

**PESQUISA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM QUEIJOS TIPO “MINAS FRESCAL”
COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO**

Gisele Barreto Ferreira^a
Ana Carolina Santana de Oliveira^b
Jorge Marcelo Marson^c
Ana Paula Sarreta Terra^d

Resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar a presença de *Staphylococcus aureus* em amostras de queijos tipo Minas Frescal, comercializados na Região do Triângulo Mineiro e analisar as condições de higiene na manipulação e locais de armazenamento do produto. Para isso foram coletadas 50 amostras de queijos tipo Minas Frescal em diferentes pontos de venda; ademais, foi aplicado um formulário de campo abordando as condições de higiene no armazenamento e manipulação do produto. A análise das amostras foi feita por meio da cultura da solução da amostra diluída e identificação da bactéria por meio do método de Gram e das provas de catalase e coagulase. O padrão estabelecido pela ANVISA para *Staphylococcus aureus* em queijos tipo Minas Frescal é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Contudo, em 78% das amostras coletadas, o número de bactérias encontradas foi superior a esse valor, representando risco para a saúde do consumidor, podendo causar intoxicação alimentar. De acordo com o formulário aplicado, foi observado que o elevado índice de bactérias encontradas nas amostras coletadas deve-se às deficiências higiênicas durante a manipulação e a forma inadequada de armazenar o produto.

Palavras-chave: Queijo frescal. *Staphylococcus aureus*. Contaminação. Intoxicação alimentar.

RESEARCH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN “MINAS FRESCAL” CHEESE MARKETED
IN THE REGION OF TRIÂNGULO MINEIRO

Abstract

The aim of the study was to verify the presence of *Staphylococcus aureus* in “Minas Frescal” cheese’s samples, marketed in the region of Triângulo Mineiro and to

^a Graduanda do curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Uberaba (CESUBE).

^b Doutoranda em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).
anasantanoli@yahoo.com

^c Doutorando em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).
wushu_jmmarson@yahoo.com.br

^d Professora da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e do Centro de Ensino Superior de Uberaba (CESUBE).
csarreta@terra.com.br

Endereço para correspondência: Avenida Frei Paulino, nº. 30, Abadia, Uberaba, Minas Gerais. CEP 38025-180,
csarreta@terra.com.

examine the conditions of hygiene in handling and storage of the local product. Fifty samples of "Minas Frescal" cheese were collected at different points of sale; besides a formulary was applied to understand the hygiene conditions in the storage and handling of the product. The analysis of samples was done through the culture of the diluted sample solution and identification of the bacteria through the Gram method and catalase and coagulase tests. The standard established by ANVISA for *Staphylococcus aureus* in "Minas Frescal" cheese is 5.0×10^2 CFU/g. However 78% of the samples had bacterial count above normal values, which represents a risk to the consumer's health and may cause food poisoning. According to the application form, it was observed that the high levels of bacteria found in samples are due to hygienic shortcomings in the handling and inappropriate way to store the product.

Key words: Cheese. *Staphylococcus aureus*. Contamination. Food poisoning.

INVESTIGACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN QUESOS TIPO "FRESCAL MINAS" COMERCIALIZADOS EN LA REGIÓN DEL TRIÁNGULO MINERO

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo verificar la presencia de *Staphylococcus aureus* en muestras de queso Minas Frescal comercializados en la región del Triángulo Minero y analizar las condiciones de higiene en los lugares de manipulación y almacenamiento del producto. Para ello se recogieron 50 muestras de queso Minas Frescal en diferentes puntos de ventas, además, se aplicó un formulario de campo al abordar las condiciones de higiene en el almacenamiento y la manipulación del producto. El análisis de la muestra fue realizado a través de la cultura de la solución de la muestra diluida e identificación de la bacteria por el método de Gram y de los exámenes catalasa y coagulasa. El patrón establecido por la ANVISA para *Staphylococcus aureus* en el queso Minas Frescal es de $5,0 \times 10^2$ ufc/g. Sin embargo, en el 78% de las muestras, el número de bacterias que se encuentran fue superior a este valor, lo que representa un riesgo para la salud de los consumidores y puede causar intoxicación alimentaria. De acuerdo con el formulario aplicado, se observó que los altos niveles de bacterias que se encuentran en las muestras se deben a deficiencias higiénicas en la manipulación y la forma inadecuada de almacenamiento del producto.

Palabras-clave: Queso fresco. *Staphylococcus aureus*. Contaminación. Intoxicación alimentaria.

INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus aureus* é uma espécie bacteriana Gram-positivas, anaeróbica facultativa, pertencente à família *Micrococcaceae*, que se apresenta sob o agrupamento de cachos de uva.¹ Dentre as espécies de estafilococos, o *S. aureus* é o mais patogênico, podendo causar infecção na pele, olhos, garganta, uretra e trato gastrointestinal.²

O homem possui um reservatório natural do *S. aureus*; este microrganismo está presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, trato intestinal e pele.³ No trato

respiratório superior, especialmente nas narinas, o *S. aureus* encontra-se em aproximadamente 60% da população e assim permanece sem causar doença.⁴ Além do homem, outros animais são portadores ou apresentam-se contaminados por *S. aureus*. No gado, a infecção pela bactéria provoca a mastite estafilocócica, que contamina o leite a ser consumido ou utilizado no preparo de queijos ou similares, podendo causar intoxicação alimentar.⁵

A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das mais frequentes, ocorrendo devido à ingestão de alimentos contaminados com enterotoxinas produzidas por *S. aureus*.⁶ Os principais sintomas da intoxicação alimentar estafilocócica são: náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, sudorese, dores de cabeça, calafrios e queda de pressão. Ocorrem geralmente após trinta minutos a seis horas após a ingestão de alimentos contendo enterotoxinas.⁷ O diagnóstico baseia-se nos sintomas, sendo o curto período de incubação um fato característico da intoxicação.³ A pesquisa de enterotoxinas nos alimentos ingeridos também pode ser considerada no diagnóstico.⁸ Embora seja incomum, a fatalidade da intoxicação alimentar estafilocócica ocorre ocasionalmente em indivíduos debilitados imunologicamente, idosos e crianças de tenra idade.⁹

Pelo fato de a bactéria ser geralmente transmitida pelas mãos, os alimentos manipulados após o cozimento como tortas, cremes, pudins, produtos de carne bovina, queijos, saladas e maionese são os mais frequentemente contaminados.¹⁰ O queijo tem sido o principal alimento relacionado aos casos de intoxicação alimentar, sendo o *S. aureus* o mais importante microorganismo responsável pelas contaminações do queijo Minas Frescal.^{11,12} Este tipo de queijo apresenta grande suscetibilidade a contaminações por substâncias tóxicas, bactérias patogênicas, vírus e parasitos. Estes podem estar originalmente presentes no leite ou de alguma forma ter sido veiculados durante os processos de produção, armazenamento e distribuição.¹³

O queijo-de-minas deu origem ao queijo Minas Frescal que é bastante produzido devido ao bom rendimento na fabricação e ao fácil processamento. Sua comercialização é mais acentuada nas zonas leiteiras da região Sul e Sudeste e assume, inclusive, um caráter cultural como produto turístico.¹⁴⁻¹⁶

Entende-se por queijo Minas Frescal o queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite como coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com a ação de bactérias lácticas específicas.¹⁷ Este tipo de queijo é um alimento com elevado teor de umidade e altamente perecível. Além disso, o produto passa por uma grande manipulação durante sua fabricação e comercialização. Assim, suas características reúnem condições propícias para contaminação, sobrevivência e multiplicação bacteriana. Muitas dessas bactérias podem ser patogênicas e causar intoxicações e/ou infecções alimentares nos seres humanos.¹⁸

Os principais constituintes do queijo Minas Frescal são água, gordura, proteínas, lactose, ácido láctico, cloreto de sódio e sais diversos, que influenciam nas características organolépticas do produto como coloração, maciez, sabor e odor. No entanto, a composição desse tipo de queijo, principalmente os de fabricação artesanal, é muito variada, o que demonstra a necessidade de padronização do produto por parte dos órgãos responsáveis pelo controle de alimentos.^{16,19}

Segundo o artigo 200 do Regulamento do Serviço de Inspeção Federal (SIF), os queijos frescos e moles só devem ser feitos com o leite pasteurizado, no entanto, o queijo Minas Frescal é geralmente fabricado a partir do leite cru, às vezes ainda nas fazendas produtoras.¹⁶ Como o *Staphylococcus aureus* também pode ser encontrado no gado, as deficiências higiênicas durante a ordenha e a utilização do leite com mastite são fatores determinantes dos elevados índices de contaminação de queijos frescos por essa bactéria.²⁰ Esta contaminação também pode ocorrer no comércio varejista, durante a retalhação e embalagem do produto ou no armazenamento em depósitos ou balcões não refrigerados.¹⁶

Os manipuladores de alimentos são as fontes de contaminação mais frequentes, pois, em cerca de 40% de pessoas saudáveis, essa bactéria é encontrada colonizando as mucosas da nasofaringe. Além disso, é encontrada colonizando feridas infectadas.²¹

Embora seja exigido que o leite destinado à fabricação de queijos seja higienizado por meios físicos e submetido à pasteurização, é intensa a comercialização dos queijos que não atendem a tais especificações. Outros fatores como a pós-pasteurização, a utilização de fermentos inativos, temperaturas inadequadas e incorretas condições de manufatura e armazenagem contribuem para o comprometimento da qualidade deste tipo de queijo.²² A comercialização de queijos frescos produzidos a partir de leite cru é proibida no Brasil. No entanto a comercialização de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente tem sido realizada abertamente em alguns estados, especialmente em Minas Gerais e São Paulo.²³

A precária qualidade higiênico-sanitária destes produtos possibilita sua contaminação com microrganismos como o *S. aureus*. De acordo com a Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o limite máximo para *S. aureus* em queijos tipo Minas Frescal é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Assim, demonstra-se a grande importância da detecção e quantificação deste microrganismo nesse tipo de queijo, para se evitar intoxicações alimentares.²⁴ O nível de microrganismos encontrados nos queijos, além de se situarem acima do limite máximo estabelecido pela ANVISA, mostram-se muito próximos dos requeridos para a produção de enterotoxinas em quantidade suficiente para a ocorrência de surtos de intoxicação alimentar estafilocócica.²⁵

De acordo com o apresentado, o objetivo do presente trabalho foi verificar a presença e a quantidade de *Staphylococcus aureus* nos queijos tipo Minas Frescal comercializados na Região do Triângulo Mineiro e analisar as condições de higiene na manipulação e locais de armazenamento do produto. O projeto foi submetido à apreciação da Comissão de Biossegurança da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e aprovado sob o número CIBio/UFTM – 12.

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta das amostras e a análise da presença de *S. aureus* foram realizadas conforme descrito a seguir.

COLETA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

O trabalho consistiu em um estudo transversal, realizado no período compreendido entre janeiro e julho de 2008. Foram coletadas, em estabelecimentos comerciais da região do Triângulo Mineiro, 50 unidades de queijo tipo Minas Frescal, as quais foram etiquetadas com números, para facilitar sua identificação nos formulários de campo (Apêndice A). Das 50 unidades, 10 foram coletadas em supermercados, 10 em panificadoras, 10 em feiras livres, 10 em estabelecimentos especializados em venda de produtos lácteos, e 10 no Mercado Municipal.

Cada amostra foi representada por um produto (uma unidade de queijo), envolvido em embalagens plásticas estéreis, providas de identificação quanto à origem, procedência e condições de armazenamento e higienização dos estabelecimentos e dos manipuladores do produto.

As amostras foram encaminhadas ao laboratório da Disciplina de Laboratório Clínico (Microbiologia) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), para a realização dos testes microbiológicos de contagem de *Staphylococcus aureus*. Todo o processo de coleta e transporte foi realizado em respeito às normas encontradas no RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001.

PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

Antes de abrir as embalagens originais contendo o produto, fez-se assepsia da área externa com álcool etanol 70% para remover os contaminantes presentes. A unidade analítica de 25 gramas de amostra de queijo foi transferida para o frasco de homogeneização previamente esterilizado. Como o produto apresenta consistência sólida, foi feita a diluição para a adequada homogeneização da amostra por meio de agitação e trituração. Todo o processo foi realizado assepticamente em capela.

CONTAGEM DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

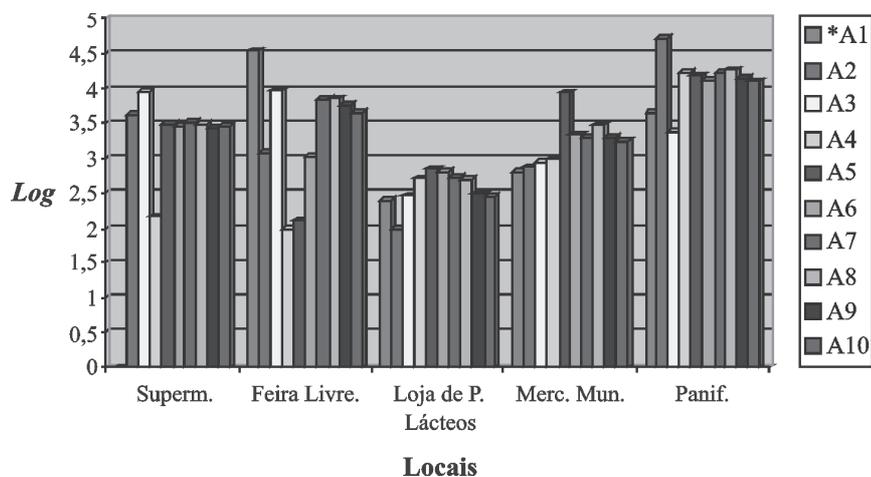
Para diluição da amostra, adicionou-se à unidade analítica de 25 gramas da amostra 225 ml de água salina peptonada e homogeneizou-se obedecendo aos cuidados para evitar contaminação. Foram feitas diluições para 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} .²⁶

Foi inoculado 1 ml de cada diluição na superfície de placas de ágar Baird Parker (BP). Este inóculo foi espalhado com alça de Drigalski, da placa de maior para a placa de menor diluição. As placas de cultura de cada amostra foram incubadas a 37° C por 24 horas em estufa microbiológica.²⁶

Após este período era verificada a presença de colônias, indicando crescimento bacteriano. A contagem de colônias foi feita com auxílio de uma lupa, em um contador de colônias. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama ou ml da amostra foi calculado multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada. A partir das colônias sugestivas de estafilococos, foram feitas coloração Gram e provas bioquímicas de catalase e coagulase. O método mais confiável para identificação do *S. aureus*, é a prova de coagulase, pois esta enzima está presente no microrganismo caracterizando a espécie. A prova de coagulase pode ser realizada em lâmina ou em tubo, a partir de microrganismos provenientes de crescimento em meio de cultura, sendo recomendado para a realização do teste o uso de plasma de coelho com EDTA.^{27,28}

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No **Gráfico 1** são representados os valores quantitativos de microrganismos, expressos em *log*, encontrados nas amostras de queijos tipo Minas Frescal analisadas. Observa-se maior quantidade da bactéria nas amostras provenientes das panificadoras e menor quantidade nas amostras provenientes das Lojas de Produtos Lácteos.



* A1, A2,...,A10 referem-se às amostras de queijos tipo Minas Frescal analisadas.

Gráfico 1. Valores quantitativos de *Staphylococcus aureus*, expressos em log, presentes nas amostras de queijo Minas Frescal analisadas – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Na **Tabela 1** são apresentados o número e a percentagem de amostras que estão dentro e fora dos padrões estabelecidos pela legislação para UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Dentre as amostras analisadas, 11 (22%) estavam de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA; destas amostras 2 (20%) são provenientes de Supermercados, 2 (20%) de Feiras Livres e 7 (70%) das Lojas de Produtos Lácteos.

No que se refere às amostras fora dos padrões exigidos pela legislação, observa-se, de acordo com a **Tabela 1**, que 39 (78%) apresentam valores superiores a $5,0 \times 10^2$ UFC/g de *Staphylococcus aureus*, que é o limite permitido pela legislação.

Tabela 1. Número e percentagem das amostras dentro e fora do padrão, de acordo com o estabelecido pela legislação para UFC/g de *Staphylococcus aureus* em queijo Minas Frescal por locais de comercialização – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Local de comercialização	Staphylococcus aureus			
	ND	%	NF	%
Supermercado	2	20	8	80
Feira Livre	2	20	8	80
Loja de Produtos Lácteos	7	70	3	30
Mercado Municipal	0	0	10	100
Panificadora	0	0	10	100
Total	11	22	39	78

ND: Número de amostras dentro do padrão estabelecido pela legislação

NF: Número de amostras fora do padrão estabelecido pela legislação

Estudo semelhante sobre o queijo Minas Frescal comercializado em Terezina (PI) mostrou que 75% das amostras de queijo analisadas estavam fora dos padrões exigidos para a contagem de *S. aureus*.²⁹ Outra pesquisa revelou que 96,67% das amostras do mesmo queijo produzido artesanalmente estão acima do limite máximo permitido.³⁰ O elevado índice de amostras fora dos padrões exigidos por lei é um fator preocupante, uma vez que a presença de *S. aureus* em grande quantidade, em alimentos como o queijo Minas Frescal, é um fator de risco para a presença de enterotoxinas estafilocócicas, representando risco para a saúde da população.

Na **Tabela 2** está representado o total de amostras de queijo Minas Frescal, artesanais e inspecionados, de acordo com a quantidade de *S. aureus* presentes. Pode-se observar que, dentre as amostras artesanais, somente uma apresentou quantidade inferior a $5,0 \times 10^2$ UFC/g, que é o permitido pela legislação; e apenas 3 das 40 amostras artesanais apresentaram quantidades entre $1,0 \times 10^2$ e $5,0 \times 10^2$ UFC/g, estando de acordo com o permitido. As 36 amostras artesanais restantes apresentaram valores superiores a $5,0 \times 10^2$ estando, portanto, fora dos padrões estabelecidos pela ANVISA. Quanto às amostras inspecionadas, 70% (7/10) apresentaram valores dentro do permitido pela legislação (**Tabela 2**).

Tabela 2. Número de amostras de queijo Minas Frescal artesanais e inspecionadas, por UFC/g de *Staphylococcus aureus* – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

UFC/g de <i>Staphylococcus aureus</i>	Amostras Artesanais	Amostras Inspeccionadas
< 1,0 x 10 ²	1	0
1,0 x 10 ² - 5,0 x 10 ²	3	7
5,0 x 10 ² - 5,0 x 10 ³	21	3
5,0 x 10 ³ - 5,0 x 10 ⁴	14	0
> 5,0 x 10 ⁴	1	0
Total	40	10

ANVISA: $\leq 5,0 \times 10^2$

Neste trabalho, os resultados obtidos foram superiores aos encontrados em outro estudo,³¹ no qual os autores observaram que, das amostras de queijo Minas Frescal analisadas, 20% dos queijos artesanais e 10% dos inspecionados apresentaram valores superiores ao permitido pela legislação para *S. aureus*. A grande quantidade de amostras artesanais (36/40) contendo *S. aureus* além do tolerado por amostra representativa ou unidade amostral pode estar relacionada às más condições de higiene durante a produção e ao uso de matéria-prima inadequada. Além do mais, as condições de armazenamento e a manipulação do produto no local de comercialização podem ter contribuído para os resultados obtidos, principalmente se estes alimentos estiverem expostos para comercialização em temperatura ambiente. Este é um fator de risco importante para o desenvolvimento de estafilococos coagulase positivos, pois a temperatura mais alta facilita o crescimento do microrganismo.

Em relação ao uso de equipamentos para manuseio do produto nos estabelecimentos comerciais, pôde-se constatar, quanto ao uso de luvas pelos manipuladores do produto, que 5 (50%) supermercados e feiras livres, 10 (100%) Lojas de Produtos Lácteos, e 6 (60%) Mercados Municipais usam luvas para manusear o produto; em relação ao uso de avental, 10 (100%) supermercados e feiras livres e 5 (50%) Lojas de Produtos Lácteos fazem o uso do avental; no que se refere ao uso de touca, 7 (70%) supermercados e 5 (50%) Lojas de Produtos Lácteos fazem o uso deste equipamento (**Tabela 3**). Verifica-se ainda na Tabela 3 que nas feiras livres não é feito o uso de toucas; no Mercado Municipal não são utilizados aventais e toucas para manusear o produto e nas panificadoras não se faz o uso de nenhum dos equipamentos (luva, avental e touca) para manuseio do produto.

Tabela 3. Número e percentagem de equipamentos para manuseio do produto por estabelecimento – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Estabelecimento	Uso de Equipamentos para manuseio					
	Luva		Avental		Touca	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Supermercado	5	50	10	100	7	70
Feira Livre	5	50	10	100	0	0
Loja de Prod. Lácteos	10	100	5	50	5	50
Mercado Municipal	6	60	0	0	0	0
Panificadora	0	0	0	0	0	0
Total	26	52	25	50	12	24

Como a presença de *S. aureus* está relacionada aos hábitos de higiene durante a manipulação do produto, a grande quantidade de microrganismos encontrados nas amostras analisadas pode estar relacionada à não utilização dos equipamentos durante seu manuseio.

A **Tabela 4** apresenta os resultados obtidos quanto à verificação do local de armazenamento do produto. Com base nesses resultados, observa-se que, em 20 (40%) estabelecimentos, o produto tem contato direto com o consumidor, ficando ao ar livre e exposto a insetos. Já em 3 (6%) estabelecimentos, a armazenagem é feita ao ar livre em local telado. Em apenas 9 (18%) estabelecimentos o produto é mantido refrigerado e em 7 (14%) apresenta-se protegido por embalagem plástica.

A presença de maiores quantidades de *S. aureus* nas amostras provenientes das panificadoras pode estar relacionada à manipulação incorreta dos queijos, visto que nas panificadoras não são utilizados equipamentos de manuseio do produto (**Tabela 3**). Assim como nas amostras provenientes das panificadoras, as demais amostras contaminadas com *S. aureus* podem ser resultado não só da manipulação incorreta do produto ou da maneira incorreta de seu armazenamento, mas principalmente ao contato direto com o consumidor e pelo fato de o produto ser exposto ao ar livre, sendo estes, meios de veiculação da bactéria (**Tabela 4**).

Tabela 4. Número e percentagem de locais de armazenamento do produto por estabelecimento – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Estabelecimento	Local de armazenamento do produto											
	Contato direto com o consumidor		Exposto a insetos		Ao ar livre		Ao ar livre em local telado		Local refrigerado		Embalagem plástica	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Supermercado	2	20	2	20	2	20	0	0	2	20	1	10
Feira Livre	3	30	3	30	3	30	3	30	0	0	0	0
Loja de Prod. Lácteos	5	50	5	50	5	50	0	0	5	50	5	50
Mercado Mun.	10	100	10	100	10	100	0	0	0	0	0	0
Panificadora	0	0	1	10	1	10	0	0	2	20	1	10
Total	20	40	20	40	20	40	3	6	9	18	7	14

Desta maneira, conclui-se que muitas amostras analisadas estavam em condições sanitárias insatisfatórias, pois apresentavam resultados da presença de microrganismos acima da permitida pela RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. A elevada quantidade de *S. aureus* encontrada nas amostras de queijo Minas Frescal analisadas evidencia indícios de práticas impróprias durante a fabricação do produto, tais como o uso de matéria-prima inadequada ou contaminação através dos manipuladores ou utensílios não higienizados, bem como durante o armazenamento e retalhação do produto no estabelecimento comercial. Deste modo, enfatiza-se a necessidade de uma fiscalização mais rigorosa dos estabelecimentos envolvidos produção e comercialização deste tipo de queijo, a fim de prevenir danos à saúde da população.

REFERÊNCIAS

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Os estafilococos. In: Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiologia médica. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p.158-62.
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WCJ. Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica; 2001.
3. Tortora GT, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p. 590-614.

4. Trabulsi LR, Teixeira LM, Bueris V. Staphylococcus aureus. In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2004. p.175-82.
5. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 2002.
6. Jay, JM. Microbiologia de alimentos. 6ª ed. São Paulo: Artmed; 2005.
7. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed; 2002.
8. Martins LT. Staphylococcus. In: Trabulsi LR. Microbiologia. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2002. p.149-56.
9. Gonçalves PMR, Franco RM. Coliformes fecais, Salmonella e Staphylococcus aureus em queijo Minas Frescal. Rev. bras. Ci. Vet. 1996;3(1):5-9.
10. Reibnitz MGR, Tavares LBB, Machado RA. Comparação entre metodologias para a determinação de Staphylococcus aureus em queijo. Rev. Farm. Bioq. USP 1997;33(2):103-6.
11. Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of clinical microbiology. 8ª ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p.384-404.
12. Rocha JS, Buriti FCA, Saad SMI. Condições de processamento e comercialização de queijo-de-minas-frescal. Arq. bras. Med. Vet. Zoot. 2006;58(2):263-72.
13. Catão RMR, Ceballos BSO. Listeria spp. Coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). Rev. Ci. Tecnol. Alim. 2001;21(3):281-7.
14. Abreu LR. Processamento do leite e tecnologia de produtos lácteos. Lavras: UFLA/FAEPE; 2005.
15. Rosa VP, Porto E, Spoto MHF. Avaliação microbiológica e sensorial de queijos Minas Frescal embalados sob atmosfera modificada. Rev. Hig. Alim. 1994;9(33):22-3.
16. Germano PML, Germano MIS. Qualidade do queijo. In: Germano PML, Germano MIS. Qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 2ª ed. rev. ampl. São Paulo: Livraria Varela; 2001. p.111-5.
17. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Extraído de [<http://www.agricultura.gov.br>], acesso em [19 de outubro de 2007].

18. Câmara SAV, Amaral GB, Muller MT, Silveira KCS, Almeida TN, Medeiro C. Avaliação microbiológica de queijo tipo Minas Frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Rev. Hig. Alim.* 2002;16(101):32-6.
19. Ordóñez JA. Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal. Porto Alegre: Artmed; 2005.
20. Salinas RD. Alimentos e nutrição: introdução à bromatologia. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.
21. Tavares LBB, Garcia JA. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo colonial comercializado em Blumenau. *Bol. Centro Pesq. Proc. Alim.* 1993;38(2):139-46.
22. Pereira ML, Gastelois MCA, Bastos EMAF, Caiaffa, WT, Faleiro ESC. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella sp.* em queijo minas. *Arq. bras. Med. Vet. Zoot.* 1999;51(5):427-31.
23. Almeida Filho ES. Características microbiológicas do queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente e comercializado no Município de Poços de Caldas – MG. [Dissertação]. Jaboticabal, SP: Universidade Estadual Paulista; 1999.
24. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001. Extraído de [http://www.abic.com.br/arquivos/leg_resolucao12_01_anvisa.pdf], acesso em [12 de junho de 2008].
25. Almeida Filho ES, Nader Filho A. Ocorrência de *S. aureus* em queijo tipo “frescal”. *Rev. Saúde Públ.* 2000;34(6):578-80.
26. APHA. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3ª ed. Washington: APHA; 1992. p.325-69.
27. Hebert GA. Hemolysis and other characteristics that help differentiate and biotype *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus schleiferi*. *J. Clin. Microb.* 1990; 28(11):2425-31.
28. Vandenesch F, Lebeau C, Bes M, Lina G, Lina B, Greenland T, et al. Clotting activity in *Staphylococcus schleiferi* subspecies from human patients. *J. Clin. Microb.* 1994;32(2):388-92.
29. Castro VS, Nascimento VLV, Oliveira DSV, Soares MJS, Silva MJM. Pesquisa de coliformes e *Staphylococcus aureus* coagulase positivo em queijo Minas Frescal comercializado em Terezina – PI. Trabalho apresentado ao 2º Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. João Pessoa, PB, 2007.

30. Loguercio AP, Aleixo JAG. Microbiologia de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente. Ci. Rural 2001;31(6):1063-7.
31. Salotti BM, Carvalho ACFB, Amaral LA, Vidal-Martins AMC, Cortez AL. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. Arq. Inst. Biol. 2006;73(2):171-5.

Recebido em 21.1.2009 e aprovado em 27.7.2010.

APÊNDICE A - FORMULÁRIO DE CAMPO

Local da Coleta: _____

Data da Coleta: ____/____/____

Horário da Coleta: _____

Procedência do produto	Rural	Inspecionado
Queijo		

Uso de equipamentos para manuseio	SIM	NÃO
Luvas		
Avental		
Touca		
Máscara		

Local de armazenamento do produto	SIM	NÃO
Em contato direto com o consumidor		
Exposto a insetos		
Ao ar livre		
Ao ar livre em local telado		
Em local refrigerado		
Em embalagem plástica		

Fonte de Financiamento: Centro de Ensino Superior de Uberaba (CESUBE); Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).

**PESQUISA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EM QUEIJOS TIPO “MINAS FRESCAL”
COMERCIALIZADOS NA REGIÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO**

Gisele Barreto Ferreira^a

Ana Carolina Santana de Oliveira^b

Jorge Marcelo Marson^c

Ana Paula Sarreta Terra^d

Resumo

Este trabalho teve como objetivo verificar a presença de *Staphylococcus aureus* em amostras de queijos tipo Minas Frescal, comercializados na Região do Triângulo Mineiro e analisar as condições de higiene na manipulação e locais de armazenamento do produto. Para isso foram coletadas 50 amostras de queijos tipo Minas Frescal em diferentes pontos de venda; ademais, foi aplicado um formulário de campo abordando as condições de higiene no armazenamento e manipulação do produto. A análise das amostras foi feita por meio da cultura da solução da amostra diluída e identificação da bactéria por meio do método de Gram e das provas de catalase e coagulase. O padrão estabelecido pela ANVISA para *Staphylococcus aureus* em queijos tipo Minas Frescal é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Contudo, em 78% das amostras coletadas, o número de bactérias encontradas foi superior a esse valor, representando risco para a saúde do consumidor, podendo causar intoxicação alimentar. De acordo com o formulário aplicado, foi observado que o elevado índice de bactérias encontradas nas amostras coletadas deve-se às deficiências higiênicas durante a manipulação e a forma inadequada de armazenar o produto.

Palavras-chave: Queijo frescal. *Staphylococcus aureus*. Contaminação. Intoxicação alimentar.

RESEARCH OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN “MINAS FRESCAL” CHEESE MARKETED
IN THE REGION OF TRIÂNGULO MINEIRO

Abstract

The aim of the study was to verify the presence of *Staphylococcus aureus* in “Minas Frescal” cheese’s samples, marketed in the region of Triângulo Mineiro and to

^a Graduada do curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Uberaba (CESUBE).

^b Doutoranda em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).
anasantanoli@yahoo.com

^c Doutorando em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).
wushu_jmmarson@yahoo.com.br

^d Professora da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e do Centro de Ensino Superior de Uberaba (CESUBE).
csarreta@terra.com.br

Endereço para correspondência: Avenida Frei Paulino, nº. 30, Abadia, Uberaba, Minas Gerais. CEP 38025-180,
csarreta@terra.com.

examine the conditions of hygiene in handling and storage of the local product. Fifty samples of "Minas Frescal" cheese were collected at different points of sale; besides a formulary was applied to understand the hygiene conditions in the storage and handling of the product. The analysis of samples was done through the culture of the diluted sample solution and identification of the bacteria through the Gram method and catalase and coagulase tests. The standard established by ANVISA for *Staphylococcus aureus* in "Minas Frescal" cheese is 5.0×10^2 CFU/g. However 78% of the samples had bacterial count above normal values, which represents a risk to the consumer's health and may cause food poisoning. According to the application form, it was observed that the high levels of bacteria found in samples are due to hygienic shortcomings in the handling and inappropriate way to store the product.

Key words: Cheese. *Staphylococcus aureus*. Contamination. Food poisoning.

INVESTIGACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN QUESOS TIPO "FRESCAL MINAS" COMERCIALIZADOS EN LA REGIÓN DEL TRIÁNGULO MINERO

Resumen

Este estudio tuvo como objetivo verificar la presencia de *Staphylococcus aureus* en muestras de queso Minas Frescal comercializados en la región del Triángulo Minero y analizar las condiciones de higiene en los lugares de manipulación y almacenamiento del producto. Para ello se recogieron 50 muestras de queso Minas Frescal en diferentes puntos de ventas, además, se aplicó un formulario de campo al abordar las condiciones de higiene en el almacenamiento y la manipulación del producto. El análisis de la muestra fue realizado a través de la cultura de la solución de la muestra diluida e identificación de la bacteria por el método de Gram y de los exámenes catalasa y coagulasa. El patrón establecido por la ANVISA para *Staphylococcus aureus* en el queso Minas Frescal es de $5,0 \times 10^2$ ufc/g. Sin embargo, en el 78% de las muestras, el número de bacterias que se encuentran fue superior a este valor, lo que representa un riesgo para la salud de los consumidores y puede causar intoxicación alimentaria. De acuerdo con el formulario aplicado, se observó que los altos niveles de bacterias que se encuentran en las muestras se deben a deficiencias higiénicas en la manipulación y la forma inadecuada de almacenamiento del producto.

Palabras-clave: Queso fresco. *Staphylococcus aureus*. Contaminación. Intoxicación alimentaria.

INTRODUÇÃO

O *Staphylococcus aureus* é uma espécie bacteriana Gram-positivas, anaeróbica facultativa, pertencente à família *Micrococcaceae*, que se apresenta sob o agrupamento de cachos de uva.¹ Dentre as espécies de estafilococos, o *S. aureus* é o mais patogênico, podendo causar infecção na pele, olhos, garganta, uretra e trato gastrointestinal.²

O homem possui um reservatório natural do *S. aureus*; este microrganismo está presente em diversas partes do corpo, como fossas nasais, garganta, trato intestinal e pele.³ No trato

respiratório superior, especialmente nas narinas, o *S. aureus* encontra-se em aproximadamente 60% da população e assim permanece sem causar doença.⁴ Além do homem, outros animais são portadores ou apresentam-se contaminados por *S. aureus*. No gado, a infecção pela bactéria provoca a mastite estafilocócica, que contamina o leite a ser consumido ou utilizado no preparo de queijos ou similares, podendo causar intoxicação alimentar.⁵

A intoxicação alimentar estafilocócica é uma das mais frequentes, ocorrendo devido à ingestão de alimentos contaminados com enterotoxinas produzidas por *S. aureus*.⁶ Os principais sintomas da intoxicação alimentar estafilocócica são: náuseas, vômitos, dores abdominais, diarreia, sudorese, dores de cabeça, calafrios e queda de pressão. Ocorrem geralmente após trinta minutos a seis horas após a ingestão de alimentos contendo enterotoxinas.⁷ O diagnóstico baseia-se nos sintomas, sendo o curto período de incubação um fato característico da intoxicação.³ A pesquisa de enterotoxinas nos alimentos ingeridos também pode ser considerada no diagnóstico.⁸ Embora seja incomum, a fatalidade da intoxicação alimentar estafilocócica ocorre ocasionalmente em indivíduos debilitados imunologicamente, idosos e crianças de tenra idade.⁹

Pelo fato de a bactéria ser geralmente transmitida pelas mãos, os alimentos manipulados após o cozimento como tortas, cremes, pudins, produtos de carne bovina, queijos, saladas e maionese são os mais frequentemente contaminados.¹⁰ O queijo tem sido o principal alimento relacionado aos casos de intoxicação alimentar, sendo o *S. aureus* o mais importante microorganismo responsável pelas contaminações do queijo Minas Frescal.^{11,12} Este tipo de queijo apresenta grande suscetibilidade a contaminações por substâncias tóxicas, bactérias patogênicas, vírus e parasitos. Estes podem estar originalmente presentes no leite ou de alguma forma ter sido veiculados durante os processos de produção, armazenamento e distribuição.¹³

O queijo-de-minas deu origem ao queijo Minas Frescal que é bastante produzido devido ao bom rendimento na fabricação e ao fácil processamento. Sua comercialização é mais acentuada nas zonas leiteiras da região Sul e Sudeste e assume, inclusive, um caráter cultural como produto turístico.¹⁴⁻¹⁶

Entende-se por queijo Minas Frescal o queijo fresco obtido por coagulação enzimática do leite como coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas, complementada ou não com a ação de bactérias lácticas específicas.¹⁷ Este tipo de queijo é um alimento com elevado teor de umidade e altamente perecível. Além disso, o produto passa por uma grande manipulação durante sua fabricação e comercialização. Assim, suas características reúnem condições propícias para contaminação, sobrevivência e multiplicação bacteriana. Muitas dessas bactérias podem ser patogênicas e causar intoxicações e/ou infecções alimentares nos seres humanos.¹⁸

Os principais constituintes do queijo Minas Frescal são água, gordura, proteínas, lactose, ácido láctico, cloreto de sódio e sais diversos, que influenciam nas características organolépticas do produto como coloração, maciez, sabor e odor. No entanto, a composição desse tipo de queijo, principalmente os de fabricação artesanal, é muito variada, o que demonstra a necessidade de padronização do produto por parte dos órgãos responsáveis pelo controle de alimentos.^{16,19}

Segundo o artigo 200 do Regulamento do Serviço de Inspeção Federal (SIF), os queijos frescos e moles só devem ser feitos com o leite pasteurizado, no entanto, o queijo Minas Frescal é geralmente fabricado a partir do leite cru, às vezes ainda nas fazendas produtoras.¹⁶ Como o *Staphylococcus aureus* também pode ser encontrado no gado, as deficiências higiênicas durante a ordenha e a utilização do leite com mastite são fatores determinantes dos elevados índices de contaminação de queijos frescos por essa bactéria.²⁰ Esta contaminação também pode ocorrer no comércio varejista, durante a retalhação e embalagem do produto ou no armazenamento em depósitos ou balcões não refrigerados.¹⁶

Os manipuladores de alimentos são as fontes de contaminação mais frequentes, pois, em cerca de 40% de pessoas saudáveis, essa bactéria é encontrada colonizando as mucosas da nasofaringe. Além disso, é encontrada colonizando feridas infectadas.²¹

Embora seja exigido que o leite destinado à fabricação de queijos seja higienizado por meios físicos e submetido à pasteurização, é intensa a comercialização dos queijos que não atendem a tais especificações. Outros fatores como a pós-pasteurização, a utilização de fermentos inativos, temperaturas inadequadas e incorretas condições de manufatura e armazenagem contribuem para o comprometimento da qualidade deste tipo de queijo.²² A comercialização de queijos frescos produzidos a partir de leite cru é proibida no Brasil. No entanto a comercialização de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente tem sido realizada abertamente em alguns estados, especialmente em Minas Gerais e São Paulo.²³

A precária qualidade higiênico-sanitária destes produtos possibilita sua contaminação com microrganismos como o *S. aureus*. De acordo com a Resolução RDC Nº 12, de 2 de janeiro de 2001, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o limite máximo para *S. aureus* em queijos tipo Minas Frescal é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Assim, demonstra-se a grande importância da detecção e quantificação deste microrganismo nesse tipo de queijo, para se evitar intoxicações alimentares.²⁴ O nível de microrganismos encontrados nos queijos, além de se situarem acima do limite máximo estabelecido pela ANVISA, mostram-se muito próximos dos requeridos para a produção de enterotoxinas em quantidade suficiente para a ocorrência de surtos de intoxicação alimentar estafilocócica.²⁵

De acordo com o apresentado, o objetivo do presente trabalho foi verificar a presença e a quantidade de *Staphylococcus aureus* nos queijos tipo Minas Frescal comercializados na Região do Triângulo Mineiro e analisar as condições de higiene na manipulação e locais de armazenamento do produto. O projeto foi submetido à apreciação da Comissão de Biossegurança da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM) e aprovado sob o número CIBio/UFTM – 12.

MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta das amostras e a análise da presença de *S. aureus* foram realizadas conforme descrito a seguir.

COLETA E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

O trabalho consistiu em um estudo transversal, realizado no período compreendido entre janeiro e julho de 2008. Foram coletadas, em estabelecimentos comerciais da região do Triângulo Mineiro, 50 unidades de queijo tipo Minas Frescal, as quais foram etiquetadas com números, para facilitar sua identificação nos formulários de campo (Apêndice A). Das 50 unidades, 10 foram coletadas em supermercados, 10 em panificadoras, 10 em feiras livres, 10 em estabelecimentos especializados em venda de produtos lácteos, e 10 no Mercado Municipal.

Cada amostra foi representada por um produto (uma unidade de queijo), envolvido em embalagens plásticas estéreis, providas de identificação quanto à origem, procedência e condições de armazenamento e higienização dos estabelecimentos e dos manipuladores do produto.

As amostras foram encaminhadas ao laboratório da Disciplina de Laboratório Clínico (Microbiologia) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM), para a realização dos testes microbiológicos de contagem de *Staphylococcus aureus*. Todo o processo de coleta e transporte foi realizado em respeito às normas encontradas no RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001.

PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE BACTERIOLÓGICA

Antes de abrir as embalagens originais contendo o produto, fez-se assepsia da área externa com álcool etanol 70% para remover os contaminantes presentes. A unidade analítica de 25 gramas de amostra de queijo foi transferida para o frasco de homogeneização previamente esterilizado. Como o produto apresenta consistência sólida, foi feita a diluição para a adequada homogeneização da amostra por meio de agitação e trituração. Todo o processo foi realizado assepticamente em capela.

CONTAGEM DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

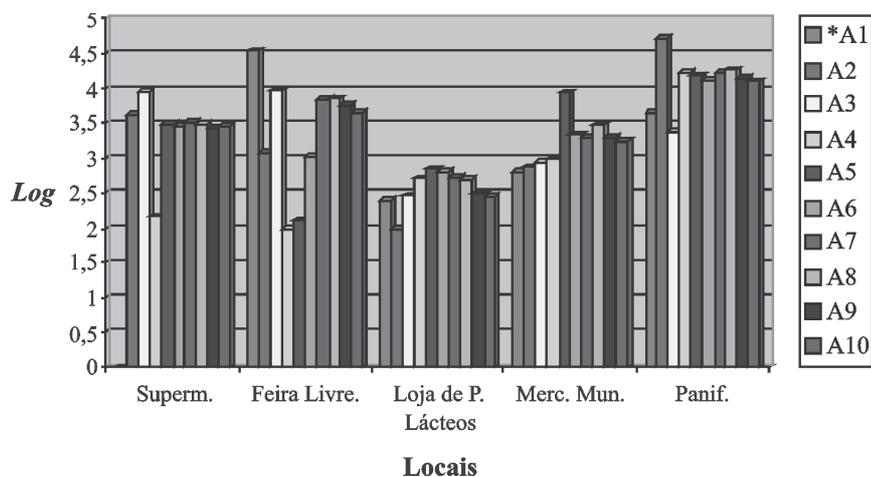
Para diluição da amostra, adicionou-se à unidade analítica de 25 gramas da amostra 225 ml de água salina peptonada e homogeneizou-se obedecendo aos cuidados para evitar contaminação. Foram feitas diluições para 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} .²⁶

Foi inoculado 1 ml de cada diluição na superfície de placas de ágar Baird Parker (BP). Este inóculo foi espalhado com alça de Drigalski, da placa de maior para a placa de menor diluição. As placas de cultura de cada amostra foram incubadas a 37° C por 24 horas em estufa microbiológica.²⁶

Após este período era verificada a presença de colônias, indicando crescimento bacteriano. A contagem de colônias foi feita com auxílio de uma lupa, em um contador de colônias. O número de unidades formadoras de colônias (UFC) por grama ou ml da amostra foi calculado multiplicando-se o número de colônias pelo inverso da diluição inoculada. A partir das colônias sugestivas de estafilococos, foram feitas coloração Gram e provas bioquímicas de catalase e coagulase. O método mais confiável para identificação do *S. aureus*, é a prova de coagulase, pois esta enzima está presente no microrganismo caracterizando a espécie. A prova de coagulase pode ser realizada em lâmina ou em tubo, a partir de microrganismos provenientes de crescimento em meio de cultura, sendo recomendado para a realização do teste o uso de plasma de coelho com EDTA.^{27,28}

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No **Gráfico 1** são representados os valores quantitativos de microrganismos, expressos em *log*, encontrados nas amostras de queijos tipo Minas Frescal analisadas. Observa-se maior quantidade da bactéria nas amostras provenientes das panificadoras e menor quantidade nas amostras provenientes das Lojas de Produtos Lácteos.



* A1, A2,...,A10 referem-se às amostras de queijos tipo Minas Frescal analisadas.

Gráfico 1. Valores quantitativos de *Staphylococcus aureus*, expressos em log, presentes nas amostras de queijo Minas Frescal analisadas – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Na **Tabela 1** são apresentados o número e a percentagem de amostras que estão dentro e fora dos padrões estabelecidos pela legislação para UFC/g de *Staphylococcus aureus*. Dentre as amostras analisadas, 11 (22%) estavam de acordo com os padrões estabelecidos pela ANVISA; destas amostras 2 (20%) são provenientes de Supermercados, 2 (20%) de Feiras Livres e 7 (70%) das Lojas de Produtos Lácteos.

No que se refere às amostras fora dos padrões exigidos pela legislação, observa-se, de acordo com a **Tabela 1**, que 39 (78%) apresentam valores superiores a $5,0 \times 10^2$ UFC/g de *Staphylococcus aureus*, que é o limite permitido pela legislação.

Tabela 1. Número e percentagem das amostras dentro e fora do padrão, de acordo com o estabelecido pela legislação para UFC/g de *Staphylococcus aureus* em queijo Minas Frescal por locais de comercialização – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Local de comercialização	Staphylococcus aureus			
	ND	%	NF	%
Supermercado	2	20	8	80
Feira Livre	2	20	8	80
Loja de Produtos Lácteos	7	70	3	30
Mercado Municipal	0	0	10	100
Panificadora	0	0	10	100
Total	11	22	39	78

ND: Número de amostras dentro do padrão estabelecido pela legislação

NF: Número de amostras fora do padrão estabelecido pela legislação

Estudo semelhante sobre o queijo Minas Frescal comercializado em Terezina (PI) mostrou que 75% das amostras de queijo analisadas estavam fora dos padrões exigidos para a contagem de *S. aureus*.²⁹ Outra pesquisa revelou que 96,67% das amostras do mesmo queijo produzido artesanalmente estão acima do limite máximo permitido.³⁰ O elevado índice de amostras fora dos padrões exigidos por lei é um fator preocupante, uma vez que a presença de *S. aureus* em grande quantidade, em alimentos como o queijo Minas Frescal, é um fator de risco para a presença de enterotoxinas estafilocócicas, representando risco para a saúde da população.

Na **Tabela 2** está representado o total de amostras de queijo Minas Frescal, artesanais e inspecionados, de acordo com a quantidade de *S. aureus* presentes. Pode-se observar que, dentre as amostras artesanais, somente uma apresentou quantidade inferior a $5,0 \times 10^2$ UFC/g, que é o permitido pela legislação; e apenas 3 das 40 amostras artesanais apresentaram quantidades entre $1,0 \times 10^2$ e $5,0 \times 10^2$ UFC/g, estando de acordo com o permitido. As 36 amostras artesanais restantes apresentaram valores superiores a $5,0 \times 10^2$ estando, portanto, fora dos padrões estabelecidos pela ANVISA. Quanto às amostras inspecionadas, 70% (7/10) apresentaram valores dentro do permitido pela legislação (**Tabela 2**).

Tabela 2. Número de amostras de queijo Minas Frescal artesanais e inspecionadas, por UFC/g de *Staphylococcus aureus* – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

UFC/g de <i>Staphylococcus aureus</i>	Amostras Artesanais	Amostras Inspeccionadas
< 1,0 x 10 ²	1	0
1,0 x 10 ² - 5,0 x 10 ²	3	7
5,0 x 10 ² - 5,0 x 10 ³	21	3
5,0 x 10 ³ - 5,0 x 10 ⁴	14	0
> 5,0 x 10 ⁴	1	0
Total	40	10

ANVISA: $\leq 5,0 \times 10^2$

Neste trabalho, os resultados obtidos foram superiores aos encontrados em outro estudo,³¹ no qual os autores observaram que, das amostras de queijo Minas Frescal analisadas, 20% dos queijos artesanais e 10% dos inspecionados apresentaram valores superiores ao permitido pela legislação para *S. aureus*. A grande quantidade de amostras artesanais (36/40) contendo *S. aureus* além do tolerado por amostra representativa ou unidade amostral pode estar relacionada às más condições de higiene durante a produção e ao uso de matéria-prima inadequada. Além do mais, as condições de armazenamento e a manipulação do produto no local de comercialização podem ter contribuído para os resultados obtidos, principalmente se estes alimentos estiverem expostos para comercialização em temperatura ambiente. Este é um fator de risco importante para o desenvolvimento de estafilococos coagulase positivos, pois a temperatura mais alta facilita o crescimento do microrganismo.

Em relação ao uso de equipamentos para manuseio do produto nos estabelecimentos comerciais, pôde-se constatar, quanto ao uso de luvas pelos manipuladores do produto, que 5 (50%) supermercados e feiras livres, 10 (100%) Lojas de Produtos Lácteos, e 6 (60%) Mercados Municipais usam luvas para manusear o produto; em relação ao uso de avental, 10 (100%) supermercados e feiras livres e 5 (50%) Lojas de Produtos Lácteos fazem o uso do avental; no que se refere ao uso de touca, 7 (70%) supermercados e 5 (50%) Lojas de Produtos Lácteos fazem o uso deste equipamento (**Tabela 3**). Verifica-se ainda na Tabela 3 que nas feiras livres não é feito o uso de toucas; no Mercado Municipal não são utilizados aventais e toucas para manusear o produto e nas panificadoras não se faz o uso de nenhum dos equipamentos (luva, avental e touca) para manuseio do produto.

Tabela 3. Número e percentagem de equipamentos para manuseio do produto por estabelecimento – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Estabelecimento	Uso de Equipamentos para manuseio					
	Luva		Avental		Touca	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Supermercado	5	50	10	100	7	70
Feira Livre	5	50	10	100	0	0
Loja de Prod. Lácteos	10	100	5	50	5	50
Mercado Municipal	6	60	0	0	0	0
Panificadora	0	0	0	0	0	0
Total	26	52	25	50	12	24

Como a presença de *S. aureus* está relacionada aos hábitos de higiene durante a manipulação do produto, a grande quantidade de microrganismos encontrados nas amostras analisadas pode estar relacionada à não utilização dos equipamentos durante seu manuseio.

A **Tabela 4** apresenta os resultados obtidos quanto à verificação do local de armazenamento do produto. Com base nesses resultados, observa-se que, em 20 (40%) estabelecimentos, o produto tem contato direto com o consumidor, ficando ao ar livre e exposto a insetos. Já em 3 (6%) estabelecimentos, a armazenagem é feita ao ar livre em local telado. Em apenas 9 (18%) estabelecimentos o produto é mantido refrigerado e em 7 (14%) apresenta-se protegido por embalagem plástica.

A presença de maiores quantidades de *S. aureus* nas amostras provenientes das panificadoras pode estar relacionada à manipulação incorreta dos queijos, visto que nas panificadoras não são utilizados equipamentos de manuseio do produto (**Tabela 3**). Assim como nas amostras provenientes das panificadoras, as demais amostras contaminadas com *S. aureus* podem ser resultado não só da manipulação incorreta do produto ou da maneira incorreta de seu armazenamento, mas principalmente ao contato direto com o consumidor e pelo fato de o produto ser exposto ao ar livre, sendo estes, meios de veiculação da bactéria (**Tabela 4**).

Tabela 4. Número e percentagem de locais de armazenamento do produto por estabelecimento – Região do Triângulo Mineiro – jan./jul. 2008

Estabelecimento	Local de armazenamento do produto											
	Contato direto com o consumidor		Exposto a insetos		Ao ar livre		Ao ar livre em local telado		Local refrigerado		Embalagem plástica	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Supermercado	2	20	2	20	2	20	0	0	2	20	1	10
Feira Livre	3	30	3	30	3	30	3	30	0	0	0	0
Loja de Prod. Lácteos	5	50	5	50	5	50	0	0	5	50	5	50
Mercado Mun.	10	100	10	100	10	100	0	0	0	0	0	0
Panificadora	0	0	1	10	1	10	0	0	2	20	1	10
Total	20	40	20	40	20	40	3	6	9	18	7	14

Desta maneira, conclui-se que muitas amostras analisadas estavam em condições sanitárias insatisfatórias, pois apresentavam resultados da presença de microrganismos acima da permitida pela RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. A elevada quantidade de *S. aureus* encontrada nas amostras de queijo Minas Frescal analisadas evidencia indícios de práticas impróprias durante a fabricação do produto, tais como o uso de matéria-prima inadequada ou contaminação através dos manipuladores ou utensílios não higienizados, bem como durante o armazenamento e retalhação do produto no estabelecimento comercial. Deste modo, enfatiza-se a necessidade de uma fiscalização mais rigorosa dos estabelecimentos envolvidos produção e comercialização deste tipo de queijo, a fim de prevenir danos à saúde da população.

REFERÊNCIAS

1. Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Os estafilococos. In: Brooks GF, Butel JS, Morse SA. Microbiologia médica. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2000. p.158-62.
2. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WCJ. Diagnóstico microbiológico. 5ª ed. Rio de Janeiro: MEDSI Editora Médica e Científica; 2001.
3. Tortora GT, Funke BR, Case CL. Microbiologia. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005. p. 590-614.

4. Trabulsi LR, Teixeira LM, Bueris V. Staphylococcus aureus. In: Trabulsi LR, Alterthum F. Microbiologia. 4ª ed. São Paulo: Atheneu; 2004. p.175-82.
5. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia dos alimentos. São Paulo: Atheneu; 2002.
6. Jay, JM. Microbiologia de alimentos. 6ª ed. São Paulo: Artmed; 2005.
7. Forsythe SJ. Microbiologia da segurança alimentar. Porto Alegre: Artmed; 2002.
8. Martins LT. Staphylococcus. In: Trabulsi LR. Microbiologia. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; 2002. p.149-56.
9. Gonçalves PMR, Franco RM. Coliformes fecais, Salmonella e Staphylococcus aureus em queijo Minas Frescal. Rev. bras. Ci. Vet. 1996;3(1):5-9.
10. Reibnitz MGR, Tavares LBB, Machado RA. Comparação entre metodologias para a determinação de Staphylococcus aureus em queijo. Rev. Farm. Bioq. USP 1997;33(2):103-6.
11. Bannerman TL. Staphylococcus, Micrococcus and other catalase-positive cocci. In: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC. Manual of clinical microbiology. 8ª ed. Washington: American Society for Microbiology; 2003. p.384-404.
12. Rocha JS, Buriti FCA, Saad SMI. Condições de processamento e comercialização de queijo-de-minas-frescal. Arq. bras. Med. Vet. Zoot. 2006;58(2):263-72.
13. Catão RMR, Ceballos BSO. Listeria spp. Coliformes totais e fecais e *E. coli* no leite cru e pasteurizado de uma indústria de laticínios, no Estado da Paraíba (Brasil). Rev. Ci. Tecnol. Alim. 2001;21(3):281-7.
14. Abreu LR. Processamento do leite e tecnologia de produtos lácteos. Lavras: UFLA/FAEPE; 2005.
15. Rosa VP, Porto E, Spoto MHF. Avaliação microbiológica e sensorial de queijos Minas Frescal embalados sob atmosfera modificada. Rev. Hig. Alim. 1994;9(33):22-3.
16. Germano PML, Germano MIS. Qualidade do queijo. In: Germano PML, Germano MIS. Qualidade das matérias-primas, doenças transmitidas por alimentos, treinamento de recursos humanos. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. 2ª ed. rev. ampl. São Paulo: Livraria Varela; 2001. p.111-5.
17. Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria Nº 146, de 7 de março de 1996. Regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos produtos lácteos. Extraído de [<http://www.agricultura.gov.br>], acesso em [19 de outubro de 2007].

18. Câmara SAV, Amaral GB, Muller MT, Silveira KCS, Almeida TN, Medeiro C. Avaliação microbiológica de queijo tipo Minas Frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Rev. Hig. Alim.* 2002;16(101):32-6.
19. Ordóñez JA. *Tecnologia de alimentos: alimentos de origem animal.* Porto Alegre: Artmed; 2005.
20. Salinas RD. *Alimentos e nutrição: introdução à bromatologia.* 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.
21. Tavares LBB, Garcia JA. Ocorrência de coliformes fecais e *Escherichia coli* em queijo colonial comercializado em Blumenau. *Bol. Centro Pesq. Proc. Alim.* 1993;38(2):139-46.
22. Pereira ML, Gastelois MCA, Bastos EMAF, Caiaffa, WT, Faleiro ESC. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella sp.* em queijo minas. *Arq. bras. Med. Vet. Zoot.* 1999;51(5):427-31.
23. Almeida Filho ES. Características microbiológicas do queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente e comercializado no Município de Poços de Caldas – MG. [Dissertação]. Jaboticabal, SP: Universidade Estadual Paulista; 1999.
24. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2001. Extraído de [http://www.abic.com.br/arquivos/leg_resolucao12_01_anvisa.pdf], acesso em [12 de junho de 2008].
25. Almeida Filho ES, Nader Filho A. Ocorrência de *S. aureus* em queijo tipo “frescal”. *Rev. Saúde Públ.* 2000;34(6):578-80.
26. APHA. American Public Health Association. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* 3ª ed. Washington: APHA; 1992. p.325-69.
27. Hebert GA. Hemolysis and other characteristics that help differentiate and biotype *Staphylococcus lugdunensis* and *Staphylococcus schleiferi*. *J. Clin. Microb.* 1990; 28(11):2425-31.
28. Vandenesch F, Lebeau C, Bes M, Lina G, Lina B, Greenland T, et al. Clotting activity in *Staphylococcus schleiferi* subspecies from human patients. *J. Clin. Microb.* 1994;32(2):388-92.
29. Castro VS, Nascimento VLV, Oliveira DSV, Soares MJS, Silva MJM. Pesquisa de coliformes e *Staphylococcus aureus* coagulase positivo em queijo Minas Frescal comercializado em Terezina – PI. Trabalho apresentado ao 2º. Congresso de Pesquisa e Inovação da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. João Pessoa, PB, 2007.

30. Loguercio AP, Aleixo JAG. Microbiologia de queijo tipo Minas Frescal produzido artesanalmente. Ci. Rural 2001;31(6):1063-7.
31. Salotti BM, Carvalho ACFB, Amaral LA, Vidal-Martins AMC, Cortez AL. Qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. Arq. Inst. Biol. 2006;73(2):171-5.

Recebido em 21.1.2009 e aprovado em 27.7.2010.

APÊNDICE A - FORMULÁRIO DE CAMPO

Local da Coleta: _____

Data da Coleta: ____/____/____

Horário da Coleta: _____

Procedência do produto	Rural	Inspecionado
Queijo		

Uso de equipamentos para manuseio	SIM	NÃO
Luvas		
Avental		
Touca		
Máscara		

Local de armazenamento do produto	SIM	NÃO
Em contato direto com o consumidor		
Exposto a insetos		
Ao ar livre		
Ao ar livre em local telado		
Em local refrigerado		
Em embalagem plástica		

Fonte de Financiamento: Centro de Ensino Superior de Uberaba (CESUBE); Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM).