- BAUTISTA, L., BERMEJO, M.P., NUNEZ, M. Seasonal-variation and characterization of *Micrococcaceae* present in ewes raw-milk. **Journal of Dairy Research**, v. 53 n. 1, p.1-5, 1986.

- BERGDOLL, M. S. Staphylococcal food poisoning. In: *Food borne Diseases*. (Diver, D.O. Ed.), Academic Press, San Diego, pp: 85-106, 1990.
- BERNARD, L. et al. Comparative analysis and validation of different assays for glycopeptide susceptibility among methicillin-resistant *S. aureus* strains. **JMicrobiolMeth**, v. 57, p. 231-9, 2004.
- BERNARDES, R. C.; JORGE, A. O. C.; LEÃO, M. V. P. Sensibilidade à oxacilina, vancomicina e teicoplanina de *Staphylococcus coagulase-positivos* isolados de pacientes hospitalizados em São José dos Campos. **Revista Biociências** v. 10 p. 73-78, 2004.
- BORELLI, B. M. Melhoria da qualidade do queijo Minas artesanal. Dossiê técnico, **Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais / CETEC**. Nov. 2006. Disponível em: <<http://www.respostatecnica.org.br/dossie-ecnico/downloadsDT/MzM>> Acesso em: 04.12.13.
- BORGES, M. de F.; NASSU, R. T.; PEREIRA, ANDRADE, J. L.; A. P. C. DE; KUAYE, A. Y. Perfil de contaminação por *Staphylococcus* e suas enterotoxinas e monitorização das condições de higiene em uma linha de produção de queijo de coalho. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 5, p.1431-1438, ago, 2008.
- BORSARI, P. L. A importância da análise microscópica e histológica em leites e derivados. **Revista Aditivos e Ingredientes**, v. 16, 2001.
- BRANT, L. M. F.; FONSECA, L. M; SILVA, M. C. C. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo-de-minas artesanal do Serro-MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 6, p. 1570-1574, 2007.
- BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária de Abastecimento. Portaria nº 146, de 7 de março de 1996. **Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos**. Diário Oficial da União, [da República Federativa do Brasil], Brasília, DF. 15 de agosto de 1996.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº57, de 15 de dezembro de 2011. **Considera a necessidade de estabelecer critérios adicionais para elaboração de queijos artesanais**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 de dez. de 2011. Seção 1.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº40, de 12 de dezembro de 2005. **Aprovar os Métodos Analíticos, Isolamento e Identificação da *Salmonella* na carne bovina, avicultura e produtos derivados de ovos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 12 de dez. de 2005.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº68, de 12 de dezembro de 2006. **Oficializar os Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 12 de dez. de 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Resolução nº10, de 22 de maio de 2003. **Institui o Programa Genérico de Procedimentos – Padrão de Higiene Operacional – PPPO, a ser utilizado nos estabelecimentos de leite e derivados**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 22 de maio de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Resolução RDC nº 175, de 8 de Julho de 2003. **Aprova regulamento técnico de avaliação de matérias macroscópicas e microscópicas prejudiciais à saúde humana em alimentos embalados.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 09 jul. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Relatório do Monitoramento da Prevalência e do Perfil de Suscetibilidade aos Antimicrobianos em Enterococos e Salmonelas Isolados de Carcaças de Frango Congeladas Comercializadas no Brasil. **Programa Nacional de Monitoramento da Prevalência e da Resistência Bacteriana em Frango (PREBAF).** Brasília, jan. 2008 186p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.914, de 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 12 de dezembro de 2011.

BRITO, M. A. V. P. Resíduos de antibióticos no leite: um problema que tem solução. Juiz de Fora: **Embrapa Gado de Leite**, 2006. Disponível em: <http://www.cnpgl.embrapa.br>. Acesso em: 07.03.2014.

CHAVES, F.; GARCIA – MARTINEZ, J.; MIGUEL, S.; SANZ, F.; OTERO, J.R. Epidemiology and clonality of methicillin - resistant and susceptible *Staphylococcus aureus* causing bacteremia in a tertiary - care hospital in Spain. **Infection Control Hospital Epidemiology**. v. 26, n. 2, p.150-156, 2005.

CLSI - CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing:** twenty-third informational supplement. CLSI M100-S23, Wayne, 2013.

COELHO, S. G.; LIMA, J. A. M.; SILPER, B. F.; FRANZONI, A. P. S. Manipulação da composição do leite a partir de fatores nutricionais. **Caderno de Ciências Agrárias**, Montes Claros, v. 2, n. 2, 2010.

CONTRERAS, G. A.; RODRÍGUEZ, J. M. Mastitis: comparative etiology and epidemiology. **Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia**, v. 16, p. 339-356, 2011.

COOKSON, B.; PHILLIS, I. Methicillin-resistante staphylococci. **Journal of Applied Bacteriology**, Symposium Supplement, p. 55s-70s, 1990.

CRUZ, A. L. de M.; ALMEIDA, A. C.; PINHO, L.; SALES, S. de S.; SANTOS, C. A. Dissertação: **Análise microbiológica de queijo minas artesanal comercializado no mercado municipal de Montes Claros-MG.** João Pessoa, PB – UFPB/ABZ, 2008.

CUNHA, A. P. Presença de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijo Minas frescal artesanal. 48f. Dissertação (Pós-graduação em Ciências da Saúde). Uberlândia, UFU, 2012.

DEURENBERG, R. H.; STOBBERINGH, E. E. The evolution of *Staphylococcus aureus*. **Infección genética evolución.** v.8 n. 6, p.747-63, 2008.

DORES, M. T. **Queijo Minas Artesanal da Canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração.** 2007. 91 f. Dissertação (Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

- ESTRADA, A. Z.; LA GARZA, L; M.; MENDOZA, M. S.; LÓPES, E. M. S.; KERSTUPP, S F.; MERINO, A. L. Survival of *Brucella abortus* in milk fermeted with a yoghurt starter culture. **Revista Latino Americana de Microbiologia**, v. 47, n. 3-4, p. 88-91, 2005.
- FAGAN,E. P.; TAMANINI,R.; FAGNANI,R.; BELOTI.V.; BARROS,M. A. F; JOBIM,C. C. Avaliação de padrões físico-químicos e microbiológico do leite em diferentes fases de lactação nas estações do ano em granjas leiteiras no Estado do Paraná – Brasil. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n.3, p. 651-660, jul./set. 2008.
- FAO/WHO. Expert Committee on Brucellosis. **World Heath Organization Technical Report Series**. 6th Report. Geneva: World Health Organization, n. 740, 1986, p. 53.
- FDA Bad bug book: **Foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins handbook**, 2nd ed, US Food and Drug Administration, Silver Spring, p. 87–92, 2012.
- FERNANDES, R. V. B; BOTRE,D. A.; ROCHA,V. V.; SOUZA,V. R.;CAMPOS, F. M.; MENDES,F. Q. Avaliação físico-química, microbiológica e microscópica do queijo artesanal comercializado em rio Paranaíba-MG. **Revista Instituto Laticínio “Cândido Tostes”**, v. 66, n. 382, p. 21-26, 2011.
- FERREIRA, L. M.; NADER FILHO, A.; OLIVEIRA, E de; ZAFALON, L. F.; SOUZA, V de. Variabilidades fenotípica e genotípica de estirpes de *Staphylococcus aureus* isoladas em casos de mastite subclínica bovina. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p-1228-1234, 2006.
- FLEMING, L. R.; BOLZAN, D. N.; BANDEIRA, S. de O; NASCIMENTO J. DOS S. Quantificação e resistência a antibióticos de *Staphylococcus* isolados de queijos. **Perspectivas da Ciéncia e Tecnologia**, v. 2; n. 1, 2010.
- FLUIT, A. C.; WIELDERS, C. L. C.; VERHOEF, J.; SCHMITZ, F. J. Epidemiology and susceptibility of 3051 *Staphylococcus aureus* isolates from 25 University Hospitals participating in the European SENTRY study. **Journal of Clinical Microbiology** v. 39: p. 3727-3732, 2001.
- FONTANA, V. L. D. S. **Etiologia da mastite bovina subclínica da região de Jataí/GO. Padrão genotípica e de suscetibilidade à drogas antimicrobianas com ênfase ao gênero Staphylococcus**. Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlia de Mesquita Filho, 2002. 61p.
- FONTANESI, C. D. **Viabilidade da *Brucella abortus* durante a cura de queijos parmesão fabricado com leite experimentalmente contaminado**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2012.
- FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. v. 1, General aspects. London U. K. 1993. Chapman & Hall, 2. ed., 1993. 601 p.
- FOX, P. F.; McSWEENEY, P. L. H. **Dairy Chemistry and Biochemistry**. Blackie Academic & Professional: London. First ed. 1998. 478p.
- FOX, P. F.; MCSWEENEY; COGAN, T. M.; GUINTEE, T. P. Cheese: An Overview. In: ----, **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology**.3 ed., Elsevier Academic Press. J. 1, pp. 1-2. London. 2004.
- FRANCO, B. D. G. M., LANDGRAF, M. In:**Microbiologia dos alimentos**. Microrganismos

patogênicos de importância em alimentos. Editora Atheneu. São Paulo. 1996.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos.** 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2008.

FREITAS, M. F. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; STAMFORD, T. L. M.; RABELO, S. S. de A.; SILVA, D. R. da; SILVEIRA FILHO, V. M. da; SANTOS, F. G. B.; SENA, M. J. de; MOTA, R. A. Perfil de sensibilidade antimicrobiana in vitro de *Staphylococcus* coagulase positivos isolados de leite de vacas com mastite no agreste do estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v. 72, n.2, p.171-177, 2005.

GUEDES NETO, L. G., SANTOS, W. L. M **Produção de queijo de coalho em Pernambuco: isolamento e identificação de Staphylococcus spp e de bactérias ácidolácticas e de sua atividade antagonista in-vitro.** Belo Horizonte UFMG – EV, 2004.
 GUEDES NETO, L. G; SOUZA, M. R; NUNES, A. C; NICOLI, J. R; SANTOS, W. L. M. Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia;** v. 57, n.2, p.245-250, set. 2005.

GUTIERREZ, É. M. R., DOMARCO, R. E., SPOTO, M. H. F., BLUMER, L., MATRAIA, C. Efeito da radiação gama nas características físico-químicas e microbiológicas do queijo prato durante a maturação. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos.** v. 24, n. 4. Campinas, Out/Dez, 2004.

HAJDENWURCEL, J. R. 2002. Produção segura na cadeia alimentar do leite. IN: PORTUGAL, J.A.B. et al (Ed.) Segurança alimentar na cadeia do leite. Juiz de Fora-MG: Templo Gráfica e Editora Ltda.. 2002. P. 99-112.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Estimativas da população residente nos municípios brasileiros com data referência em 1º de julho de 2011. <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2011/estimativa.shtm>> Acesso em: 16.01.2014.

ICMSF - INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS *Staphylococcus aureus*. Ch 17 In: Microorganisms in food 5: Microbiological specifications of food pathogens. Blackie Academic and Professional, London, p. 299–333, 1996.

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA). 2010. Resistência aos Antibióticos Disponível em:
<http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/DoencasInfecciosas/AreasTrabalho/ResistencAnti/Paginas/inicial.aspx> Acesso em: 05 de dezembro de 2013.

JAY, J. M. **Microbiologia de Alimentos.** 6.ed. New York: Chapman Hall, 2005. 711p.

JØRGENSEN H.J., MØRK T., RØRVIK L.M.: The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. **Journal Dairy Science**, v. 88, p. 3810–3817, 2005a.

JØRGENSEN, H. J.; MØRK, T.; HØGÅSEN, H. R.; RØRVIK, L. M.: Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in bulk milk in Norway. **Journal Applied Microbiology** v. 99, p.158–166, 2005b.

KAHLMETER, G.; MENDAY, P. Cross resistance and associated resistance in 2478 *Escherichia coli* from the Pan-European ECO.SENS project surveying the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy** v. 52, p. 128-131, 2003.

KARDEL, G., FURTADO, M. M., LOURENÇO NETO, J. P. M. O uso de lipoase na fabricação de queijos. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 50. n. 295, p. 45 - 49. Set/Out, 1995.

KIM, H. B.; JANG, H. C.; NAM, H. J.; LEE, Y. S.; KIM, B. S.; PARK, W. B.; LEE, K. D.; CHOI, Y. J.; PARK, S. W. O; KIM, E. C.; CHOE, K. W. In vitro activities of 28 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolated from tertiary-care hospitals in Korea: a nationwide survey. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** v. 48: p.1124-1127, 2004.

KOBAYASHII, C. C. B. A.; SADOYAMAI, G.; VIEIRA, J. D. G. Determinação da resistência antimicrobiana associada em isolados clínicos de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* em um hospital público de Goiânia, Estado de Goiás. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v. 42, n.4, Uberaba July/Aug. 2009.

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

KORB A., BRAMBILLA D.K., TEIXEIRA D.C., CRISTINA, D., RODRIGUES, R.M. Riscos para a saúde humana do uso de antibióticos na cadeia produtiva leiteira. **Revista Saúde Pública**. Florianópolis, v. 4, n. 1, jul./dez. 2011.

KRONE, E. E. **Identidade e cultura nos Campos de Cima da Serra (RS): práticas, saberes e modos de vida de pecuaristas familiares produtores do Queijo Serrano**. 2009. 146 p. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural) - Programa de Pós-Graduação em Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

KUTSZEPA, D. et al. O uso indiscriminado de antibióticos na bovinocultura leiteira uma análise dos riscos para o meio ambiente e a saúde humana. In: FÓRUM AMBIENTAL DA ALTA PAULISTA, 4, 2009, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ANAP, 2009. p. 1-9.

LEE, J. H. Methicillin (oxacilin)-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from major food animals and their potential transmission to humans. **Applied Environment Microbiological**, v. 69, p. 6489-6494, 2003.

LEMPK, M. W. **Caracterização físico-química, microbiológica e tecnológica do queijo artesanal da microrregião de Montes Claros – MG** Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias do Instituto de Ciências Agrárias) Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte - MG, 91p. 2013.

LIMA, D. C. et al. Snake venom: any clue for antibiotics and cam? **Evid Based Complement Alternat Med**, v. 2, n. 1, p. 39-47, 2005.

LORENZETTI, D. K. **Influência do tempo e da temperatura no desenvolvimento de microrganismos psicrotróficos no leite cru de dois estados da região sul**. 2006. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos) Paraná: UFP, 2006.

- LUCAS, S. D. M.; SCALCO, A.; FELDHAUS, S.; DRUNKLER, D. A.; COLLA, E. Padrão de identidade e qualidade de queijos colonial e prato, comercializados na cidade de medianeira – PR. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 67, n. 386, Mai/Jun – 2012.
- MACEDO, A. C., TAVARES, T. G., MALCATA, F.X. Influence of native lactic acid bacteria on the microbiological, biochemical and sensory profiles of Serra da Estrela cheese. **Food Microbiology**. n. 21, p. 233 - 240. 2004.
- MACHADO, E. C. **Características físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais**. 2002. 49f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2002.
- MAIA, L. F.; BONFANTE, R. C. Características microscópicas de queijo tipo “minas frescal” comercializados na cidade de londrina-PR. **Revista Brasileira de Pesquisa em Alimentos**, Campo Mourão, v. 2, n. 1, p. 45-48, jan./jun., 2011.
- MARANAN, M.C. et al. Antimicrobial resistance in Staphylococci: epidemiology, molecular mechanisms and clinical relevance. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 11, p. 813-49, 1997.
- MARTINS, J. M. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro**. 2006. 158f. Dissertação (Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Viçosa : UFV, 2006.
- MATTHEWS, P. R.; STEWART, P. R. Resistance heterogeneity in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **FEMS Microbiology Letters** v. 22 p. 161-166, 1984.
- MCCULLOCH, J. A. **Avaliação da funcionalidade do locus accessory gene regulator (agr) em cepas de Staphylococcus aureus brasileiras com suscetibilidade reduzida aos glicopeptídeos**. Dissertação. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP; 2006.
- MCSWEENEY, P. L. H. Diversity of cheese varieties: An overview. In: FOX, P. F. (Ed.) **Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Wisconsin**: Academic Press, p.1-23, 2004.
- MEDEIROS, M. I. M. de; NADER FILHO, A.; SOUZA, V. de; MELO, P. de C.; FERREIRA, L. M.; CANALEJO, L. M. M. Epidemiologia molecular aplicada ao monitoramento de estirpes de *Staphylococcus aureus* na produção de queijo minas frescal. **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 14, n. 1, p. 98-105, jan./mar. 2013.
- MENDONÇA, R. C. S.; VIEIRA, E. N. R.; OLIVEIRA, K. A. M. Patógenos na indústria de carnes e derivados. In: Editado [por] Regina Célia Santos Mendonça.. [e outros]. **Microbiologia de Alimentos: qualidade e segurança na produção e consumo**. Viçosa-MG: Tribuna Editora Gráfica, p.21-48, 2003.
- MENESES, J. N. C. de. **Queijo artesanal de Minas: patrimônio cultural do Brasil**. Belo Horizonte: Ministério da Cultura, 2006. 139 p. (Dossiê interpretativo, v.1).
- MINAS GERAIS. Decreto nº 44.864, de 1º de agosto de 2008. Altera o Regulamento da Lei n. 14.185, de 31 de janeiro de 2002, **que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal**. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 1º de agosto de 2008.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA – IMA Portaria nº 523, de 3 de julho de 2002. Dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias e boas práticas na manipulação e fabricação do queijo Minas artesanal. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 3 de julho de 2002a.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA – IMA Portaria nº 518, de 14 de junho de 2002. **Dispõe sobre requisitos básicos das instalações, materiais e equipamentos para a fabricação do queijo minas artesanal.** Belo Horizonte, 14 de junho de 2002b.

MINAS GERAIS. INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA – IMA Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013. **Estabelece diretrizes para a produção do queijo minas artesanal.** Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 30 de abril de 2013.

MINAS GERAIS. Lei 14.185, de 31 de janeiro de 2002. **Dispõe sobre o processo de produção de queijo Minas artesanal e dá outras providências.** 2002. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 31 de jan. de 2002.

MINAS GERAIS. Lei 19.492, de 13 de janeiro de 2011. **Altera dispositivos da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção do Queijo Minas Artesanal e dá outras providências.** Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 13 de jan. de 2011.

MINAS GERAIS. Lei 20.549 de 18 de dezembro de 2012. **Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais.** 2012. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 18 de dez. de 2012.

MINAS GERAIS. Portaria nº 1397, de 13 de fevereiro de 2014. Identifica a microrregião do Triângulo Mineiro como produtora de queijo Minas artesanal. 2014. Palácio da Liberdade, Belo Horizonte, 13 de fevereiro de 2014.

MONTVILLE, T. J.; MATTHEWS, K. R. **Food microbiology: An introduction.** 2nd ed, ASM Press, Washington D.C., 2008.

MORENO, I., LERAYER, A. L., VIALTA, A., SOUZA, G. Características gerais de bacteriocinas de bactérias lácticas. **Revista Indústria de Laticínios.** Ano 5, n. 29. p. 57 - 60. Set/Out, 2000.

NCCLS - Clinical and Laboratory Standards Institute . **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically** (Approved standard). 9th ed.. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012; CLSI publication M7-A9

NOVAK, F. R. **Ocorência de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina em leite humano ordenhado.** Rio de Janeiro, UFRJ, p.102, 1999.

OLIVEIRA, D. F. de; PORTO, M. A. C.; BRAVO, C. E. C.; TONIAL, I. B. Caracterização físico-química de queijos Minas artesanal produzidos em diferentes microrregiões de Minas Gerais. Oikos: **Revista Brasileira de Economia Doméstica**, Viçosa, v. 24, n. 2, p. 185-196, 2013.

ORNELAS, E. A. **Diagnóstico preliminar para caracterização do processo e das condições de fabricação do queijo artesanal da Serra da Canastra.** 2005. 88f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Escola de Veterinária, Universidade

Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2005.

PERESI, J. T. M.; GRACIANO, R. A. S.; ALMEIDA, I. A. Z. C. de; LIMA, S. I. de; RIBEIRO, A. K.; CARVALHO, I. S. de; LIMA, M. de. Queijo Minas tipo Frescal artesanal e industrial: qualidade microscópica, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos / Fresh hand-made "Minas" cheese and industry-made "Minas" cheese: microbiological analysis. **Higiene Alimentar**; v. 15, n. 83, p.63-70, abr. 2001.

PIMENTEL FILHO, N. J., MARTINS, J. M., CUNHA, L. R., LOPES, J. P., FERNANDES, P. E., FERREIRA, C. L. L. F. Modulação de parâmetros microbiológicos e do pH pelo cloreto de sódio, no fermento endógeno utilizado na produção de queijo Minas artesanal do Alto Paranaíba. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. Juiz de Fora, v. 60, n. 345. p. 295 – 298, Jul/Ago de 2005.

PINTADO, C. M. B. S.; OLIVEIRA, A.; PAMPULHA, M. E.; FERREIRA, M. A. S. S. Prevalence and characterization of *Listeria monocytogenes* isolated from soft cheese. **Food Microbiology**. v.22. p.79 -85, 2005.

PINTO, M. S. **Diagnóstico socioeconômico, cultural e avaliação dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos do Queijo Minas Artesanal do Serro**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

PINTO, M. S.; FERREIRA, C. L. L. F.; MARTINS, J. M.; TEODORO, V. A. M., PIRES, A. C. S.; FONTES, L. B. A.; VARGAS, P. I. R. Segurança alimentar do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 4, p. 342-347, out. 2009.

PINTO, M. S.; MARTINS, J. M.; ARAÚJO, R. A. B. M.; SILVA, M. C. C. da; FERREIRA, C. L. L. F.; Queijo Minas Artesanal da região do Serro: Avaliação de *Staphylococcus aureus* e sua enterotoxina. **Revista do Instituto de Laticínios “Cândido Tostes”**, Juiz de Fora, nº336, p. 82-86, 2004.

PLOMMET, M.; FENSTERBANK, R.; VASSAL, L.; AUCLAIR, J; MOCQUOT, G.; VACHOT, J. C.; COURAULT, M.; MUSSET D. Survival of *Brucella abortus* in ripened soft cheese made from naturally infected cow's milk. **Le Lait**, v. 68, n. 3, p. 115-120, 1988.

RAPINI, LS.; TEIXEIRA, J.P.; MARTINS, N.E. et al. Perfil de resistência antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* sp. isoladas de queijo tipo coalho **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.56, n.1, p.130-133, 2004.

REZENDE, P. H. L.; MENDONÇA, E. P.; MELO, R. T. DE; COELHO, L. R.; MONTEIRO, G. P.; ROSSI, D. A. Aspectos sanitários do queijo Minas artesanal comercializado em feiras livres. **Revista Instituto Laticínio “Cândido Tostes”**, Nov/Dez, v. 65, n 377, p. 36-42, 2010.

RICH M., ROBERTS L., Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from companion animals. **Veterinary Record** p.154:310, 2004.

ROBINSON, R. K. **Microbiología lactologica**: Microbiología de los productos lácteos. v. II. Ed. Acribia, S. A. 1987.

ROBINSON, T. J., SCHEFTEL J. M., SMITH, K. E. Raw Milk Consumption among Patients with Non–Outbreak-related Enteric Infections, Minnesota, USA, 2001–2010. **Emerging**

Infectious Diseases, Minnesota, USA, v. 20, nº. 1, January, 2014.

ROCHA, A. M. P. **Controle de fungos durante a maturação de queijo Minas Padrão**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2004.

ROLA, J. G.; KORPYSA-DZIRBA, W.; OSEK, J. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins at different stages of production of raw Milk cheeses – preliminary results. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 57, p. 341-345, 2013.

ROSENGREN, A.; FABRICIUS, A.; GUSS, B.; SYLVÉN, S.; LINDQVIST, R.: Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. **International Journal of Food Microbiology** v. 144, p. 263–269, 2010.

SADOYAMA, G.; GONTIJO FILHO, P. P. Risk factors for methicillin resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a Brazilian University Hospital. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.4, p.135-143, 2000.

SALGADO, C. M. M.; SOARES, G. Q. C.; VASQUES, R. O'R. Consciência ambiental: cuidados com o lixo. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, RJ, v. 6, n. 1, 2011.

SANTOS, A. S. **Queijo Minas artesanal da microrregião do Serro-MG: efeito da sazonalidade sobre a microbiota do leite cru e comportamento microbiológico durante a maturação**. 2010. Dissertação (Dissertação apresentada ao Curso de Pós- Graduação Stricto Sensu em Produção Animal) Diamantina: UFVJM, 2010.

SCA: Specialist Cheesemakers Association. The specialist cheesemakers code of best practice, 2004. Avaliado de <http://www.specialistcheesemakers.co.uk/about.html> Acesso em: 01.01.2014

SCHITO, G.C. The importance of the development of antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 12 (supl. 1), p. 3-8, 2006.

SENA, M. J. **Perfil epidemiológico, resistência a antibióticos e aos conservantes nisina e sistema lactoperoxidase de *Staphylococcus* sp. isolado de queijos coalho comercializados em Recife/PE**. 2000. 75f. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária). Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n.4, p.397-409, out./dez., 2004.

SIHUFÉ, G. A., ZORRILLA, S. E., RUBIOLO, A. C. The effect of trichloroacetic acid on water-soluble fractions from Fynbo cheese. **Food Chemistry**. n. 93, p. 305 -310. 2005.

SILVA, D. J., QUEIROZ, A. C. **Análise de alimentos. Métodos químicos e biológicos**. 3^a edição. Editora UFV. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. v. 235 p. 2005.

SILVA, J. G. **Características físicas, físico-químicas e sensoriais do queijo Minas artesanal da Canastra**. 198 p.: il. Dissertação (Ciências dos alimentos). Lavras: UFLA, 2007.

SILVA, J. W.; GUIMARÃES, E. C.; TAVARES, M. Variabilidade temporal da precipitação mensal e anual na estação climatológica de Uberlândia, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, v.

27, n. 3, p. 665-674, 2003.

SILVA, L. C. C. DA; BELOTI, V.; TAMANINI, R.; D'ovidio, L.; MATTOS, M. R. DE; ARRUDA A. M. C. T. DE; PIRES. E. M. F. Rastreamento de fontes da contaminação microbiológica do leite cru durante a ordenha em propriedades leiteiras do Agreste Pernambucano. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 32, n. 1, p. 267-276, jan./mar. 2011.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análises Microbiológicas de Alimentos**. 1 ed. São Paulo – SP: Livraria Varela Ltda, 1997.

SOARES, L. C. **Correlação entre marcadores fenotípicos e genotípicos de virulência e resistência de *Staphylococcus* spp. coagulase-negativos isolados a partir de mastite bovina**. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 82p., 2010.

SOUSA, M. J.; ARDO, Y; McSWEENEY, P. L. H. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. **International Dairy Journal**, v. 11, p. 327-345, 2001.

SOUZA, M. R. de, SANTOS, L. M., ROCHA, J. R., PINHEIRO JÚNIOR, O. Á. Resistência dos microrganismos causadores de mastite no gado leiteiro da região de garça S.P frente a seis antimicrobianos. **Rev. Científica Eletônica de Medicina Veterinária**, Ano VI – n. 11, julho de 2008.

STARIKOFF, K. R. **Inativação de *Mycobacterium bovis* durante a cura de queijo:** definição de protocolo de estudo. 2011. 63 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 2011.

STEWART, C. M. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins. Ch 12 In: Hocking AD (ed) Foodborne microorganisms of public health significance. 6th ed, **Australian Institute of Food Science and Technology** (NSW Branch), Sydney, p. 359–380. 2003.

TEODORO, V. A. M.; SILVA, J. F.; PINTO, M. S. A. Evolução da legislação no setor de lácteos no Brasil. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 28, n. 238, p. 14-21, 2007.

TUNC, K.; HOS, A. Investigation of Survival of *Staphylococcus aureus* During Maturing of White Cheese. **Turkish Journal of Science & Technology**, v. 7, n. 1, p. 55-60, 2012.

UBERLÂNDIA. Lei Nº 10.800, de 13 de junho de 2011. **Dispõe sobre o processo de produção do queijo e do requeijão artesanais no município de Uberlândia e dá outras providências**. Diário Oficial do Município, Uberlândia-M.G., 14 de jun. de 2011. Edição especial, p.1.

USER'S GUIDE BAX®, System PCR assy with automated detection for bacterial screening, Silmington, Du Ponto Qualicon 2009.

VERAS, J. F., SANTOS, D. A. dos., DO CARMO, L. S., FERNANDES, T. de M. G., AZALIN, C. C., SILVA, M. C. C. da., MARTINS, R. T., CERQUEIRA, M. M. O. P. Levantamento de surtos de toxinfecção alimentar envolvendo leite e produtos derivados no estado de Minas Gerais, Brasil. **Anais do VII Congresso Brasileiro de Higienistas de Alimentos**. 01 a 04 de abril de 2003, p. 218-219.

VIOTTO, W. H., BALDINI V. L. S., CAMPOS, S. D. S., FERNANDES, A. G. **Maturação do queijo tipo prato : influencia da adição de enzimas proteolíticas no processo**. 1998. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos), Campinas:

UNICAMP, 1998.

WEST, H. G. Food fears and raw-milk cheese. **Appetite** v.51, p.25–29, 2008.

WHO: Organização Mundial de Saúde. Global strategy for containment of antimicrobial resistance, anti-infective drug resistance surveillance and containment. 2001. Disponível em: <http://www.who.int/emc/amr.html>. Acesso em: 05 de dezembro de 2013.

WILLIAMS, A. G.; WITHERS, S. E. Microbiological characterisation of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. **International Journal of Dairy Technology**, [S.I.], v. 63, n. 3, Aug. 2010.

WIMMERSTEDT, A.; KAHLMETER, G. Associated antimicrobial resistance in *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus pyogenes*. **Clinical Microbiology and Infection** v.14: p.315-321, 2008

ANEXO I

QUESTIONÁRIO APLICADO AOS PRODUTORES DE QUEIJO MINAS ARTESANAL DA REGIÃO DE UBERLÂNDIA

Nome: Idade :.....

Nº :

Tamanho:

OBS:

MUNICÍPIO:

CIDADE:

1. INFORMAÇÕES GERAIS

1.1. Distância da sede ao município:

- a) Até 10 km ()
- b) 11 - 20 km ()
- c) 21 - 30 km ()
- d) > 30 km ()

1.2. Da produção:

- a) Quantos litros de leite por dia _____
- b) Quantos queijos são produzidos por dia _____
- c) Peso médio do queijo _____
- d) Rendimento _____
- e) Tempo de comercialização do queijo _____

1.3. Há quanto tempo faz o queijo?

- a) até 10 anos ()
- b) 11 – anos ()
- c) 21 - 30 anos ()
- d) > 30 anos ()

1.4. Quem faz o queijo?

- a) Empregado ()
- b) Proprietário ()
- c) Filhos ()

1.5. Nível de escolaridade do queijeiro:

- a) Não é alfabetizado ()

b) Primeiro grau incompleto ()

c) Primeiro grau completo ()

d) Segundo grau incompleto ()

c) Segundo grau completo ()

c) Superior ()

1.6. Destino do queijo:

Neste município ()

Outros municípios ()

1.7 Forma de Venda:

a) Direta ao consumidor ()

b) Direta ao comerciante ()

1.8. Preço do quilograma do queijo:

1.9. Local de comercialização:

a) Feiras Livre ()

b) Padaria ()

c) Mercearia ()

d) Supermercado ()

e) Desconhece ()

1.10. Associações a que pertence:

a) Associação ()

b) Cooperativa ()

c) Outro ()

1.11. Participação de reuniões de entidade de classe:

- a) Sempre que é convidado ()
- b) Nunca participou ()
- c) Nunca foi convidado ()
- d) Outro ()

Obs:

1.12. Treinamento para a produção do queijo:

- a) Já participou de treinamento ()
- b) Nunca participou ()
- c) Nunca foi convidado ()
- d) Outro ()

Obs:

1.13. Considera-se adequado à legislação:

- a) sim ()
- b) não ()

1.14. Prioridade da adequação:

- a) Raça do rebanho ()
- b) Sanidade do gado ()
- c) Construção inadequada ()
- d) Recursos para promover as adequações ()
- e) Desconhecimento do que precisa ser feito ()
- f) Outro ()

1.15. Tem interesse em se adequar?

- a) sim ()
- b) não ()

21

1.17. Quantas pessoas dependem dessa produção:

- a) O casal ()
- b) Casal e os filhos ()
- c) Casal filhos e empregados ()
- d) Outro ()

2. OBTENÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

2.1. Tempo do início da ordenha ao início da produção de queijo:

- a) Até 1 h ()
- b) 1 - 2 h ()
- c) 2 - 3 h ()
- d) > 3 h ()

Obs:

2.2. Método de ordenha:

- a) Manual ()
- b) Mecânica ()

2.3. Raça do rebanho:
.....

2.4. Tamanho do rebanho:
.....

Obs:

2.5. Alimentação principal do rebanho:

- a) Braquiária ()
- b) Capim-meloso ()
- c) Silagem ()
- d) Concentrado ()
- e) Outro ()

3. QUEIJARIA

3.1. Construção:

- a) Focos de insalubridade na queijaria () sim
() não
- b) Focos de insalubridade nas adjacências () sim
() não

3.2. Animais domésticos, moscas e roedores:

- a) Presença de animais domésticos ()
- b) Presença de moscas ()
- c) Presença de roedores ()
- d) Outro ()

Obs:

3.3. Piso:

- a) Cimento ()
- b) Cerâmica ()

- c) Ardósia ()
 d) Outro ()
 Obs:
 22

3.4. Paredes e revestimento:

- a) Cimento ()
 b) Cerâmica ()
 c) Ardósia ()
 d) Outro ()
 Obs.:

3.5. Teto:

- a) Lage ()
 b) Madeira ()
 c) Cerâmica ()
 d) Amianto ()
 e) Sem forro ()
 f) Outro ()

3.6 Portas e janelas:

- a) Conservação () sim
 () não
 b) Com tela () sim
 () não

3.7. Iluminação:

- a) Natural () sim
 () não
 b) Artificial () sim
 () não

3.8. Ventilação:

- a) Adequada () sim
 b) Inadequada () não

3.9. Higienização do local de trabalho:

- a) Excelente ()
 b) Boa ()
 c) Média ()
 d) Ruim ()

Obs:

3.10. Instalação sanitária:

- a) Presença ()
 b) Ausência ()

4. ACONDICIONAMENTO E DESTINO DO LIXO

4.1. Acondicionamento:

- a) Depósito com tampa ()
 b) Depósito sem tampa ()
 c) Sem acondicionamento ()
 d) Outro ()

23

4.2. Destino:

- a) Coleta pública ()
 b) Enterrado ()
 c) Queimado ()
 d) Outro ()

Obs:

5. ÁGUA DE CONSUMO

- 5.1. Procedência:**
 a) Rede de abastecimento ()
 b) Poço artesiano ()
 c) Mina ()
 d) Cisterna ()
 e) Outra ()

Obs:

5.2. Reservatório:

- a) Caixa d'água ()
 b) Tanque ()
 c) Outro ()

Obs:

5.3. Condições do reservatório:

- a) Vedaçāo () sim
 () não
 b) Presença de rachaduras () sim

() não

6. CRIAÇÃO DE ANIMAIS

6.1. Proximidade do local de processamento:

- a) Até 50 m ()
- b) 51 - 100 m ()
- c) 101 - 500 m ()
- d) acima de 500 m ()

6.2. Tipo de criação:

- a) Bovinos ()
- b) Suíños ()
- c) Caprinos ()
- d) Outros ()

Obs:

7. MANIPULADORES

7.1. Controle de saúde (Carteira de saúde, exames periódicos):

- a) Sim ()
- b) Não ()

24

7.2. Vestuário:

- a) Roupa Limpa Sim ()
Não ()
- b) Com proteção Sim ()
Não ()
- c) Uso de botas Sim ()
Não ()
- d) Proteção de cabelo Sim ()
Não ()
- e) Proteção de boca/nariz Sim ()
Não ()

7.3. Hábitos higiênicos (assepsia das mãos, fumar, tossir etc.):

- a) Adequados ()
- a) Inadequados ()

7.4. Estado de saúde:

- a) Afecções cutâneas ()
- b) Afecções respiratórias ()
- c) Ausência de afecções ()
- d) Outro ()

7.5. Asseio pessoal:

- a) Boa ()
- b) Regular ()
- c) Ruim ()

8. EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS DIRETAMENTE RELACIONADOS AO PROCESSAMENTO

8.1. Filtração do leite:

- a) Tecido natural: algodão ()
- b) Tecido artificial: volta ao mundo ()
- c) Peneira plástica ()
- d) outro ()

Obs:

8.2. Coagulação:

- a) Tambores plásticos ()
- b) Latões ()
- c) Fermenteira aço inoxidável ()
- d) Outro ()

Obs:

8.3. Mexedura:

- a) Espátula de madeira ()
- b) Espátula de metal ()
- c) Lira de metal ()
- d) Outro ()

25

8.4. Dessoragem:

- a) Tecido de algodão ()
- b) Tecido de nylon ()
- c) Outro ()

Obs:

8.5. Bancada para manipulação da massa:

- a) Bancada de madeira ()
- b) Bancada de ardósia ()
- c) Bancada de aço inoxidável ()
- d) Outro ()

8.6. Formas

- a) Madeira ()
- b) Plástico ()
- c) Aço inoxidável ()
- d) Outro ()

9. PROCESSOS DE LIMPEZA E SANIFICAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS

DIRETAMENTE RELACIONADOS AO PROCESSAMENTO

9.1. Tanque de fabricação:

- a) Pré-Lavagem com água Sim ()
- Não ()
- b) Lavagem com água e sabão Sim ()
- Não ()
- a) Uso de sanificantes Sim ()
- Não ()

9.2. Bancada de enformagem e prensagem:

- a) Pré-lavagem com água Sim ()
- Não ()
- b) Lavagem com água e sabão Sim ()
- Não ()
- a) Uso de sanificantes Sim ()
- Não ()

9.3. Panos e sacos:

- a) Pré-lavagem com água Sim ()
- Não ()
- b) Lavagem com água e sabão Sim ()
- Não ()
- a) Uso de sanificantes Sim ()
- Não ()

26

9.4. Tanque de fabricação:

- a) Pré-lavagem com água Sim ()
- Não ()
- b) Lavagem com água e sabão Sim ()
- Não ()
- a) Uso de sanificantes Sim ()
- Não ()

9.5. Outros utensílios:

- a) Pré-lavagem com água Sim ()
- Não ()
- b) Lavagem com água e sabão Sim ()
- Não ()
- a) Uso de sanificantes Sim ()
- Não ()

10. PROCESSO

10.1. Uso do pingo:

- a) Sempre ()
- b) Nunca ()
- c) Às vezes ()

10.2. Coleta do pingo:

- a) No início da dessoragem ()
- b) No final da dessoragem ()
- c) Em qualquer momento ()

Obs.:

10.3. Adição de pingo:

- a) No início (fundo do vasilhame) ()
- b) Durante a coleta do leite ()
- c) No final da coleta do leite ()

10.4. Periodicidade de contaminação (fermentação):

- a) Nunca ()
- b) > 1 vez por semana ()
- c) 1 vez por mês ()

Indicar a periodicidade:

10.5. Reposição do pingo perdido:

- a) Adquire do vizinho ()
- b) Tenta novamente com o mesmo pingo ()
- c) Faz sem pingo ()
- d) Outro ()

27

10.6. Destino do queijo fermentado:

- a) Faz quitanda ()
- b) Vende mais barato ()
- c) Vende pelo mesmo preço ()
- d) Outro ()

10.7. Adição de coalho:

Sim ()

Não ()

Proporção:

Obs.:

10.8. Tipo de coalho:

- a) Industrial líquido ()
- b) Industrial pó ()
- c) Outro ()

Obs.:

Proporção:

10.9. Tempo de coagulação:

.....

10.10. Prensagem:

- a) Somente com as mãos ()
- b) Mãos + tecido de algodão ()
- c) Mãos + Tecido Jersey ()

- d) Mãos + tecido volta ao mundo ()
- e) Outro ()

10.11. Salga-tipo de sal:

- a) Sal grosso ()
- b) Sal grosso triturado ()
- c) Sal refinado ()

10.12. Salga – Processamento:

- a) Na coalhada ()
- b) No queijo ()

Obs.:

10.13. Lavagem final do produto:

- a) Água ()
- b) Soro ()
- c) Outro ()

Obs.:

11. DESTINO DO SORO

- a) Alimentação de animais ()
- b) Elaboração de outros produtos ()
- c) Outro ()

28

12. EMBALAGEM

- a) Sem embalagem ()
- b) Cry-o-vac ()
- c) Outra ()

13. RASTREAMENTO

Sim ()

Não ()

ANEXO II
BOAS PRÁTICAS DE FABRICAÇÃO (BPF)

O que é BPF?

Boas Práticas são os procedimentos necessários para garantir a qualidade sanitária dos alimentos e abrangem todos os aspectos que se relacionam com:

- a- Cuidados pessoais dos manipuladores, que são as pessoas que trabalham diretamente com os alimentos;
- b- Local onde se fabrica os alimentos, os equipamentos e utensílios utilizados;
- c- Matéria-prima;
- d- Procedimentos de produção, isto é, as tecnologias utilizadas;
- e- Informações ao consumidor;
- f- Armazenamento e transporte dos produtos fabricados.

Por quê implantar BPF?

Por não terem aditivos químicos, os produtos artesanais exigem cuidados redobrados na sua fabricação, para evitar contaminações nocivas à saúde do consumidor e assegurar maior durabilidade aos produtos e para que este atenda às normas higiênico-sanitárias e de qualidade.

APLICAÇÃO DAS BPF's NA PRODUÇÃO DE QUEIJO ARTESANAL

Os elementos de boas práticas de fabricação contempladas pelo queijo envolvem, controle sanitário do rebanho, obtenção higiênica do leite, instalações, higiene pessoal, processo de produção, equipamentos e utensílios, qualidade da água, limpeza e sanitização, armazenamento, transporte e comercialização, controle integrado de pragas e por fim tratamento de resíduos/efluentes.

1. CONTROLE SANITÁRIO DO REBANHO

Para assegurar a qualidade do queijo e sua adequação para o consumo humano, o produtor deverá especificar quais são as medidas adotadas para o controle sanitário do rebanho. Como:

- I- Vacinação contra febre aftosa, com vacina trivalente a partir de um dia de vida;
- II- Vacinação contra brucelose em fêmeas de 3 a 8 meses de idade;
- III- Vacinação contra raiva do herbívoro, com vacina inativada, a partir dos três meses de idade, uma vez ao ano;
- IV- Teste de diagnóstico para brucelose;
- V- Teste de diagnóstico para tuberculose;
- VI- Controle de mamite nos animais;
- VII- Controle de parasitas e outras manifestações patológicas, que comprometam a saúde do rebanho ou a qualidade do leite;
- VIII- Controle de insetos, carrapatos, vermes e qualquer outra praga.

É obrigatório o exame clínico dos animais por Médico Veterinário habilitado não se permitindo o aproveitamento do leite de fêmeas que:

- não apresentem clinicamente sãs e em bom estado de nutrição;

- estejam no período final de gestação ou que ainda apresente o colostro na sua composição (início da lactação);
- sejam reagentes positivas às provas de brucelose e tuberculose;
- apresentem quaisquer sintomas de doenças no aparelho genital ou lesões no úbere e tetos, com mamite clínica, febre, infecções generalizadas, enterites com diarreia, e que sejam suspeitas ou acometidas de outras doenças infecto-contagiosas;
- tenham sido tratadas com substâncias nocivas à saúde do homem pela transmissão através do leite, salvo quando houver o respeito ao período de carência desses produtos.

Qualquer alteração no estado de saúde dos animais, capaz de modificar a qualidade sanitária do leite, constatada durante ou após a ordenha implicará na condenação imediata desse leite e do conjunto a ele misturado. As fêmeas em tais condições deverão ser afastadas do rebanho, em caráter provisório ou definitivo, de acordo com a gravidade da doença.

Os animais afastados da produção somente poderão voltar a ter seu leite aproveitado após exames e liberação procedidos por Médico Veterinário habilitado.

2. OBTENÇÃO HIGIÉNICA DO LEITE

As pessoas que trabalham no estábulo devem usar equipamentos de proteção individual (EPI's) como roupas limpas e adequadas, botas de borracha e gorro.



A bota é um EPI indispensável na ordenha

É obrigatório a lavagem das mãos do ordenhador com água corrente e sabão, seguida de imersão em solução de iodo 20- 30 mg/l , ou outro desinfetante, antes do início da ordenha e sempre que necessário.

O descarte dos primeiros jatos de cada teto deverá ser efetuado sobre uma caneca telada ou de fundo preto, de forma a eliminar o leite residual e auxiliar no controle de mastite. Recomenda-se o teste de CMT (*California Mastitis Test*) uma vez por mês ou quando houver dúvidas no diagnóstico com a caneca.



Teste da caneca de fundo escuro



Teste de CMT

As vacas com mastite deverão ser ordenhadas por último e seu leite não poderá ser destinado a elaboração do queijo, podendo ser destinado à alimentação animal.



Antes de ser iniciada a ordenha os animais deverão ter os tetos lavados com água corrente e tratada (2-3ppm de cloro livre).



Logo em seguida, deverá ser realizado o *pré-dipping*, ou seja, os tetos dos animais serão cobertos com solução clorada (50-100mg/l) ou outro desinfetante (iodo ou água sanitária), que não apresente risco de danos aos tetos, seguindo-se de secagem completa com papel toalha descartável, não reciclado.

Para a ordenha manual, deve-se dar preferência para balde com a parte superior parcialmente fechada, sem costuras ou soldas que dificultem sua limpeza e higienização, com o objetivo de evitar a contaminação do leite.

Durante a ordenha mecânica ou manual adotar medidas preventivas para evitar danos ao úbere e tetos do animal. Exemplo: manutenção das unhas cortadas para diminuir a infecções que possam levar à contaminação do leite.

A ordenha deve ser completa e ininterrupta.



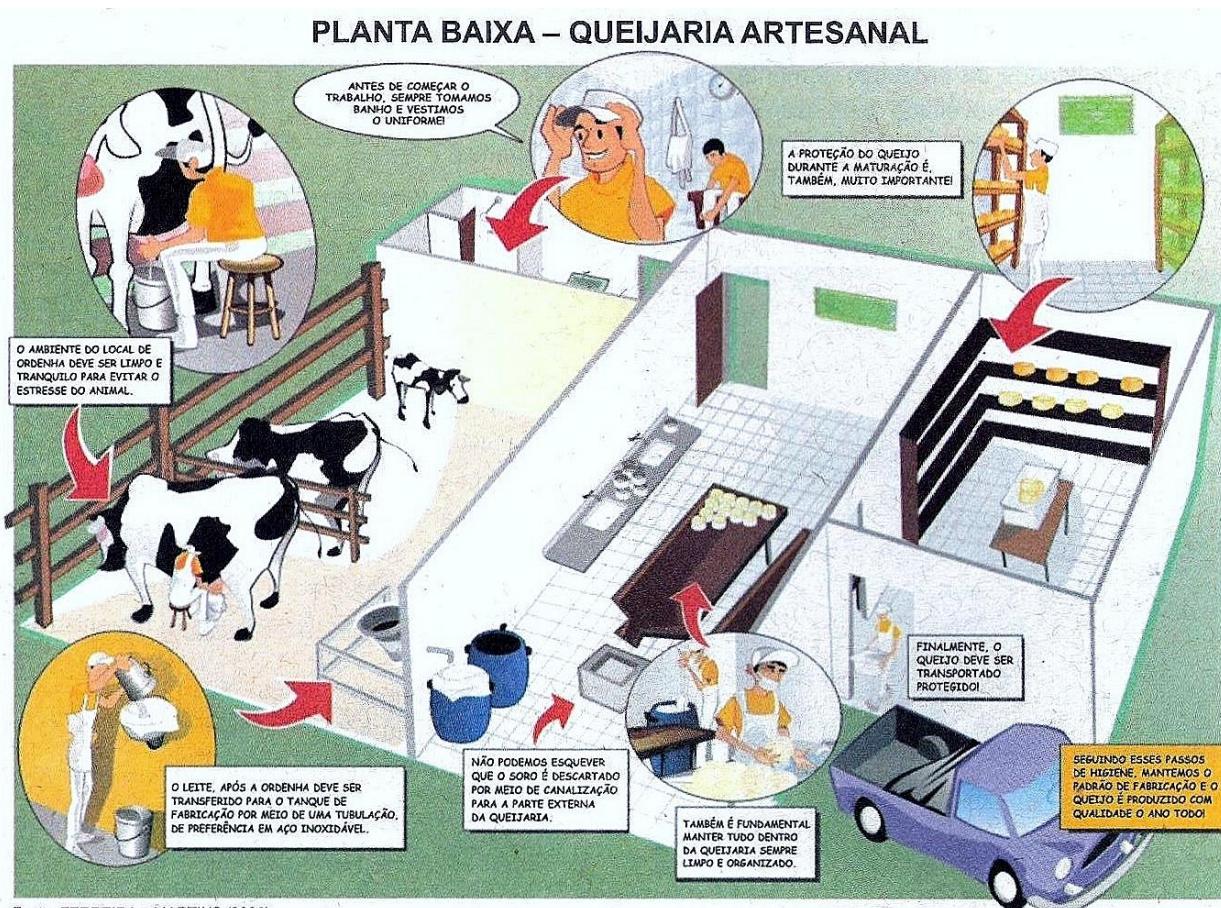
Logo após a ordenha, os animais deverão ser submetidos a desinfecção dos tetos, com solução de iodo a 20-30mg/l ou outro desinfetante recomendado por médico veterinário e que não apresente risco de danos aos tetos. Caso os bezerros continuem com as vacas após a ordenha, não é necessário o uso de iodo nesta etapa.

O leite selecionado para a produção do queijo deverá ser filtrado logo após a ordenha, em funil de passagem coador apropriado que tenha malha de 10-16 meshes e ao entrar no tanque de fabricação, em coador de 60-90 meshes. A utilização de um tecido de malha fina como o *nylon*, devidamente higienizado, pode auxiliar no processo de filtração do leite.

3. INSTALAÇÕES

A queijaria, individual ou coletiva, terá os seguintes ambientes:

- I- Área para recepção e armazenagem do leite, obedecendo aos seguintes:
 - em queijaria próxima ao local de ordenha, a passagem do leite deste local para a queijaria deverá ser realizada através de tubulação de material não tóxico, de fácil higienização e não oxidável, permanecendo vedada quando em desuso;
 - em queijaria afastada do local de ordenha, a área de recebimento deverá ter um tanque de recepção do leite, de fácil higienização, permitindo sua passagem para a área de fabricação dos queijos; nesta área também serão efetuadas as operações de controle de qualidade da matéria prima e higienização dos latões;
- II- Área de fabricação;
- III- Área de maturação (para o queijo minas artesanal) ou área de armazenamento;
- IV- Área de embalagem e expedição.



Fonte: FERRERIA e MARTINS (2006)

A propriedade produtora do queijo artesanal deverá dispor de currais de espera, com bom acabamento, dotado de piso concretado ou revestido com blocos de cimento ou pedras rejuntadas, com declive adequado e canaletas sem cantos vivos, largura, profundidade e inclinação suficientes para o completo escoamento da agua utilizada na higienização dos mesmos.

Os currais devem ser cercados com tubos de ferro galvanizado, correntes, réguas de madeira ou outro material adequado e possuir pontos de água com mangueiras para higienização, recomendando-se seu uso sob pressão.

A sala de ordenha deverá dispor de piso impermeável, revestido de cimento áspéro ou outro material apropriado, com declive adequado e canaletas sem cantos vivos, largura, profundidade e inclinação suficientes, de modo a permitires fácil escoamento das águas e resíduos orgânicos, além de pé-direito adequado á execução dos trabalhos. A cobertura deverá ser de telha cerâmica, alumínio ou similares.

O local da sala de ordenha deverá dispor de ponto de água em quantidade suficiente para a manutenção das condições de higiene antes, durante e após a ordenha e possuir rede de esgoto para o escoamento das águas servidas, canalizadas de modo a não se constituírem em fonte produtora de mau cheiro. As áreas adjacentes devem ser drenadas e possuírem escoamento para as águas pluviais.

As instalações devem ser providas de tubulações devidamente sifonadas para conduzir as águas residuais até o local de desaguamento.

A queijaria deverá dispor de iluminação natural e artificial que possibilite a realização dos trabalhos e não comprometa a higiene dos alimentos. Além disso, a iluminação não poderá alterar as cores normais do ambiente de fabricação do queijo.



As fontes de luz artificial, que estejam suspensas ou colocadas diretamente no teto e que se localizem sobre as áreas de manipulação de alimentos, deverão ser adequadas e protegidas em caso de acidentes com lâmpadas.

As instalações elétricas deverão ser embutidas ou externas e, neste caso, estarem perfeitamente revestidas por tubulações isolantes, presas e paredes e tetos, não sendo permitida fiação elétrica solta sobre a zona de manipulação de alimentos.

As instalações devem dispor de ventilação adequada de forma a evitar o calor excessivo e o acúmulo de poeira e ar contaminado.

O pé-direito da queijaria deverá ser adequado aos trabalhos, com cobertura de estrutura metálica, calhetão ou laje. Poderá ser tolerada outra cobertura, desde que seja utilizado forro de plástico rígido ou outro material aprovado, sendo proibido o uso de forro de madeira e pintura que possa descascar.

O piso da queijaria deverá ser impermeável, antiderrapante, resistente ao trânsito e impactos, de fácil higienização, sem frestas, com declividade adequada e escoamento das águas residuais através de ralos sifonados.

As paredes da queijaria deverão ser azulejadas ou de alvenaria, impermeabilizadas com tintas laváveis e cores claras, pintadas até altura não inferior a dois metros.



As portas e janelas, dotadas de telas à prova de insetos e roedores, deverão ser pintadas com tintas laváveis e de fácil limpeza e boa conservação.

A queijaria artesanal ou quarto do queijo poderá ser instalado junto ao estábulo e local de ordenha, respeitadas as seguintes condições:

- I- Inexistência de comunicação direta entre o estábulo e a queijaria, com local adequado para higienização pessoal e troca de roupa de qualquer pessoa que entrar na queijaria;
- II- Revestimento do piso do estábulo com cimento ou calçamento, com declive não inferior a 2%;

- III- Existência de valetas, no estábulo, sem cantos vivos e de largura, profundidade e inclinação suficientes para permitir fácil escoamento das águas e de resíduos orgânicos;
- IV- Existência de torneira independente para higienização do estábulo e dos animais, com abastecimento de água de boa qualidade em volume suficiente para atender aos trabalhos diários de higienização dos animais, equipamentos e instalações;
- V- O descarte do soro poderá ser destinado à alimentação animal, sendo proibida sua eliminação no ambiente sem tratamento adequado.

Na instalação da queijaria artesanal deverão ser observadas as seguintes exigências:

- I- Localização distante de pocioga, galinheiro e qualquer outra fonte produtora de mau cheiro que possa comprometer a qualidade do leite ou queijo;
- II- Impedimento, por meio de cerca, do acesso de animais e pessoas estranhas à produção;
- III- Construção em alvenaria, segundo normas técnicas estabelecidas.

A queijaria deverá possuir uma área restrita para higienização de pessoas que tenham acesso a ela, constituída de lavatório para as mãos e lava botas.

As instalações sanitária, de uso do pessoal envolvido na fabricação do queijo artesanal, deverão estar separadas dos locais de manipulação de alimentos e da sala de ordena, não sendo permitido o acesso direto e comunicação das instalações com estes locais. Deverão conter lavatório e chuveiro, destinando seus resíduos à fossa séptica.



Janela de vidro com base de alumínio e com tela protetora externa

As instalações deverão permitir a limpeza adequada e devida inspeção e ter telas e/ou dispositivos que impeçam a entrada e o alojamento de insetos, roedores e/ou pragas, e também a entrada de contaminantes do meio, tais como fumaça, pó e outros.

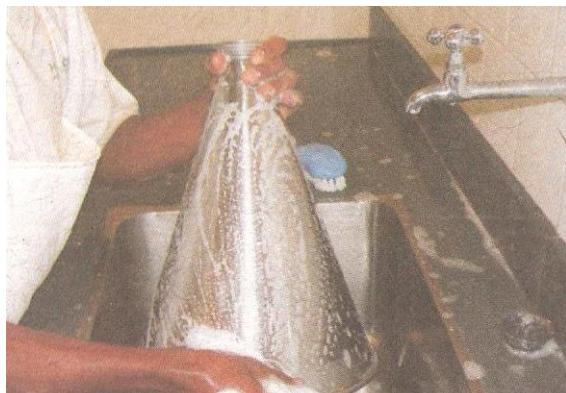


O teto deverá ser constituído e/ou acabado de modo que impeça acúmulo de sujeira e facilite a sua limpeza, assim como as paredes, reduzindo ao mínimo a condensação e a formação de mofo.

As instalações deverão dispor de abastecimento de água potável, com pressão e sistemas adequado de proteção contra contaminação.

O armazenamento da água deverá dispor de instalações apropriadas (caixas de fibra de vidro) e nas condições indicadas anteriormente.

A queijaria deverá dispor de instalações adequadas para a limpeza, desinfecção e guarda dos utensílios e equipamentos de trabalho, construídas com materiais resistentes à corrosão, que possam ser lavadas facilmente e providas de meios convenientes para abastecimento de água potável, em quantidade suficiente.



Prateleira telada para guardar materiais

A queijaria deverá possuir instalações complementares para armazenamento de insumos, materiais de limpeza, entre outros, distante do local da ordenha e fabricação.

O estabelecimento deverá dispor de meios para coleta de lixo e materiais não comestíveis, antes de sua eliminação, de modo a impedir o ingresso de pragas e evitar a contaminação das matérias primas, do alimento, da água potável, do equipamento e da queijaria ou das vias de acesso aos locais de armazenamento do lixo.

4. HIGIENE PESSOAL



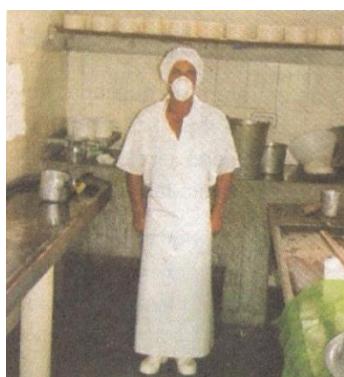
Consulta médica para exame clínico e de tuberculose

As pessoas que matem contato com o leite e o queijo deverão submeter-se a exames médicos (clínico e tuberculose) e laboratoriais antes do inicio de sua atividade e, periodicamente, sempre que houver indicação por razões clínicas ou epidemiológicas.

O manipulador que apresentar problemas de saúde que possam resultar na contaminação dos alimentos, não poderá manusear e nem estar presente na área de fabricação do queijo.

É proibida a manipulação do leite e dos queijos por qualquer pessoa que apresente feridas nas mãos e nos braços, mesmo com uso de luvas protetoras, até que a determinação médica ateste a inexistência de risco. A pessoa que apresentar este quadro deverá ser encaminhada a outro tipo de trabalho.

É recomendado ao queijeiro, principalmente se este também for o ordenhador, tomar banho antes de iniciar a fabricação dos queijos.



Toda pessoa que trabalha na manipulação dos queijos deverá usar equipamentos de proteção individual adequados às suas atividades. Na fabricação de queijos, o queijeiro deverá usar roupa protetora branca, botas brancas, máscara para boca e nariz e touca protetora, laváveis ou descartáveis.

Deverão ser colocados avisos que indiquem a obrigatoriedade e a forma correta de lavar as botas, as mãos, utensílios e materiais.

Como higienizar as mãos: lavar bem as mãos com água e sabonete neutro, demorando pelo menos 15 segundos com as mãos ensaboadas, enxaguar em água corrente e secá-las com papel toalha. Completar a higienização, sanitizando as mãos com produtos devidamente autorizados, com registro no Ministério de Saúde, ou com a seguinte solução:

1 litro de álcool a 96º GL

20ml de glicerina

320ml de água

Misturar primeiramente o álcool e a glicerina e somente depois acrescentar a água.

Durante a ordenha a fabricação dos queijos, não deverão ser usados brincos, anéis, relógios, pulseiras, cordões e demais objetos de adorno.

Barbas e bigodes devem ser diariamente aparados, as unhas devem ser mantidas limpas e aparadas, não usar esmaltes e o depósito de roupas e objetos pessoais não poderá ser localizado dentro da queijaria.

Dentro da área de fabricação é proibido todo ato que possa originar contaminação de alimentos, como comer, fumar, cuspir, espirrar, tossir, coçar a cabeça, introduzir os dedos nas orelhas, nariz e boca ou outras práticas anti-higiênicas.

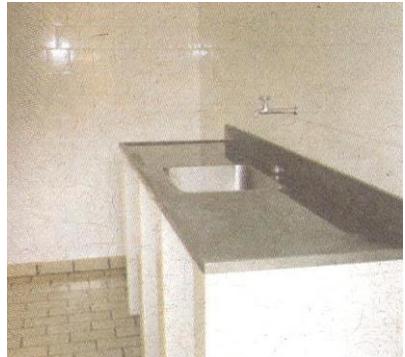
Os visitantes, antes de entrarem na queijaria, deverão usar botas, uniformes, gorro e máscaras e higienizar as mãos com detergente e solução clorada (100-200 ppm). Entretanto, devem ser evitadas visitas durante a fabricação dos queijos.

5. EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS

A queijaria deverá dispor dos seguintes materiais e equipamentos:



- I- Tanque de recepção do leite de material aprovado pelo serviço de inspeção;



- II- Tanque de coagulação do leite em material aprovado pelo serviço de inspeção (geralmente utiliza-se o mesmo tanque para recepção e coagulação do leite);



- III- Tanque com torneira de água corrente, conjugado á bancada fixa, mesa de aço inox ou outro material impermeável de fácil higienização para a limpeza de utensílios. A superfície da bancada deve ser plana e lisa, sem cantos vivos e soldas salientes;

contendo soluções desinfetantes aprovadas pelas entidades competentes, para guarda, repouso e desinfecção de material;

- IV- Tanque, cuba ou recipientes de plástico ou fibra de vidro,

- V- Coadores ou filtros de aço inox ou plástico de alta resistência, com espaçamento de 10 a 16 "meshes" para a primeira coagem ainda na sala de ordenha, e de 60 a 90 "meshes" para a segunda coagem no tanque de recepção, sendo proibido o uso de panos nas duas coagens;

- VI- Pás ou liras (verticais e horizontais), em aço inox ou polietileno;

- VII- As formas do queijo deverão ter formato cilíndrico e tamanho de acordo com a tradição e serem de plástico, aço inox ou outro material aprovado pelo serviço de inspeção;

- VIII- As prateleiras para maturação dos queijos poderão ser constituídas de madeira, fibra de vidro ou outro material aprovado pelo serviço de inspeção;

IX- Mesa de aço inox, granito, ardósia, fibra de vidro, resistentes á higienização.

Todos os utensílios utilizados nos locais de manipulação, que possam entrar em contato com os alimentos, deverão ser confeccionados de material que não transmita substâncias tóxicas, odores e sabores, não seja absorvente e ant corrosivo e capaz de resistir a repetidas operações de limpeza e desinfecção.

6. QUALIDADE DA ÁGUA

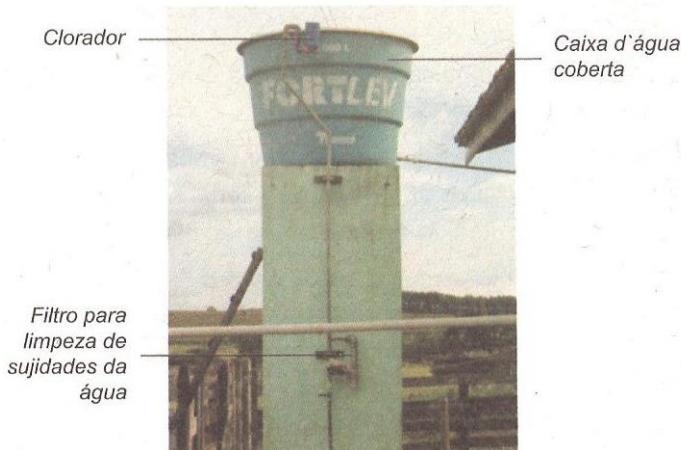
A queijaria deverá dispor de abundante sistema de abastecimento de água potável (cinco litros de água para cada litro de leite processado), com adequada pressão e distribuição para limpeza e higienização de suas instalações;

O reservatório de água deverá ser tampado e construído em fibra, cimento ou outro material sanitariamente aprovado, protegido do acesso de animais e livres de contaminação.

A cada seis meses, todas as cisternas, nascentes, filtros e reservatórios do sistema de água potável deverão ser adequadamente limpos, sanitizados e protegidos da água de enxurrada e outros agentes.

A água utilizada na produção do queijo deverá ser submetida a análise físico-química e bacteriológica periodicamente. Deverá ser potável e poderá provir de nascente, cisterna revestida, protegida do meio exterior, ou de poço artesiano, observadas as seguintes condições:

- I- Ser canalizada desde a fonte até o depósito ou caixa d'água da queijaria ou do quarto de queijo;
- II- Ser filtrada antes de sua chegada ao reservatório;
- III- Ser clorada com cloradores de passagem ou outros sanitariamente recomendáveis, a uma concentração de 2 a 3 ppm(partes por milhão)



7. LIMPEZA E SANITIZAÇÃO

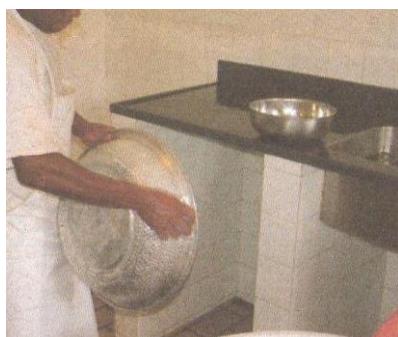
A queijaria deverá ser rigorosamente higienizada antes, durante e após a fabricação dos queijos. Os detergentes devem ser utilizados para limpeza de paredes, pisos, equipamentos e utensílios. Soluções cloradas (100-200ppm) devem ser utilizadas para desinfecção dos mesmos.

As queijarias, os equipamentos e utensílios, e todas as demais instalações, incluindo os desaguamentos, deverão ser mantidos em bom estado de conservação.

Todos os produtos de limpeza e desinfecção, devidamente autorizados, deverão ser guardados em local adequado, fora das áreas de manipulação dos alimentos. Os materiais usados no dia poderão ser armazenados em armários devidamente protegidos dentro da área de produção.

Deverão ser tomadas precauções adequadas para impedir a contaminação dos queijos quando as áreas, os equipamentos e os utensílios forem limpos com água, detergentes, desinfetantes ou soluções destes.

A superfície que entrou em contato com o alimento deverá ser lavada com água clorada, antes que volte a ser utilizada para manipulação.



Após o término da fabricação, todos os utensílios usados deverão ser cuidadosamente limpos com solução detergente, segundo de higienização com solução de desinfetante (100-200 ppm de cloro livre) por 30 minutos.



Após o término do trabalho de manutenção, o chão, as estruturas auxiliares e as paredes da área de manipulação dos queijos deverão ser imediatamente limpos.

Nas áreas de manipulação de alimentos não deverão ser utilizadas substâncias odorizantes ou desodorantes, evitando-se a mistura de odores.

É proibida a entrada de quaisquer animais em todos os lugares onde se encontrem matérias primas, material de embalagem, queijos prontos ou em qualquer lugar onde se processem etapas de fabricação do queijo.

O lixo deverá ser manipulado de maneira a evitar a contaminação dos alimentos ou da água potável. Deverá ser retirado das áreas de trabalho no mínimo uma vez por dia. Imediatamente após a sua remoção, a área de armazenamento, os recipientes utilizados para o armazenamento e todos os equipamentos que tenham entrado em contato com o lixo deverão ser desinfetados. O local de armazenamento do lixo deverá estar distante da queijaria e a coleta deverá ser feita de forma a evitar proliferação de insetos e roedores.

8. EMBALAGEM E ETIQUETAEM

O queijo minas artesanal só poderá ser embalado após maturação (umidade menor que 46%). O queijo deve ser embalados em embalagem plástica de uso único, descartável, permeável ao vapor de água, oxigênio e gás carbônico, aprovada pelo Ministério da Saúde. Essa embalagem deverá ser armazenada em local adequado que lhe garanta a qualidade higiênica.

Para a comercialização do queijo curado, com casca, não embalado, será exigida a impressão na peça, em baixo relevo, do número da inscrição estadual do produtor, acrescido do número de cadastro do produtor artesanal no IMA. É facultado o uso de rótulo contendo as informações obrigatórias, que deverá ser afixado diretamente no queijo com adesivo apropriado para alimentos, redes, cordões ou qualquer outra forma que possibilite que os mesmos cheguem até o consumidor, desde que aprovadas pelo IMA, garantindo a sua rastreabilidade (origem).

O rótulo presente na embalagem dos queijos deverá conter as seguintes informações:

- 1- denominação de venda (“Queijo Minas Artesanal” “Queijo Minas Frescal” “Doce de leite”) de forma visível, em letras destacadas e de tamanho uniforme;
- 2- identificação do produtor (nº da inscrição estadual e CNPJ, ambos em caixa alta);
- 3- lista de ingredientes;
- 4- informação nutricional (cada produtor deve fazer a análise);
- 5- conteúdo líquido, ou a menção “PESAR NA PRESENÇA DO CONSUMIDOR”;
- 6- Data da fabricação em caixa alta (DD/MM/AA);
- 7- prazo de validade em caixa alta (DD/MM/AA);
- 8- estar impresso no rótulo a expressão “PRODUTO ELABORADO COM LEITE CRU” e a microrregião de origem, em letras destacadas e em tamanho uniforme;
- 9- usar a expressão INDÚSTRIA BRASILEIRA em caixa alta.

9. ARMAZENAMENTO, TRANSPORTE E COMERCIALIZAÇÃO

As matérias primas, os ingredientes e os produtos acabados deverão ser armazenados e transportados de forma a impedir a contaminação ou proliferação de microorganismos e que protejam contra a alteração ou danos ao recipiente ou embalagem.

Durante o armazenamento deverá ser exercida inspeção periódica dos produtos acabados, a fim de que somente sejam expedidos queijos aptos para o consumo humano e cumpridas as especificações de rótulo quanto às condições e transporte.

Os ingredientes necessários para a fabricação do queijo deverão ser acondicionados em depósito próprio para essa finalidade e anexo à queijaria.

Na queijaria poderá ser estocada somente a quantidade de ingredientes de uso diário, que deverá atender as especificações técnicas pertinentes ao seu uso.

Dentro da queijaria é proibida a guarda de medicamentos e produtos tóxicos (carrapaticidas, herbicidas, entre outros), assim como saco de ração para qualquer fim, sendo necessária a construção de dependência separada da queijaria.

Todo material utilizado para embalagem deverá ser armazenado em boas condições higiênico-sanitárias, em áreas destinadas para este fim. O material deverá ser apropriado para o produto e seguir as condições previstas de armazenamento.

As prateleiras para maturação, no caso do queijo minas artesanal, poderão ser de madeira, fibra de vidro ou de qualquer outro material aprovado pelo serviço de inspeção desde que facilmente higienizáveis.

O queijo fresco deve ser armazenado em câmaras frias, freezers ou geladeiras, desde que estes mantenham uma temperatura de resfriamento entre 1 – 7°C (um e sete graus celsos) e sejam exclusivos para o armazenamento do queijo.

O transporte do queijo deverá ser realizado, da fazenda até o entreposto, preferencialmente, até as 10h da manhã em veículo aprovado pelo serviço de inspeção, com carroceria fechada, sem a presença de nenhum outro produto, de forma a evitar sua contaminação ou deformação, assim como comprometimento de sua qualidade pelos raios solares, chuvas ou poeira.

Os recipientes para transporte deverão ser inspecionados imediatamente antes do uso para certificar sua segurança e, em casos específicos, limpos e/ou desinfetados. Quando lavados deverão estar secos antes do uso.

O queijo deverá ser transportado para o varejo, devidamente embalado, acondicionado em caixas que ofereçam proteção quanto a deformações e contaminações. Não poderão ser utilizados utensílios de madeira para essa finalidade

- é proibida a realização de toalete dos queijos em estabelecimentos comerciais de qualquer natureza.

- é proibida a colocação de rotulagem e/ou embalagens primárias no queijo nos estabelecimentos comerciais de qualquer natureza.

O queijo minas artesanal não embalado, ou seja, curado com casca, será acondicionado para transporte em caixa de fibra de vidro ou similar, aprovada pelo IMA, higienizada, provida de tampa ou vedação e mantida à temperatura adequada.

10. CONTROLE INTEGRADO DE PRAGAS

Os produtores deverão adotar medidas para a erradicação de pragas (ratos, insetos, etc) mediante tratamento com agentes químicos, físicos ou biológicos autorizados.

Deverão ser evitados fatores que propiciem a proliferação de pragas, tais como: resíduos de alimentos, água estagnada, materiais amontoados em cantos e pisos, armários e equipamentos contra a parede, acúmulo de sujeira e buracos nos pisos, no teto e nas paredes, mato, grama não aparada, sucata amontoada, desordem de material fora de uso, bueiros, ralos abertos e má sanitização das áreas de lixo;

Os praguicidas (raticidas, inseticidas, desinfetantes) e quaisquer outras substâncias tóxicas, que representam risco para a saúde, deverão ser rotulados, com informações sobre sua toxicidade e emprego, armazenados em áreas externas à queijaria, separados em armários fechados com chave, destinados exclusivamente a esse fim. Eles deverão ser regulamentados por lei, perfeitamente identificados e utilizados de acordo com as instruções de rótulo.

Só deverão ser empregados praguicidas caso outra medida eficaz de controle não seja possível de ser aplicada, interrompendo-se imediatamente a fabricação de queijo, protegendo-se os utensílios da contaminação. A aplicação de praguicidas deverá ser realizada por profissional capacitado, seguindo as devidas normas de segurança.

O emprego de luvas na manipulação de produtos tóxicos deverá obedecer ás perfeitas condições de uso.