



**IDENTIFICAÇÃO DOS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO  
MICROBIOLÓGICA AO LONGO DO PROCESSAMENTO DE  
QUEIJO PRATO: ESTUDO DE CASO**

**EDUARDO GARCIA ASSUMPCÃO**

**2001**

52380

MPN. 37169

**EDUARDO GARCIA ASSUMPÇÃO**

**IDENTIFICAÇÃO DOS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO  
MICROBIOLÓGICA AO LONGO DO PROCESSAMENTO DE  
QUEIJO PRATO: ESTUDO DE CASO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Prof<sup>a</sup>. Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle

DESCARTADO

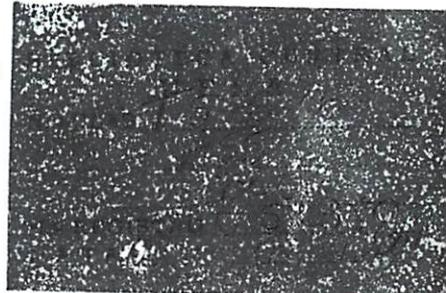
*mmibeira*

ASSINATURA

Data 10, 4, 17

BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA  
UFLA

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2001



**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

**Assumpção, Eduardo Garcia**

**Identificação dos pontos de contaminação microbiológica ao longo do  
processamento de queijo prato: estudo de caso/Eduardo Garcia Assumpção.  
Lavras: UFLA, 2001.**

**77 p. : il.**

**Orientadora: Robèrta Hilsdorf Piccoli do Valle.**

**Dissertação (Mestrado) – UFLA.**

**Bibliografia.**

**I. Queijo prato. 2. Produção. 3. Microbiologia. I. Universidade Federal de  
Lavras. II. Título**

**CDD-637.35  
-576.163**

**EDUARDO GARCIA ASSUMPÇÃO**

**IDENTIFICAÇÃO DOS PONTOS DE CONTAMINAÇÃO  
MICROBIOLÓGICA AO LONGO DO PROCESSAMENTO DE  
QUEIJO PRATO: ESTUDO DE CASO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, área de concentração em Microbiologia de Alimentos, para obtenção do título de “Mestre”.

**APROVADA em 30 de Julho de 2001.**

**Prof<sup>a</sup>. Fabiana Queiroz Ferrua**

**UFLA**

**Prof. Luiz Ronaldo de Abreu**

**UFLA**

*Roberta H. P. do Valle*

**Prof<sup>a</sup>. Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle**

**UFLA**

**(Orientadora)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

**DEDICO à minha “Amorzinha”, Mirelle;  
aos meus pais, Victor e Doralice;  
aos meus avós, Osmino e Maria;  
à memória de meus avós, José e Celina; e  
aos meus irmãos, Valbert, Patrícia e Luciano.**

**“ RESISTA ”**

**Resista um pouco mais, mesmo que as feridas latejem e que  
sua coragem esteja cochilando.**

**Resista mais um minuto e será fácil resistir aos demais.**

**Resista mais um instante, mesmo que a derrota seja um imã,  
mesmo que a decepção caminhe em sua direção.**

**Resista mais um pouco, mesmo que os invejosos digam para  
você parar, mesmo que sua esperança esteja no fim.**

**Resista mais um momento, mesmo que você não possa avistar  
ainda a linha de chegada, mesmo que as inseguranças  
brinquem de roda à sua volta.**

**Resista um pouco mais, mesmo que a sua vida esteja sendo  
pesada como a consciência dos insensatos e você se sinta  
indefeso como um pássaro de asas quebradas.**

**Resista, porque o último instante da madrugada é sempre  
aquele que puxa a manhã pelo braço e essa manhã bonita,  
ensolarada, sem algemas, nascerá para você em breve, desde  
que você resista.**

**Resista, porque estamos sentados na arquibancada do tempo,  
torcendo ansiosos para que você vença e ganhe de Deus o  
troféu que você merece: A Felicidade!**

**\*\*\***

**“Senhor, concede-me a serenidade necessária para aceitar as  
coisas que eu não posso mudar, coragem para mudar as que  
eu posso e sabedoria para distinguir umas das outras.”**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela “energia” que me move.

À minha “Amorzinha”, Mirelle, por ter me ajudado a descobrir a força que tenho dentro de mim e a quem devo o primeiro estímulo para a realização desta obra.

Agradeço aos meus pais, Victor e Doralice, pelo incessante exemplo de vida que permite que eu seja quem sou.

Aos meus avós, Osmindo e Maria, pelo apoio e sustento espiritual.

Aos meus irmãos, Valbert, Patrícia e Luciano, que, sem perceber, ajudaram-me em decisões importantes ao longo desse período. Ao Luciano, por concordar em fazer as minhas funções na nossa empresa.

À tia Elaine, tia Dolores, tia “Nenê” e ao Tadeu, por suas contribuições e disponibilidades.

À professora Roberta, que, antes de orientadora, é também uma grande amiga e extraordinário ser humano.

Aos professores Eliana e Luiz Ronaldo pela co-orientação.

Aos professores Hilário, Eliana, Fátima e Vânia Déa que abriram as portas da UFLA para mim.

Aos amigos do laboratório, Eliane, Daniela, Beto, “Seu Piano”, Cristina, Ana Cristina, Ivani, Cleube, Simone, Patrícia, Marlúcia, Dani, Alberto e Júlio. A todos os professores e funcionários do DCA/UFLA que participaram dessa conquista.

Ao laticínio Verde Campo e a seus funcionários.

À FAPEMIG/FIEMG pelo apoio financeiro.

A todos que, de uma forma ou outra, colaboraram para esse feito, ofereço minha eterna gratidão e minha mais sincera amizade.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 Queijo prato: breve história.....	4
2.2 Microorganismos e alimentos.....	6
2.2.1 Microbiologia da água.....	9
2.2.2 Microbiologia do leite.....	11
2.2.3 Proteção dos alimentos.....	13
2.3 Higiene e alimentos.....	16
2.4 Princípios de higienização.....	18
2.5 Saúde e higiene dos manipuladores de alimentos.....	20
2.6 Magnitude do problema de doenças veiculadas por alimentos.....	24
2.7 Microorganismos indicadores.....	26
2.7.1 Coliformes.....	27
2.7.2 Microorganismos aeróbios mesófilos.....	28
2.7.3 Microorganismos aeróbios psicrotróficos.....	29
2.7.4 <i>Staphylococcus</i> produtores de coagulase e <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
2.7.5 Clostrídios sulfito-redutores.....	34
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Descrição da fábrica.....	36
3.2 Questionário aplicado aos funcionários que trabalham na linha de produção do queijo prato.....	38
3.3 Amostragem.....	39
3.3.1 Leite cru.....	40

3.3.2 Leite pasteurizado.....	40
3.3.3 Mãos e antebraços de funcionários.....	40
3.3.4 Tanque de fabricação, mesa e formas.....	41
3.3.5 Salmoura e água de molho das formas.....	41
3.3.6 Água do poço.....	41
3.3.7 Água de lavagem do queijo.....	41
3.3.8 Queijo embalado.....	41
3.4 Análises microbiológicas.....	42
3.4.1 Preparo das amostras.....	42
3.4.2 Metodologia das análises.....	42
3.4.2.1 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos.....	42
3.4.2.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos.....	42
3.4.2.3 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes fecais.....	43
3.4.2.4 Contagem de <i>Staphylococcus</i> produtores de coagulase e <i>Staphylococcus aureus</i> .....	43
3.4.2.5 Contagem de clostrídios sulfito-redutores.....	44
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4.1 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos.....	45
4.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos.....	50
4.3 Determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e coliformes fecais.....	54
4.4 Contagem de <i>Staphylococcus</i> produtores de coagulase e <i>Staphylococcus aureus</i> .....	58
4.5 Contagem de clostrídios sulfito-redutores.....	63
5 CONCLUSÕES.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXO.....	74

## RESUMO

**ASSUMPÇÃO, Eduardo Garcia. Identificação dos pontos de contaminação microbiológica ao longo do processamento de queijo prato: estudo de caso. Lavras: UFLA, 77 p., 2001 (Dissertação – Mestrado em Ciência dos Alimentos).**

Excessiva manipulação expõe a massa do queijo Prato a muitas fontes de contaminação, comprometendo sua qualidade. Buscando identificar as principais fontes de contaminação por coliformes totais (CT) e fecais (CF), microrganismos aeróbios mesófilos (AM) e psicrotróficos (AP), estafilococos coagulase positiva (SC) e *Staphylococcus aureus* (SA) e clostrídios sulfito-redutores, o processamento de queijo Prato em um laticínio de Lavras, MG, foi avaliado durante seis meses. A aplicação de questionário aos funcionários e análise do fluxograma de produção, permitiu selecionar os possíveis pontos de contaminação microbiológica. Analisou-se as superfícies das fôrmas, do tanque de fabricação, das mãos e antebraços dos manipuladores, a água de molho das fôrmas, a água de lavagem da massa, o leite cru e o leite pasteurizado resfriado e o queijo Prato embalado. A legislação brasileira estabelece o limite de  $5 \times 10^2$  NMP/g de CF e  $5 \times 10^3$  UFC/g de SC para queijo Prato. Os queijos analisados apresentaram contagens de CF acima de  $3 \times 10^4$  NMP/g em todas as amostragens. Em três das cinco avaliações o número de SC esteve acima de  $1 \times 10^4$  UFC/g. Elevados números de CT e CF foram encontrados nas mãos dos manipuladores, na superfície das fôrmas e mesa, na água de molho das fôrmas e na salmoura. As mãos e antebraços dos manipuladores foram as fontes de contaminação de SC e AS, já que as altas contagens nos queijos estavam associadas a contagens elevadas nas mãos ( $4 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup>) e/ou antebraços ( $4,7 \times 10^2$  a  $3,3 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>) dos manipuladores. Altas contagens de AM, AP, CT, CF, SC e SA indicaram falhas na higienização da indústria, sendo reduzidas para valores toleráveis após a pasteurização. A água de lavagem da massa apresentou-se com contagem de AM acima de 500 UFC/ml, valor máximo aceitável pela legislação brasileira. Não foi detectado clostrídios sulfito-redutores em nenhuma amostragem. Os dados obtidos indicam que, exceto leite pasteurizado, todos os pontos avaliados foram fontes potenciais de contaminação, que poderia ser minimizada pela adoção das boas práticas de fabricação pela empresa.

---

Comitê de Orientação: Prof.<sup>a</sup> Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle – UFLA (Orientadora), Eliana Pinheiro de Carvalho – UFLA, Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA.

## ABSTRACT

ASSUMPCÃO, Eduardo Garcia. **Identification of the microbial contamination points through out “Prato cheese” processing.** Lavras: UFLA , 77p . 2001 (Dissertation – Master in Food Science).

High handling of the “Prato cheese” mass when it is ready exposes it to numberless sources of contamination, making the mass of doubtful quality. Aiming to identify the main sources of contamination by total coliformes (TC) and fecal coliformes (FC), mesophiles aerobic microorganisms (MA) and psychrotrophs (PA), positive *Staphylococcus* coagulase (SC) e *Staphylococcus aureus* (SA) and sulfite-reducers clostridial (SR), the manufacturing process of “Prato cheese” in one of the dairy plant located in Lavras city, Minas Gerais state, was evaluated during six months long. Using a questionnaire applied to possible points of microbial cheese contamination were selected. Cheese trays surfaces of the manufacturing tank, hands and forearms of employees who handle the cheese, the water where the trays were placed for soaking, washing water of the mass, raw milk, pasteurized cooked milk and the “Prato cheese” which has already been packed were analyzed. Brazilian legislation establishes a limit of  $5 \times 10^2$  PMN/g of FC and  $5 \times 10^3$  CFU/g of CS for “Prato cheese”. The analyzed cheeses presented counts of FC over  $3 \times 10^4$  PMN/g in all of the samples. The number of CS was superior to  $1 \times 10^4$  CFU/g in three of the five assessment. Higher numbers of TC and FC were found in the cheese makers hands, tray surfaces and table, the water where the trays were placed for soaking and brin. Hands and forearms of the cheese makers were probably the contamination sources of CS and AS of the cheese, once the high scores in cheese makers hands ( $4 \times 10^2$  CFU/cm<sup>2</sup>) and/or their forearms ( $4,7 \times 10^2$  to  $3,3 \times 10^3$  CFU/cm<sup>2</sup>). Lack of hygiene in the industry was also detected by high scores of MA and PA in the water where the trays were placed for soaking, tank surface, on the table and the trays. In spite of raw milk presents high scores of MA, PA, TC, FC, CS and AS, they were reduced to tolerable values after pasteurization. The water which the mass was washed came from an artesian well and had a MA count over 500 CFU/ml, a maximum value accepted by Brazilian legislation. It was not detected SR presence in none of the samples. The obtained results demonstrated that with exception of pasteurized milk, all evaluated points were potential sources of contamination that could be minimized by adopting good practices of manufacturing of the factory.

Guidance Committee: Professor Roberta Hilsdorf Piccoli do Valle – UFLA (Adviser) , Eliana Pinheiro de Carvalho – UFLA, Luiz Ronaldo de Abreu – UFLA.

# 1 INTRODUÇÃO

Qualidade e segurança são componentes indispensáveis para produtos alimentares e as indústrias conhecem bem os benefícios decorrentes da necessidade de manusear corretamente os alimentos, garantindo suas propriedades sanitárias, nutricionais e tecnológicas. Num mercado altamente competitivo, muitos querem vender alimentos, e os que compram exigem qualidade e segurança. Nesse contexto, o Brasil vive uma realidade intrigante, evidenciando, no setor alimentício, empresas que poderiam estar no primeiro mundo e empresas que enfrentam problemas primários, geralmente na esfera sanitária.

Entende-se a necessidade das barreiras sanitárias, sejam de âmbito municipal, estadual, nacional ou internacional, pois é perfeitamente compreensível a posição de quem não deseja ter novamente, problemas sanitários já erradicados, às vezes com muitos sacrifícios econômicos.

Quando o assunto é saúde e nutrição humana, torna-se rigorosamente indispensável objetivar a conquista da qualidade, seja na obtenção de produtos ou em serviços prestados. No setor de alimentos, a primeira preocupação é com a inocuidade dos produtos, seguida de outras características de qualidade dos mesmos (Kuaye, 1995). Principalmente a partir da segunda metade do século passado, os sistemas tradicionais de controle de qualidade adotados incorporaram os princípios das "Boas Práticas de fabricação (BPFs)". Embora imprescindíveis, as BPMs, pelo seu caráter demasiadamente genérico, não proporcionam a segurança desejada na elaboração dos alimentos em geral. Pela necessidade de otimizar processos específicos para maior racionalização dos meios de controle e recursos, proporcionando também a garantia de qualidade e qualidade total, sistemas normatizados como "Análise de Perigos e Pontos

Críticos de Controle (APPCC)”, a série ISO-9000 (NBR-19000) e a Gestão de Qualidade Total (TQM) foram desenvolvidos.

No Brasil, seguindo essas recomendações e através de normas que vêm sendo estabelecidas pelo governo federal, os estabelecimentos que processam e prestam serviços ao setor de alimentos e serviços de vigilância sanitária deverão adotar, em caráter obrigatório, o sistema APPCC. Na indústria de laticínios, esse tipo de preocupação ocupa um lugar bastante expressivo.

O queijo prato é produzido em praticamente todas as regiões brasileiras. É o único queijo tipicamente brasileiro e representa aproximadamente 30% da produção total de queijo no país (Londoño et al., 1998), ficando atrás somente da produção de mussarela. O queijo representa forma bastante eficiente de preservar e guardar o leite, pois mantém suas características nutritivas e aumenta sua vida útil principalmente pela redução da atividade de água.

Os queijos, assim como o leite e seus demais derivados, são alimentos que preenchem quesitos básicos relativos aos fatores intrínsecos de crescimento de microrganismos, favorecendo a manutenção e multiplicação destes, inclusive patógenos. Por isso, esses alimentos são extremamente sujeitos a alterações microbiológicas que podem acarretar conseqüências graves e às vezes irreparáveis à saúde humana. Deste modo, é de grande importância que a fabricação de produtos derivados do leite, como os queijos, seja acompanhada por práticas e princípios que busquem a obtenção e sustentação de seus padrões de qualidade, considerando desde a qualidade do animal do qual o leite foi obtido, passando pela indústria de processamento, pelo setor de comercialização e terminando na residência do consumidor final.

Sendo assim, torna-se evidente a fundamental necessidade de obtenção de dados científicos e informacionais que possam sustentar a bem sucedida implantação dessas importantes diretrizes.

Com base em todas essas considerações, buscou-se determinar as principais fontes de contaminação, dentro da linha de processamento do queijo prato, que possam vir a comprometer a qualidade microbiológica desse alimento que apresenta excelentes características nutricionais, ótima aceitação nos mercados consumidores e cujo consumo vem aumentando a cada ano.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Queijo prato: breve história

O queijo é um dos mais antigos alimentos preparados que a história da humanidade registra. A arte de sua fabricação tem início num passado remoto, milhares de anos antes do nascimento de Cristo. Os egípcios estão entre os primeiros povos que cuidaram do gado e tiveram, no leite e no queijo, fonte importante de alimentação.

Provavelmente, o Brasil começou a fabricar queijo a partir de 1536, quando chegou o primeiro rebanho de bovinos ao país. A informação mais segura de que se dispõe refere-se ao início do século XIX, quando a região do Serro, em Minas Gerais, começou a produzir queijo tipo caseiro, nos moldes do queijo serra-da-estrela de Portugal.

De grande popularidade no país, a denominação prato compreende ainda outras variedades, como o tipo lanche (de formato retangular), o cobocó (cilíndrico), o estepe (forma quadrada) e o esférico ou bola. De coloração amarelo-ouro, consistência untuosa e com pequenas olhaduras lisas e brilhantes, o queijo prato tem sabor e aroma suaves (EPAMIG, 1988).

Como gênero alimentar, o queijo representa importante papel dentro da indústria de laticínios e sua expressiva produção pode ser evidenciada na Tabela 1. Ocupa lugar de destaque na indústria nacional de laticínios e é responsável por considerável parcela de todo o volume de alimentos correspondente a essa categoria. Como pode ser visto na Tabela 2, a produção desse tipo de queijo tem apresentado crescimento constante nos últimos anos no Brasil. Sua tecnologia é uma adaptação da mistura de queijos dinamarqueses, holandeses e argentinos. É obtido de leite pasteurizado, com massa semicozida, prensado e maturado no mínimo por 30 dias (Londoño et al., 1998).

**TABELA 1. Produção dos principais lácteos no Brasil, no período 1994 – 1998 <sup>(1)</sup>**

Produto	1994	1995	1996	1997	1998 <sup>(2)</sup>
Queijo (mil toneladas)	204	224	240	260	330
Leite em pó (mil toneladas)	185	200	250	313	303
Leite longa vida (bilhões L)	0,7	1,0	1,7	2,4	3,1
Leite pasteurizado (bilhões L)	2,7	2,9	2,7	2,5	2,7

(1) produção sob inspeção

(2) estimativa

Fonte: Leite Brasil, 2000 (citado em [www.cel.org.br](http://www.cel.org.br))

O queijo prato apresenta, aproximadamente, 40 a 43% de umidade, pH de 5,2 a 5,5 (Londoño, 1998; Oliveira, 1986) e 1,7% de sal (Oliveira, 1986). Todas as variedades encontradas no mercado são preparadas da mesma maneira, somente variando sua apresentação (Londoño et al., 1998).

**TABELA 2. Produção de queijo prato no Brasil, em toneladas, no período 1990-1998 <sup>(1)</sup>**

Ano	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998
Produção	46300	44200	45000	45000	54000	59400	68310	75100	79000

(1) em estabelecimentos sob inspeção federal

Fonte: SIPA/ABIQ/DESK RESEARCH, 1998 (citado em [www.cel.org.br](http://www.cel.org.br))

## **2.2 Microrganismos e alimentos**

Existem aproximadamente 200 tipos de doenças transmitidas por alimentos, sendo que 70% dos surtos e 90% dos casos são devidos a bactérias (Figueiredo, 1999).

As doenças transmitidas pelos alimentos representam um grau considerável de morbidade e de mortalidade (Silva Jr., 2001). Tradicionalmente, é dada grande ênfase à inspeção sanitária para prevenção e controle desse tipo de ocorrência (Kuaye, 1995). Porém, as inspeções nem sempre podem ser realizadas com freqüência e/ou profundidade suficientes para garantir grau satisfatório de segurança sanitária do alimento, exigido pelos produtores e pelo consumidor (ICMSF, 1997). As inspeções podem ainda ocorrer em situações nas quais não estejam sendo preparados alimentos de alto risco nem estejam presentes operações críticas. As análises microbiológicas, complementos das inspeções, são limitadas sob o ponto de vista estatístico devido ao número de amostras que se deve coletar e analisar. Quando estes resultados ficam prontos, depois de alguns dias os alimentos pesquisados já foram consumidos ou enviados para outros estabelecimentos. De acordo com as últimas pesquisas, os esforços de controle tradicionalmente empregados não têm solucionado o problema da ocorrência de enfermidades transmitidas pelos alimentos (IAMFES, 1997). Isso indica a necessidade de novo enfoque (Giese, 1991), que foi proposto por sistemas como a Análise de Perigos em Pontos Críticos de Controle (IAMFES, 1997).

Os alimentos, sejam de origem animal ou vegetal, apresentam microrganismos que são naturalmente encontrados em sua superfície ou, às vezes, no seu interior, sendo a variedade e o número dessa microbiota típicos de cada alimento (Bryan, 1974). A flora microbiana presente no alimento pode sofrer influência de fatores como a região geográfica de origem, os métodos de colheita, bem como pela forma de processamento. As características de obtenção

do alimento influenciarão diretamente em sua qualidade, aumentando ou diminuindo sua vida de prateleira ou relacionando o alimento à ocorrência de infecções ou intoxicações em seres humanos (ICMSF, 1997; Nascimento et al., 1991).

Nos últimos tempos, problemas têm surgido e se agravado progressivamente devido aos costumes e novas rotinas da vida moderna. As pessoas têm cada vez menos tempo, mesmo que seja para atividades tão fundamentais como o ato de alimentar-se. Isto tem conduzido a uma procura por refeições que demandem cada vez menos tempo (Maxcy, 1976). Como consequência dessa realidade, tornou-se necessário a produção crescente de alimentos prontos para o consumo (Bryan, 1988b). Esse crescimento na produção de alimentos industrializados não tem sido acompanhado por um suficiente acréscimo no controle de qualidade microbiológica destes produtos, o que, logicamente, contribui para aumento dos riscos de ocorrência de problemas de saúde pública relacionados com transmissão de microrganismos patogênicos pelos alimentos (Maxcy, 1976). Deve-se salientar que não só os processos de industrialização por que passam esses alimentos são importantes, mas também as etapas relacionadas à obtenção de matéria prima, distribuição e armazenamento do produto final podem ser decisivas na determinação e manutenção de sua qualidade microbiológica (Prata, 2000; Nascimento et al., 1991).

Para obter um produto final de boa qualidade, deve-se atentar para detalhes que começam na produção da matéria-prima (Dams, Beirão e Teixeira, 1995; Pinto et al., 1998). Boas práticas de higiene durante a ordenha e o resfriamento do leite até sua utilização são fatores fundamentais para a preservação da qualidade desta matéria-prima (Cullor, 1997). Na etapa referente à industrialização, cuidados com manipulação do alimento (Bryan, 1974), higienização de equipamentos e utensílios (Svensson et al., 2000; Ribeiro, Pinto

e Silva, 1991; Nader-Filho, Rossi Junior e Schocken-Iturrino, 1988) e eficiência de processos como pasteurização são indispensáveis (Gould, 1996), sendo o elo de ligação entre a indústria e a residência do consumidor final. A etapa de distribuição e comercialização contribui de forma marcante para a qualidade do produto (Nascimento et al., 1991), sendo a cadeia do frio seu principal instrumento (Silva Jr., 2001). O negligenciamento de uma dessas etapas compromete, invariavelmente, a eficiência de todas as outras (Nascimento et al., 1991). Deve-se salientar, também, que o preparo de alimentos, seja na residência do consumidor ou em estabelecimentos comerciais, constitui etapa que pode comprometer seriamente a qualidade e segurança do alimento a ser consumido. Portanto, o perigo pode estar presente instantes antes da realização da refeição (Silva Jr., 2001).

O queijo prato pode apresentar uma microbiota natural que participa ou não de sua maturação. Além dos microrganismos desejáveis, podem estar presentes microrganismos responsáveis por perdas na qualidade organoléptica, e o que é mais sério do ponto de vista da segurança, a perda da qualidade sanitária. Microrganismos do grupo dos coliformes podem provocar o chamado estufamento precoce, assim como o grupo *Clostridium* pode provocar o estufamento tardio. Essas alterações visíveis podem indicar deficiências na manipulação do alimento (Furtado, 1991). Outros contaminantes, como por exemplo salmonelas e estafilococos, podem estar presentes sem deixar nenhum sinal aparente e trazer sérios riscos à saúde do consumidor (Pereira et al., 1999; Mendes, 1999). Esses alimentos podem servir de veículo para a transmissão de patógenos, que usualmente utilizam outras vias de transmissão como resultado de contaminação acidental por secreções ou excreções de indivíduos portadores (Bryan, 1988b; Bryan, 1974).

### **2.2.1 Microbiologia da água**

A água pode ser um eficiente veiculador de doenças porque não só conserva os agentes etiológicos como os transporta a longas distâncias e tem fácil acesso ao corpo humano, externa e internamente (Bourgeois, Mescle e Zucca, 1994).

De acordo com Germano et al. (2001), o fornecimento de água de boa qualidade é essencial ao funcionamento da indústria de alimentos, sendo usada não só na operação de limpeza e sanitização, mas também no processamento, produção de vapor, entre outros. Silva Jr. (2001) afirma que quando se utiliza água de poço na indústria de alimentos, deve-se desinfetar a água pela fervura (ebulição por 2 minutos) ou filtragem e adição de hipoclorito de sódio. A dureza da água utilizada para limpeza é muito importante, principalmente em laticínios. Além da necessidade de diminuição da dureza, outros tratamentos são recomendados para a água de limpeza. Dependendo do tipo de utilização, ela deve ter características como teor de metais tóxicos e contagem microbiológica dentro de padrões estabelecidos na legislação vigente, além da ausência de odor e sabor indesejáveis. É recomendável que a indústria de alimentos, sempre que possível, tenha o seu próprio tratamento de água (Germano et al., 2001).

A água poluída destaca-se entre os fatores que geralmente se sobressaem como de importância fundamental em qualificar um estabelecimento de processamento de alimento como não higiênico. Dentre os fatores que contribuem para a entrada de microrganismos que irão compor a microbiota de estabelecimentos processadores de alimentos, cita-se a água (ICMSF, 1997). Deve-se manter a segurança da água que entra em contato direto ou indireto (superfícies de contato) com os alimentos. A portaria CVS-6/99, de 10 de março de 1999, do Centro de Vigilância Sanitária da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, traça algumas diretrizes para o controle de qualidade da água utilizada na indústria de alimentos. A água utilizada para o consumo direto ou no

preparo dos alimentos deve ser controlada independentemente das rotinas de manipulação dos alimentos. É obrigatória a existência de reservatório de água isento de rachaduras e sempre tampado, devendo ser limpo e desinfetado quando for instalado, a cada seis meses e na ocorrência de acidentes que possam contaminar a água. A água para consumo deve ser límpida, transparente, insípida e inodora. As águas de poços, minas e outras fontes alternativas só devem ser usadas desde que não exista risco de contaminação (fossa, lixo, pocilga) e quando submetidas a tratamento de desinfecção. Após a desinfecção de água, deve ser realizada análise bacteriológica. A utilização de sistema alternativo de abastecimento de água deve ser comunicada à autoridade sanitária. Análises de amostras da água devem ser feitas com periodicidade mínima mensal de parâmetros físicos, químicos e bacteriológicos. As fontes de água devem ser constantemente monitoradas e analisadas, tanto no ponto inicial como nos pontos finais de consumo. Falhas na manutenção de sistemas de purificação de água podem criar uma fonte de contaminação microbiana (Figueiredo, 1999).

Microorganismos patogênicos não se reproduzem nem vivem muito tempo nas águas. Nelas são encontrados porque foram introduzidos através de esgotos ou resíduos que continham fezes humanas ou de animais, pois o ambiente favorável à vida e à proliferação desses seres é o próprio organismo do hospedeiro. Uma vez expelidos para o ambiente externo, solo ou água, eles geralmente vivem pouco tempo, embora muitas vezes o suficiente para que sejam ingeridos por outra pessoa que se tornará contaminada. Segundo a OMS, 500 milhões de pessoas ao ano contraem enfermidades transmitidas pela água ou relacionadas à mesma, e 10 milhões delas (metade crianças) morrem.

Do ponto de vista da saúde pública, o teste de coliformes é o mais importante teste para determinar a presença de microorganismos na água, particularmente a *Escherichia coli*. A presença desses microorganismos na água significa que muito provavelmente se encontrem também microorganismos

patógenos produtores de enfermidades hídricas, e que estes germes tenham a mesma origem (Pelczar et al., 1997).

A água potável para uso na indústria de alimentos deve cumprir as normas de saúde pública. Não deve conter coliformes em número que mostre contaminação com águas residuais e de material fecal (Figueiredo, 1999). A água que irá entrar em contato com os alimentos deve cumprir as mesmas normas da água potável (ausência de coliformes fecais em 100 ml e máximo de 500 UFC/ml para microrganismos aeróbios mesófilos), além de satisfazer qualidades particulares, de acordo com o tipo de alimento a que se destina, como por exemplo, ausência de microrganismos deterioradores e patogênicos (Figueiredo, 1999; Bourgeois, Mescle e Zucca, 1994).

Vários tipos de bactérias patogênicas podem ser encontradas na água. Um patógeno entérico de animais de sangue quente isolado de águas, inclusive de águas tropicais brasileiras, é a *Yersinia enterocolitica*, apesar de ser uma espécie adaptada a baixas temperaturas. A espécie anaeróbia esporulada *Clostridium perfringens* sobrevive em águas poluídas com resíduos tóxicos que inibem o crescimento de outras espécies da microbiota. Microrganismos como *Staphylococcus aureus* também podem ser veiculados pela água e estão relacionados com intoxicação alimentar (Carvalho, 1999).

### 2.2.2 Microbiologia do leite

O leite, além de ser um meio nutritivo, é também um meio favorável à multiplicação de microrganismos. Seu excepcional valor nutritivo é devido aos seus principais constituintes: proteínas, carboidratos, gorduras, sais minerais e água (Carvalho, 1999).

Quando o leite deixa o úbere, se a vaca está sã, contém poucas bactérias que não vão se desenvolver se o leite for obtido de maneira adequada. Bactérias

do esterco, solo e água podem contaminar o leite, principalmente quando se usa ordenha manual ao invés de mecânica (Sbampato et al., 1995).

Assim sendo, torna-se importante o exame intensivo dos tipos de microrganismos encontrados no leite e dos meios através dos quais eles podem ser avaliados, controlados e empregados para fins benéficos (Varmam et al., 1991).

O desprezo das regras sanitárias resultará em leites altamente contaminados, que se deterioram com rapidez (Bishop et al., 1986; Hajdenwurcel, 1999). No entanto, a ordenha realizada sob condições higiênicas, com rigorosa obediência aos preceitos sanitários, dará, como resultado, a obtenção de um produto com baixo teor microbiano e de boa qualidade (Carvalho, 1999).

Os úberes enfermos, especialmente por mastites, são focos de contaminação. É necessário separar, na ordenha, as vacas que produzem leite contaminado (Carvalho, 1999; Germano et al., 2001; Silva Jr., 2001; Bourgeois, Mescle e Zucca, 1994).

Os homens também podem infectar as vacas (Carvalho, 1999). A mastite, por exemplo, pode ser devida a vários microrganismos, incluindo o *Staphylococcus aureus* (Zschöck, Sommerhäuser e Castaneda, 2000), cuja origem pode ser identificada no homem. A mastite é uma infecção muito difundida e de graves conseqüências econômicas (Carvalho, 1999). As bactérias infectantes são eliminadas com o leite e, portanto, podem contaminar as máquinas ordenhadoras, as mãos do ordenhador, os panos utilizados para a limpeza do úbere, etc. e atuar depois como focos de infecção, podendo transmitir a enfermidade a outros animais (Sbampato et al., 1995).

A *Escherichia coli* também pode produzir mastite. Esta é responsável por distintas enfermidades no homem (Carvalho, 1999). Apesar de não se ter descrito uma relação direta entre a mastite por *E. coli* e a enfermidade humana,

tem-se isolado uma ampla variedade de sorotipos de *E. coli* a partir do leite de vaca e é provável que alguns destes sejam patógenos para o homem (Padhye et al., 1992). Outros microrganismos de maior patogenicidade para o homem produzem também mastite bovina de forma menos freqüente. Entre eles destacam-se: *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *Clostridium perfringens* (Carvalho, 1999).

### 2.2.3 Proteção dos alimentos

Boas práticas agrícolas são o principal meio de controlar as doenças nos animais da fazenda (Sbampato et al., 1995). As enfermidades podem ser introduzidas na fazenda por animais provenientes de outras fontes e podem também ser difundidas por alimentos (ICMSF, 1997) ou água contaminados (Rice et al., 2000) e práticas insatisfatórias de destinação dos dejetos (Ribeiro, Pinto e Silva, 1999). Geralmente, os perigos são menores com a agricultura de pastoreio e aumentam com a produção mais intensiva (ICMSF, 1997; Klungel, Slghuis e Hageveen, 2000).

Com relação à produção do gado leiteiro, há um particular problema com os organismos ligados às mastites, dos quais alguns podem ser patogênicos para o homem. Historicamente, o leite e os laticínios têm sido causas importantes de enfermidades para o homem e o leite tem sido sempre considerado um dos alimentos mais perecíveis (Heuvelink et al., 1998; Sbampato et al., 1995; Germano et al., 2001). Juntamente com o advento da pasteurização, o desenvolvimento de métodos higiênicos de processamento tem diminuído dramaticamente a incidência de enfermidades humanas associadas ao leite e a perecibilidade do produto (Heuvelink et al., 1998; Figueiredo, 1999). A produção de leite é um ponto crítico de controle, no que se refere aos princípios elementares do sistema APPCC (Varmam et al., 1991; Padhye et al., 1992). Higiene insuficiente fará aumentar a contaminação microbiana do leite (Hobbs

et al., 1997). Os microrganismos podem penetrar no leite a partir de úberes, bicos, mãos humanas não limpas e de todos os equipamentos, inclusive os baldes utilizados na ordenha manual, máquinas de ordenhar, tubulações e válvulas (Germano et al., 2001). Deve-se garantir que as escovas de esfregar usadas na limpeza não espalhem a contaminação e que não sejam usados panos para esfregar. Práticas de ordenha insatisfatórias podem acentuar os efeitos nocivos da mastite, conseqüentemente, a manutenção e o uso correto das máquinas de ordenha devem receber a máxima atenção. Antes da ordenha, úberes, bicos e mãos deverão ser meticulosamente lavados. Todos os equipamentos deverão ser limpos e desinfetados antes do uso (ICMSF, 1997; Germano et al., 2001).

A multiplicação de contaminantes no leite, antes da pasteurização, particularmente de bactérias psicrófilas Gram-negativas, pode resultar na deterioração do produto durante o armazenamento posterior (Sbampato et al., 1995). Embora a maioria dos psicrófilos seja prontamente inativada pelo calor, podem permanecer ativas suas lipases e proteases termorresistentes, além de toxinas também termorresistentes (Santos, Carvalho e Abreu, 1999). Se for alto o nível inicial de contaminação bacteriana, o processo de pasteurização poderá não eliminar todos os organismos deteriorantes e as bactérias termoestáveis podem sobreviver e causar problemas nos produtos processados. O pronto resfriamento a 4 °C ou menos e o controle de tempo/temperatura durante a permanência na fazenda e no transporte para a fábrica são também considerados pontos críticos de controle. O leite deverá ser resfriado até 4 °C ou menos dentro de duas horas da ordenha. Se o tempo de permanência for de 3-4 dias, a temperatura deverá estar abaixo de 3 °C, e se for de 4 dias, é necessário uma temperatura de 2 °C ou menos (ICMSF, 1997).

Uma contaminação adicional pode ser provocada pela água, a instalação e os equipamentos de processamento usados na preparação dos produtos e pelos

trabalhadores que manipulam os víveres (Germano et al., 2001). Nos animais de sangue quente, a contaminação fecal é uma provável fonte, para o ser humano, de germes patógenos potenciais como *Salmonella*, *Escherichia coli* e outros (Silva Jr., 2001).

Alimentos crus são freqüentemente contaminados por patógenos sustentados pelo alimento, os quais podem contaminar logo as mãos das pessoas que os manipulam e serem transferidos para as roupas ou as toalhas que os alimentos ou as mãos tocam (ICMSF, 1997). Por esta razão, as mãos, após manusear alimentos crus, devem ser muito bem lavadas (Hobbs et al., 1997). Toalhas e roupas usadas nas áreas de preparação de alimentos crus não devem ser usadas onde são processados alimentos cozidos, devendo ser lavadas e fervidas freqüentemente (ICMSF, 1997). Devido ao fato de que o *Staphylococcus aureus* e alguns outros microrganismos não podem ser totalmente retirados pela lavagem das mãos ou inativados por desinfetantes, os alimentos cozidos, se possível, não devem ser tocados (Hobbs et al., 1997). A contaminação pode ser minimizada usando utensílios limpos, como garfos, colheres ou pinças, em lugar das mãos. Equipamentos automatizados podem eliminar a contaminação manual (Silva Jr., 2001; Germano et al., 2001); porém uma vez contaminadas as superfícies, os microrganismos serão transferidos para muitos itens (Silva Jr., 2001; Germano et al., 2001; Figueiredo, 1999; Abrishami et al., 1994; Criado, Suárez e Ferreirós, 1994; Zottola, 1994).

Luvas e revestimentos plásticos para os dedos podem representar uma barreira entre os alimentos e as bactérias residentes, lesões infeccionadas ou bandagens nas mãos. Contudo, eles se tomam tão contaminados como as mãos. Bactérias como *S. aureus* acumulam-se enquanto as mãos transpiram e podem multiplicar-se sobre mãos presas em luvas durante longos períodos. Assim, as luvas devem ser usadas somente para uma particular tarefa e descartadas assim que estejam sujas, furadas ou rasgadas (ICMSF, 1997).

### 2.3 Higiene e alimentos

A higiene dos alimentos cria impactos não apenas nos alimentos produzidos e consumidos localmente, mas também no comércio alimentar internacional (Prata, 2000; Figueiredo, 1999). Práticas não higiênicas durante a produção, colheita e processamento em um país podem levar a doenças veiculadas pelos alimentos ou à deterioração de alimentos em outros países. As práticas higiênicas são do interesse de todos os países, independentemente de sua base econômica e de seu padrão de vida.

As práticas higiênicas e o manuseio adequado não impedem totalmente que sejam inseridas matérias-primas contaminadas no processamento alimentar, nos serviços de alimentos ou no ambiente residencial, mas impedem seguramente a contaminação cruzada nos alimentos prontos para comer (Silva Jr., 2001). A higiene é um entre os vários fatores importantes que devem ser controlados a fim de prevenir doenças veiculadas por alimentos e/ou a deterioração dos alimentos preparados (Germano et al., 2001). O motivo para que as superfícies e o ambiente em contato com os alimentos sejam limpos e desinfetados é o de contribuir para alcançar o controle microbiano (Figueiredo, 1999; Abrishami et al., 1994; Bryan, 1974). Se deixarmos uma superfície permanecer úmida e esta umidade contiver suficientes nutrientes para permitir o crescimento microbiano, a população microbiana aumentará (Silva Jr., 2001). A taxa de crescimento e o tipo de micróbios que se multiplicará serão fortemente influenciados pela temperatura ambiente. A pior condição é um resíduo alimentar úmido num ambiente quente (ICMSF, 1997).

O processo de limpeza destina-se a retirar os resíduos alimentares que propiciam os nutrientes necessários para o crescimento microbiano. Simultaneamente, este processo pode remover também a maior parte de micróbios através da ação física de lavar e enxaguar. Isto, por si só, pode ser muito eficiente no controle da população microbiana, particularmente se não

houver retenção de umidade no item que foi lavado. Para alcançar e conservar o controle microbiano, o processo de limpeza deve reduzir adequadamente a população microbiana. A fim de contribuir para isso, o processo de limpeza deve ser acompanhado pela desinfecção por calor ou por agentes químicos (Andrade et al., 1996). Se o objeto limpo e desinfetado terá de permanecer sem uso (por exemplo durante a noite), deverá ser seco depois da limpeza e novamente desinfetado antes do uso (Silva Jr., 2001). O intervalo de tempo entre as lavagens é importante. Um fator adicional que influencia a higiene é a natureza da superfície de contato com os alimentos. É mais difícil retirar resíduos alimentares e microbiológicos das superfícies porosas de contato com alimentos as quais também demoram mais para secar. A combinação entre a dificuldade de lavar e a demora para secar aumenta a probabilidade de que permaneçam muitos resíduos alimentares e de que não se alcance o controle microbiano. O tipo de sujidade também influencia a prática da limpeza. A remoção de materiais gordurosos é facilitada usando-se água quente e sabão; as proteínas podem ser quebradas mediante agentes oxidantes como o cloro (Andrade et al., 1996). Uma vez que a superfície de contato com os alimentos tenha sido limpa e sanitizada, ela pode recontaminar-se pelo contato com superfícies não limpas, panos de limpeza sujos, alimentos crus, respingos, pó, manuseio, insetos e roedores (Silva Jr., 2001). Portanto, a tarefa de limpar não está completa a não ser que os itens limpos sejam protegidos da recontaminação entre as utilizações. O propósito principal da limpeza e desinfecção é retirar, ou reduzir para uma quantidade aceitável, a população microbiana dos equipamentos e do ambiente dos alimentos (ICMSF, 1997).

Os alimentos que estão sendo processados servem como fonte de microrganismos e também como provedores de nutrientes e de outras condições (por exemplo, pH,  $A_w$ ) que influenciam seletivamente o crescimento microbiano (Hobbs et al., 1997). A aceitação de que existe uma biota normal e que esta pode

multiplicar-se no equipamento enquanto os alimentos estão sendo processados, e mais tarde no equipamento insuficientemente limpo, conduzirá a uma melhor avaliação do papel da limpeza e da desinfecção (ICMSF, 1997).

O projeto higiênico das áreas de manipulação de produtos alimentícios deve buscar, em primeiro lugar, a prevenção dos perigos microbiológicos. Certas etapas da cadeia de manipulação de alimentos são críticas com relação à contaminação microbiana, enquanto outras são menos; estas diferenças nem sempre são levadas em conta (Figueiredo, 1999). Os fatores mais importantes que devem ser considerados na elaboração desse tipo de projeto incluem disponibilidade de suprimento de água, disposição de lixo e disponibilidade de resfriamento e de manutenção a frio (Silva Jr., 2001).

## **2.4 Princípios de higienização**

Devido às características próprias de um laticínio, em geral utiliza-se, nesse tipo de indústria, a limpeza úmida (ICMSF, 1997).

Os quatro fatores mais importantes que controlam a eficácia da limpeza e desinfecção são: seleção e concentração dos produtos químicos usados na limpeza e desinfecção, temperatura, tempo de contato e força mecânica. Mediante a variação destes quatro fatores, podem ser retirados os diversos tipos de nódos que ocorrem durante as operações de processamento alimentar e podem ser desinfetados os equipamentos (Andrade et al., 1996).

A função dos detergentes é contribuir para a remoção da sujidade. Realizam isto ajudando a soltar a sujidade que é mantida em suspensão de forma a poder ser retirada durante o enxágue. Este processo reduzirá a quantidade de micróbios presentes no equipamento, mas a principal função dos agentes de limpeza é ajudar na remoção de sujidades (ICMSF, 1997). A remoção dessas sujidades irá prevenir uma possível neutralização dos agentes sanitizantes que venham a ser usados posteriormente (Gélinas et al., 1983).

A função do desinfetante é inativar os micróbios que restam depois do equipamento ter sido completamente limpo com detergente e da sujidade ter sido afastada com o enxágue de água doce (Andrade et al., 1996).

A frequência da limpeza e desinfecção depende da natureza dos víveres sendo processados e do tipo de equipamento usado. Deve-se encontrar um equilíbrio entre o custo mínimo necessário para uma higiene adequada e os custos sensivelmente maiores do perigo dos alimentos sofrerem deterioração mais rápida que o normal, sendo responsabilizados por doenças por eles veiculadas ou sendo rejeitados pelos clientes ou pelas autoridades normativas (ICMSE, 1997; Andrade et al., 1996). A higienização de utensílios e equipamentos de laticínios é geralmente realizada imediatamente antes do seu uso.

Um sério problema relacionado com a higienização dos equipamentos na indústria de alimentos é a formação de biofilmes (Abrishami et al., 1994; Criado, Suárez e Ferrirós, 1994; Zottola, 1994). Biofilme é um processo no qual bactérias aderem a equipamentos, cercam-se de uma capa protetora de materiais orgânicos e crescem formando microcolônias (Zottola, 1994). Microorganismos deteriorantes como *Pseudomonas* podem crescer em biofilmes e contaminar o alimento durante sua produção, participando do processo de redução da vida de prateleira do produto. Situação mais séria ocorre quando patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* ou *Escherichia coli* são encontrados formando biofilmes em equipamentos na indústria de alimentos (Figueiredo, 1999). As bactérias presentes em biofilmes contam com maior resistência aos processos usuais de higienização (Figueiredo, 1999; Abrishami et al., 1994; Criado, Suárez e Ferrirós, 1994; Zottola, 1994).

## 2.5 Saúde e higiene dos manipuladores de alimentos

No corpo humano, o intestino grosso tem a maior população microbiana. Tem sido estimado que o número de microrganismos em amostras de fezes é de cem bilhões de organismos por grama de peso úmido, o que corresponde a cerca de 25% das fezes. Mais de 300 espécies bacterianas diferentes têm sido isoladas das fezes humanas. Um adulto excreta aproximadamente 30 trilhões de células bacterianas diariamente durante a defecação. A superfície relativamente seca da pele inibe o crescimento microbiano. Alguns sítios da pele são mais úmidos do que outros, incluindo a região das axilas, a região entre os dedos do pé e a pele da região inferior do tronco entre as coxas. Estas regiões têm maior quantidade de organismos da flora normal (cerca de um milhão de bactérias/cm<sup>2</sup>) que as áreas mais secas da pele (até 10 mil bactérias/cm<sup>2</sup>) (Pelczar et al., 1997).

As pessoas que colhem, abatem, armazenam, transportam, processam ou preparam os alimentos muitas vezes são responsáveis pela contaminação microbiológica destes mesmos alimentos (Bryan, 1974). Manipuladores de alimentos que estejam infectados ou colonizados por patógenos podem contaminar os víveres tocando-os (Bryan, 1988a). Qualquer manipulador de alimentos pode transferir patógenos de alimentos crus para víveres que já foram processados termicamente, estabelecendo-se, assim, a contaminação cruzada (Hobbs et al., 1997; Bryan, 1974). Processamentos insuficientemente controlados (por exemplo, aquecimento ou refrigeração inadequados) podem aumentar o perigo, permitindo a sobrevivência ou a multiplicação de organismos patógenos ou deteriorantes (Silva Jr., 2001). Dados epidemiológicos comprovaram que em 5% dos surtos relatados na Inglaterra e no País de Gales, 10% em Nova Gales do Sul, Austrália e 20% nos Estados Unidos, foram os manipuladores que contaminaram diretamente os alimentos (ICMSF, 1997).

Patógenos transmitidos pelos alimentos podem ser propagados pelas pessoas infectadas em condições variáveis, inclusive durante o período de

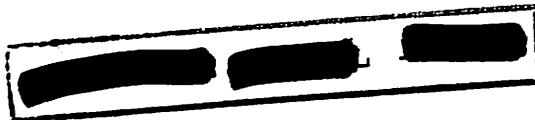
incubação antes da manifestação clínica da doença (Silva Jr., 2001). Não havendo nenhuma doença discernível durante este período, a prevenção depende de hábitos higiênicos de asseio e da lavagem das mãos particularmente cuidadosa (Figueiredo, 1999).

Durante a fase aguda da doença, a maioria das bactérias e vírus causadores de doenças entéricas são propagados em grande número nas fezes e, em alguns casos, na urina. Nesta fase, as pessoas que sofrem de salmonelose, por exemplo, podem propagar até  $10^9$  células por grama de fezes (ICMSF, 1997).

As infecções purulentas da pele freqüentemente estão gravemente carregadas de *Staphylococcus* (Pereira et al., 1999). Eles são prontamente transferidos para a comida manipulada por pessoas infectadas (Hobbs et al., 1997). Alguns envenenamentos estafilocócicos por alimentos têm sua origem em pessoas que manuseiam certos alimentos que posteriormente são submetidos a combinações inadequadas de tempo/temperatura (Pereira et al., 1999). Portanto, nenhuma pessoa com diarreia, vômito, garganta inflamada, resfriado, febre ou lesões na pele deveria manipular alimentos (Silva Jr., 2001).

Os patógenos são propagados durante a convalescência depois de uma doença aguda. Isto é conhecido como estado portador. A duração da convalescência varia com as diversas doenças e entre indivíduos. Um estado portador pode desenvolver-se após doenças leves ou abortivas, infecções assintomáticas ou doenças agudas (Silva Jr., 2001). Em alguns casos de salmonelose, a pessoa pode manter-se como portadora por mais de um ano. Portanto, não é uma decisão sábia empregar portadores em empresas de gêneros alimentares (ICMSF, 1997).

Em doenças crônicas, os patógenos podem ser propagados de forma intermitente. A prevenção é difícil. As pessoas com infecção por microrganismos virulentos devem ser proibidas de manipular alimentos (Hobbs



et al., 1997). Elas devem também ser examinadas em intervalos determinados pelo risco da infecção e alertadas sobre suas condições e quanto à necessidade de aderir rigorosamente às práticas de manipulação segura dos alimentos (ICMSF, 1997).

Alguns patógenos sustentados pelos alimentos, como *Staphylococcus aureus* e *Clostridium perfringens* colonizam pessoas saudáveis, tornando-se componentes de sua microbiota (Silva Jr., 2001). A biota bacteriana da pele é composta por organismos transientes e residentes. Os organismos transientes variam em quantidade e espécie, dependendo de indivíduo, lugar, atividade e hora do dia. Os microrganismos residentes formam uma biota bastante constante, multiplicando-se e morrendo na epiderme superficial e nas glândulas cutâneas e sebáceas. Eles estão firmemente anexados e dificilmente são retirados pela lavagem. As bactérias das glândulas sebáceas chegam à superfície com a transpiração (ICMSF, 1997). As secreções nasais podem facilmente alcançar as mãos e muitas vezes estão carregadas de estafilococos (Pereira, 1999).

Em alguns países, os códigos das práticas de saúde pública exigem que trabalhadores em gêneros alimentícios façam exames médicos de pré-emprego ou periódicos. Segundo um grupo de trabalho europeu do escritório regional da OMS, uma estratégia alternativa mais eficiente seria a educação dos trabalhadores e o rígido controle da higiene alimentar, por exemplo, aplicação do APPCC (ICMSF, 1997).

Por meio da lavagem das mãos, na qual é gerada uma espuma que depois é enxaguada, pode-se retirar muitos patógenos transientes transmitidos pelo alimento (Figueiredo, 1999). No decorrer da lavagem das mãos, uma combinação da ação emulsificadora do sabão sobre os lipídios e outros óleos e graxas, do efeito abrasivo da esfregação e da água retiram e afastam partículas soltas, dispersas e arrastadas contendo microrganismos (Silva Jr., 2001). Por este meio, as bactérias residentes não são prontamente removidas. A lavagem

rotineira das mãos tende a trazer para a superfície da pele os estafilococos que são encontrados em quantidades maiores depois do que antes da lavagem das mãos. Lavagens das mãos excessivamente freqüentes encontram a oposição dos trabalhadores, e muitas vezes da gerência, por serem consideradas perda de tempo e por desacelerarem a produção. As mãos devem ser ensaboadas, fazendo-se espuma, e esfregadas vigorosamente por pelo menos 15 segundos, sendo então enxaguadas e secas com uma toalha de papel (ICMSF, 1997).

Pêlos da cabeça, rosto ou braços, embora às vezes estejam contaminados por *Staphylococcus aureus* e outras bactérias (Pereira et al., 1999), são uma fonte menor de contaminação microbiana nos alimentos (ICMSF, 1997). Manusear, pentear e escovar os cabelos provavelmente transfere para os alimentos mais microrganismos através das mãos do que o cabelo isolado que cai na comida. Se forem usados, os chapéus ou as redes devem sempre ser colocados e ajustados antes do período de trabalho e não ajustados dentro da área de trabalho (Silva Jr., 2001).

Máscaras do tipo cirúrgica poderão ser usadas em certas situações. Apesar de serem barreiras eficientes contra a contaminação veiculada pelo ar, podem ser desconfortáveis, especialmente em ambientes que se tornam quentes pela presença de vapor. Manipular alimentos depois de manusear as máscaras que estão sendo usadas pode contaminar os víveres de forma mais intensa do que fariam os microrganismos expelidos pelo nariz e boca. A transmissão pelo ar usualmente é de importância relativamente menor na contaminação alimentar (ICMSF, 1997).

As roupas podem acumular microrganismos e materiais alimentares se não forem bem higienizadas. Trocas e lavagens periódicas das roupas diminuem os perigos de contaminação. Roupas e aventais em cores claras são valiosos para identificar manchas de resíduos alimentares e a necessidade de trocá-las (Hobbs et al., 1997).

Comer, fumar e mastigar chicletes enquanto se manipula alimentos é inaceitável e aumenta a possibilidade de transferir microrganismos de lábios e boca através das mãos para os alimentos (Figueiredo, 1999).

Boa higiene pessoal, incluindo principalmente tomar banhos regularmente, lavar os cabelos periodicamente e as mãos com frequência, geralmente diminui a probabilidade de contaminações (Bishop et al., 1986). Unhas das mãos curtas e limpas têm menos chances de contaminar os alimentos do que unhas longas e sujas, que podem albergar microrganismos patógenos. Os banheiros e as facilidades para lavar as mãos convenientemente localizados são essenciais para promover a higiene pessoal dos manipuladores de alimentos (Figueiredo, 1999).

## 2.6 Magnitude do problema de doenças veiculadas por alimentos

Pesquisas abrangentes indicam que aproximadamente 20% das doenças transmitidas por alimentos e que ocorrem na Europa e América do Norte são adquiridas no lar (ICMSF, 1997). Nos EUA, estima-se que a soma dos gastos anuais com toxinfecções alimentares causadas por *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* e *Staphylococcus aureus* varia de 2,3 a 5,7 bilhões de dólares (Hajdenwurcel, 1999). Entre as causas dessas enfermidades está a aquisição de víveres contaminados ou tóxicos (Lindqvist et al., 2000) em mercados varejistas, para serem consumidos no lar (Hobbs et al., 1997). Presume-se que enfermidades transmitidas por víveres contribuem substancialmente para a grande frequência de doenças entéricas, particularmente em crianças menores de 5 anos (Silva Jr., 2001; Germano et al., 2001). Estes dados salientam a necessidade de identificar as causas dos perigos de alimentos portadores e de direcionar, de acordo com isso, os necessários esforços educativos (Silva Jr., 2001). As partes essenciais da

filosofia do APPCC são aplicáveis em qualquer situação que envolva processamento de alimentos e risco de veiculação de patógenos (Kuaye, 1995).

Salmonelose, campylobacteriose, intoxicação estafilocócica, brucelose e yersiniose são doenças que têm sido problema nos E.U.A. e têm sua veiculação ligada ao leite e seus derivados, inclusive queijos (Bryan, 1983). Nos E.U.A., no período de 1977 a 1984, em um levantamento sobre gêneros associados à ocorrência de doenças veiculadas por alimentos, o queijo foi o segundo maior responsável dentre os produtos derivados do leite. A veiculação, por queijos, de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Brucella* e *Listeria* foi mencionada por Bryan (1988b). Segundo Bryan (1974), produtos derivados do leite estão relacionados à ocorrência de salmonelose, brucelose e outras doenças. Cullor (1997) relata que, nos E.U.A., doenças veiculadas por alimentos afetam de 6,5 milhões a 33 milhões de pessoas por ano e matam, aproximadamente, 9.000 pessoas anualmente. Ribeiro, Aleixo e Lima (1991) relataram que queijos estavam contaminados com *Escherichia coli*, frequentemente associada a casos de toxinfecções alimentares, em pesquisa realizada na cidade de Pelotas. Scheusner et al. (1973) apontam ocorrência de enterotoxina estafilocócica em queijos. Glatz et al. (1980) encontraram *Escherichia coli* em amostras de queijos analisados. Microrganismos patogênicos como *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus* podem ser encontrados em queijos (Santos, Carvalho e Abreu, 1999). Ahmed, Moustafa e Marth (1983) isolaram *Bacillus cereus* de amostras de queijo. De acordo com Pereira et al. (1999), entre os derivados do leite, especialmente queijo está relacionado com casos de doença humana por *Escherichia coli* O157:H7. Halpin-dohnalek et al. (1989) relatam que ocorrência de intoxicação alimentar estafilocócica está relacionada também com produtos derivados do leite, especialmente queijos. *Clostridium perfringens* foi isolado de amostras de queijo por El-Bassiony (1980). Craven (1980) relata

que queijos estão envolvidos com intoxicação alimentar causada por *Clostridium perfringens*.

As causas fundamentais das doenças transmitidas por alimentos são similares em todo o mundo (ICMSF, 1997). Incluem aquisição de víveres de fontes não seguras, uso de ingredientes contaminados em alimentos preparados inadequadamente, processamento a quente não oportuno ou refrigeração inadequada, contaminação por pessoas infectadas e transferência da contaminação de matérias primas, superfícies e equipamentos contaminados para o alimento já preparado, entre outras (Pereira et al., 1999; Silva Jr., 2001). Em muitos casos, mais do que um desses fatores pode contribuir para a ocorrência de um surto. Qual destas causas contribui para um particular surto de enfermidades transmitidas por alimentos é uma questão determinada por fatores socio-econômicos, hábitos alimentares, tipos de alimentos, sua origem e preparo (ICMSF, 1997; Hobbs et al., 1997).

## 2.7 Microrganismos indicadores

O termo microrganismos indicadores refere-se a um tipo de microrganismo cuja presença no alimento é evidência de que ele está poluído com material fecal de origem humana ou de outros animais de sangue quente. Este tipo de poluição indica que qualquer microrganismo patogênico que ocorre no trato intestinal desses animais pode também estar presente (Pelczar et al., 1997).

Muitos organismos ou grupos de organismos têm sido sugeridos como indicadores. Bactérias como coliformes, *Staphylococcus* e contagem total de aeróbios mesófilos e psicrotróficos têm sido utilizadas, além de clostrídios sulfito redutores (Carvalho, 1999; Reinbold, 1983).

### 2.7.1 Coliformes

Os coliformes são freqüentemente empregados como indicador de controle sanitário e do processamento de queijos (Reinbold, 1983). São bactérias da família Enterobacteriaceae, gram negativas, não esporuladas, possuem forma bacilar, sendo aeróbias ou anaeróbias facultativas. Algumas crescem no intestino do homem e outros animais; cepas toxigênicas podem causar transtornos intestinais. Podem ser encontradas no estrume, em águas poluídas, no solo e nas instalações. Fermentam a lactose produzindo ácido e gás num período de 24-48 horas a 32-37 °C. Incluem grupos como *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella* e *Citrobacter*. Os coliformes se dividem em coliformes totais e coliformes fecais (Pelczar, 1997). Altas contagens de coliformes totais indicam condições higiênicas insatisfatórias, com provável contaminação pós-processamento; deficiência nos processos de limpeza, sanificação e tratamento térmico; e multiplicação durante o processamento ou estocagem. No caso de queijos, os coliformes estão relacionados com o estufamento precoce (Furtado, 1999). Coliformes fecais são indicadores de condições higiênico-sanitárias, considerando que *Escherichia coli* seja o principal representante desse grupo em termos quantitativos e lembrando que esse microrganismo é habitante exclusivo do trato intestinal do homem e de outros animais (Silva, Junqueira e Silveira, 1997). Coliformes totais e fecais foram encontrados em leite pasteurizado, condenando suas condições microbiológicas (Nascimento, 1991). A *E. coli* apresenta ótimo crescimento à temperatura variando entre 35 e 40 °C, temperatura mínima de crescimento entre 7 e 8 °C e temperatura máxima de crescimento entre 44 e 46 °C. O nível mínimo aproximado de atividade de água que permite seu crescimento em temperatura próxima à ótima é de 0,95. O pH ótimo para seu crescimento é em torno de 6,0 a 7,0, sendo o mínimo a 4,4 e o máximo a 9,0 (ICMSF, 1998). A *E. coli* sorotipo O157:H7 tem sido reconhecida mundialmente, na última década, como um dos mais importantes

microrganismos na gênese de doenças humanas veiculadas por alimentos. A patogenicidade do microrganismo está associada a determinados fatores de virulência, destacando-se a produção de diferentes citotoxinas (Wang, Zhao e Doyle, 1996). A *E. coli* O157:H7 apresenta considerável resistência a valores reduzidos de pH, o que é fator importante para patógenos veiculados por alimentos (Lin et al., 1996). A doença no homem tem sido relacionada ao consumo de diferentes tipos de alimentos, principalmente derivados de origem bovina, sendo sua principal via de transmissão alimentos contaminados, direta ou indiretamente, por fezes bovinas (Wang, Zhao e Doyle, 1996; Ribeiro, Pinto e Silva, 1999), durante o procedimento da ordenha ou do processamento do leite e derivados, especialmente queijos (Ribeiro, Aleixo e Lima, 1991). Esse sorotipo não tem permanecido viável após o processo usual de pasteurização, sugerindo que a contaminação do leite e derivados ocorra após o tratamento térmico dos mesmos (Ribeiro, Pinto e Silva, 1999). *E. coli* enterotoxigênica não é contaminante comum em queijos e leites crus, sendo seu acesso a esses alimentos favorecido por deficiências na sanitização (Glatz, 1980).

### **2.7.2 Microrganismos aeróbios mesófilos**

A maioria das bactérias patogênicas são mesófilas. Analisar um alimento e encontrar elevado número de bactérias desse grupo é sinal de que podem existir bactérias patogênicas no meio. Este teste normalmente é feito quando for eliminada a possibilidade de contaminação fecal (Carvalho, 1999). A contagem deste grupo de bactérias inclui os microrganismos que crescem em aerobiose e em temperaturas de incubação entre 15 e 40°C, com uma temperatura média de 35 °C (Silva Jr., 2001). Este tipo de contagem é amplamente utilizado em microbiologia de alimentos, e é através dele que se pode determinar a qualidade bacteriológica do alimento examinado. A contagem de aeróbios mesófilos funciona, na realidade, como indicador de qualidade de alimentos (Reinbold,

1983). Esse tipo de contagem fornece informações sobre a eficácia da limpeza no processo de fabricação, o efeito da temperatura de conservação, o grau de alteração do alimento e, conseqüentemente, informações sobre a vida útil dos alimentos (Carvalho, 1999).

### **2.7.3 Microrganismos aeróbios psicrotróficos**

Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos também pode ser utilizada como subsídio para definição da qualidade microbiológica de alimentos (Reibold, 1983). Isto se fundamenta no fato de que um grande número de espécies de microrganismos psicrotróficos pode estar envolvido com ocorrência de toxinfecções alimentares humanas ou com deterioração e perda de qualidade organoléptica dos alimentos (Santos, Carvalho e Abreu, 1999).

A introdução da armazenagem refrigerada do leite cru antes de seu processamento sanou o problema de alterações de sabor e desenvolvimento de alta acidez neste produto devido à presença de certas bactérias mesofílicas, mas trouxe à tona outro sério problema: a seleção de microrganismos psicrotróficos (Furtado, 1999). Algumas dessas bactérias psicrotróficas são sensíveis aos tratamentos térmicos comumente utilizados, outras não (Santos, Carvalho e Abreu, 1999). Porém, independente da bactéria ser sensível ou não a tratamentos térmicos, muitas delas produzem enzimas termorresistentes durante o seu crescimento ao longo da armazenagem refrigerada (Andersson, Hedlund e Jonsson, 1979; Adams, Barach e Speck, 1974; Adams et al., 1981). Estas enzimas alteram a constituição de proteínas e lipídios do leite causando alterações físicas e organolépticas no mesmo; e caso este leite seja utilizado para a fabricação de queijos, poderá ocorrer diminuição do rendimento na fabricação do queijo e o desenvolvimento de sabor amargo e de ranço no produto acabado, comprometendo, deste modo, a sua qualidade (Furtado, 1999; Santos, Carvalho e Abreu, 1999).

Além de microrganismos psicrotróficos que causam alterações no leite e em queijos (*Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*), espécies de psicrotróficos potencialmente patogênicos (*Staphylococcus* coagulase positiva, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*) podem também estar presentes nesses produtos (Santos, Carvalho e Abreu, 1999; Ahmed, Moustafa e Marth, 1983). As fontes de contaminação do leite com estas bactérias são muito variadas e incluem solo, água, forragem, alimentação do gado, a superfície externa do úbere, infecções no úbere, pessoal responsável pela ordenha, toda a linha de utensílios e equipamentos mal higienizados, transporte e processamento no laticínio (Germano et al., 2001).

A contagem inicial das bactérias psicrotróficas deve ser extremamente baixa. Em relação à quantidade de bactérias psicrotróficas necessárias em um determinado produto para que possa haver alterações de natureza proteolítica e/ou lipolítica no leite, cita-se que os problemas aparecem quando a contagem destes microrganismos atinge  $10^7$  UFC/ml (Santos, Carvalho e Abreu, 1999).

No gênero *Pseudomonas*, a espécie que predomina é a *Pseudomonas fluorescens*. Os microrganismos deste gênero são bacilos Gram negativos não esporulados. Além de alterarem alimentos através da produção de enzimas termoresistentes, interações entre *Pseudomonas spp.* e outros microrganismos têm sido relatadas, fato este que em alguns casos pode representar um agravante à presença de patógenos (Santos, Carvalho e Abreu, 1999; Farrag et al., 1989). Relatos indicam envolvimento de cepas de *Pseudomonas fluorescens* na estimulação do crescimento de *Listeria monocytogenes* (Farrag et al., 1989) e *E. coli* O157:H7 (Quinto et al., 1997).

O gênero *Bacillus* é o mais importante dentre as bactérias Gram positivas psicrotróficas termoresistentes envolvidas com leite e derivados. Estas apresentam associação de características extremamente indesejáveis, que são a capacidade de crescerem a baixas temperaturas, a produção de enzimas

termoresistentes, a formação de esporos (Collins, 1979) e a produção de enterotoxinas por algumas cepas responsáveis por toxinfecções alimentares (Santos, Carvalho e Abreu, 1999).

O fato de que as temperaturas dos tratamentos térmicos comumente utilizados para estender a vida de prateleira do leite podem ativar a germinação de esporos de determinadas espécies destas bactérias também é preocupante. Esporos bacterianos presentes no leite cru, devido a tratamentos térmicos como pasteurização podem ter sua germinação estimulada, passando para a forma vegetativa e começando a se dividir, comprometendo a qualidade do produto (ICMSF, 1998). As espécies comumente associadas com toxinfecções alimentares, neste caso, são *Bacillus cereus*, *B. brevis*, *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. sphaericus* e *B. badius*, sendo *B. cereus* a de maior importância (Santos, Carvalho e Abreu, 1999).

#### 2.7.4 *Staphylococcus* produtores de coagulase e *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus* coagulase positiva e *Staphylococcus aureus* têm sido usados como microrganismos indicadores. A presença de grande número de *S. aureus* é indicação de um possível risco à saúde devido à enterotoxina estafilocócica, assim como indica sanitização questionável, especialmente de processos envolvendo manipulação de alimentos por seres humanos (Carvalho, 1999; Smith, Buchanan e Palumbo, 1983).

*Staphylococcus aureus* apresenta-se em forma de cocos Gram-positivos que se dividem em mais de um plano para formar cachos tridimensionais de células. São catalase positivos e anaeróbios facultativos. A faixa de temperatura para crescimento varia de 7 a 48 °C, sendo 37 °C a temperatura ótima e para produção de toxina vai de 10 a 48 °C, sendo 40 a 45 °C a faixa ótima. O pH para crescimento é de 4 a 10, sendo ótimo de 6 a 7 e para produção de toxina 4,5 a 9,6, sendo ótimo de 7 a 8. A atividade de água para crescimento é de 0,83 a 0,99,

sendo ótimo a 0,98 e para produção de toxina de 0,87 a 0,99, sendo ótimo também a 0,98. *S. aureus* é muito resistente ao congelamento e ao descongelamento e sobrevive perfeitamente nos alimentos conservados em temperaturas menores que -20 °C. As enterotoxinas estafilocócicas são muito estáveis nos alimentos que se conservam congelados. A condição aeróbia é preferível para produção de toxina, ocorrendo também em anaerobiose (ICMSF, 1998).

Os estafilococos, sobretudo *S. aureus*, a partir do homem e animais de sangue quente, dispõem de fácil disseminação até aos alimentos, distribuindo-se também no ambiente, ar, poeira e águas de esgoto, e, passam a constituir problemas quando atingem locais específicos como laticínios e outras indústrias de alimentos (Pereira et al., 1999; ICMSF, 1998; Jay, 1994; Hobbs et al., 1997; Eifert et al., 1996; Bryan, 1974). A importância de outras espécies dentro desse gênero tem aumentado de modo que se leva em consideração a detecção também da presença de *Staphylococcus* coagulase positiva como *S. hyicus* e *S. intermedius*, em alimentos destinados ao consumo humano (Germano et al., 2001; Bourgeois, Mescle e Zucca, 1994; Jay, 1994).

Mesmo considerando que os estafilococos podem proceder de diferentes fontes, portadores humanos, sintomáticos ou não, representam, em primeira instância, a maior fonte de acesso aos alimentos, a saber pela constante presença em fossas nasais, garganta, leito subungüal e pele (Hatakka et al., 2000). Em menor escala, pode ser destacada a presença destes em substratos alimentícios, através de portadores animais, sobretudo através de processo mastítico ou outra infecção clínica ou subclínica advinda do rebanho. No Brasil, a mastite é uma doença comumente encontrada no rebanho bovino. Estima-se que cerca de 40% do rebanho bovino leiteiro do país sejam afetados pela mastite clínica ou subclínica (Furtado, 1999). De maneira enfática, estudos de rastreamento epidemiológico da intoxicação estafilocócica apontam o manipulador de

alimentos como elemento incisivo no processo de disseminação do microrganismo (Pereira et al., 1999; Silva Jr., 2001). Isto pode ser explicado pelo fato de que os surtos são resultantes de contaminação e crescimento do microrganismo no alimento, após este ter sido submetido a tratamento térmico, propiciando aí, com a redução ou eliminação da microbiota presente, a produção de enterotoxinas (Tatini, Soo e Cords, 1975; Troller et al., 1978), visto que os estafilococos são fracos competidores (Pereira et al., 1999; Scheusner et al., 1973). Características do alimento, como presença de açúcares redutores (lactose), podem proporcionar proteção térmica à enterotoxina estafilocócica A (Chordash et al., 1979), e aditivos como NaCl podem ser termoprotetores para *S. aureus* (Hurst et al., 1983).

A intoxicação se dá pela ingestão de alimentos em que tenha havido multiplicação bacteriana e conseqüente produção de enterotoxina. Inicialmente, esses alimentos foram contaminados com a bactéria, submetidos a temperaturas de cocção insuficientes para provocar sua destruição e depois mantidos a temperaturas inadequadas para conservação (Bishop et al., 1986; Bryan, 1974). O mesmo se aplica para os alimentos contaminados após preparação correta e mantidos a temperaturas inadequadas de conservação. Existe também o risco de a toxina ter sido produzida antes das etapas de preparo do alimento, já que esta toxina é extremamente termoestável (Hayes, 1993; Scheusner et al., 1973; Tatini, Cords e Gramoli, 1976; Tibana et al., 1987).

Entre os alimentos envolvidos, podemos citar o leite e seus derivados, como queijos (Teufel, 1992; Halpin-Dohnalek, 1989; Bryan, 1983; Bryan, 1988a). De modo geral, todos os alimentos que requerem considerável manipulação durante o seu preparo, e cuja temperatura de conservação é inadequada, são passíveis de causar a intoxicação (Germano et al., 2001; Bourgeois, Mescle e Zucca, 1994; Hayes, 1993; Doyle, 1989).

Intoxicação estafilocócica é doença que tem sido problema nos E.U.A. e tem sua veiculação ligada aos queijos (Bryan, 1983; Bryan, 1988b). Scheusner et al. (1973) apontam ocorrência de enterotoxina estafilocócica em queijos. Halpin-dohnalek et al. (1989) relatam que ocorrência de intoxicação alimentar estafilocócica está relacionada também com queijos.

### 2.7.5 Clostrídios sulfito-redutores

Clostrídios sulfito-redutores também têm sido sugeridos como microrganismos indicadores (El-Bassiony, 1980; Carvalho, 1999; Jay, 1994).

Encontra-se amplamente distribuído no solo, na poeira, na vegetação e nos alimentos crus, desidratados e cozidos (Schoken-Iturrino, Nader-Filho e Dimenstgein, 1996). É habitante comum do trato intestinal dos animais e seres humanos, sendo muito mais expressivo na microbiota intestinal dos animais (Doyle, 1989). *Clostridium perfringens* é fraco competidor, mas em condições ideais apresenta tempo de geração em torno de 20 minutos (Craven, 1980). Os esporos são produzidos facilmente no intestino (ICMSF, 1998) e têm termorresistência variável (Craven, 1980), o que também influi em sua sobrevivência durante e após a cocção (ICMSF, 1998). Os mais termorresistentes predispõem à intoxicação alimentar quando sua multiplicação é estimulada por condições deficientes de armazenamento. Entre os alimentos que podem estar contaminados, citam-se o leite e os queijos (Craven, 1980; El-Bassiony, 1980). A enterotoxina é uma proteína termolábil, sendo inativada a 60 °C. Essa toxina é resistente à tripsina e quimotripsina. Os esporos germinam após ativação por choque térmico e as formas vegetativas se multiplicam em seus nichos anaeróbicos, uma vez que o oxigênio foi eliminado pelo calor de cocção (ICMSF, 1998). Um dos mais temidos defeitos que podem afetar os queijos é o estufamento. O estufamento tardio pode ocorrer em queijos maturados, como o prato, alterando-lhes profundamente (Abreu, 1986). Esse defeito é causado por

germes do grupo *Clostridium*, facilmente encontráveis no solo e na poeira de estábulos. A contaminação, tendo por origem o solo, atinge o leite por diversas maneiras, principalmente através da silagem (alimentação) ou pela queda de partículas de terra, areia ou barro no leite durante a ordenha. É por intermédio da terra que o *Clostridium* contamina de maneira irremediável a silagem. As fezes dos animais são os principais vetores da contaminação do leite. Pode haver proliferação desses germes no tubo digestivo das vacas, ainda que não ocorra nenhum crescimento nos intestinos. Ao passarem pelo trato digestivo do animal, os germes contaminam as fezes e, em seguida, o leite. Fezes de animais alimentados com silagem em condições não ideais apresentam milhões de esporos de *Clostridium* por grama, enquanto fezes de animais não alimentados com silagem apresentam apenas algumas centenas de germes por grama. Condições de higiene e limpeza da ordenha são de primordial importância, sobretudo a manual (Furtado, 1991). O controle de *C. perfringens* se baseia quase totalmente nos procedimentos de cocção (ICMSF, 1998) e resfriamento (Craven, 1980). Refrigeração inadequada de alimentos cozidos tem sido a principal causa de intoxicação por *C. perfringens* (Doyle, 1980). Se o produto se resfria lentamente, os esporos são capazes de germinar e multiplicar-se rapidamente. Portanto, o controle se exerce mantendo temperaturas ( $>55\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $<15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) que impessam a multiplicação celular (ICMSF, 1998). A ingestão de grandes quantidades de células vegetativas é um requisito para a intoxicação (El-Bassiony, 1980). Em algumas situações, a intoxicação por *C. perfringens* está relacionada com antibioticoterapia prévia (Doyle, 1989).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

Esse trabalho foi realizado no laboratório de Microbiologia de Alimentos do Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG. Todas as amostras analisadas foram coletadas no laticínio Verde Campo, localizado no município de Lavras, à Avenida Bueno da Fonseca, nº 500, bairro Aqueita Sol.

#### **3.1 Descrição da fábrica**

O laticínio Verde Campo recebe, mensalmente, 192 mil litros de leite, dos quais 80% (153 mil litros) são geralmente destinados à fabricação do queijo prato.

A rotina de produção do queijo prato, no laticínio, envolve:

a) **Recepção do leite.**

Iniciou-se por volta de 9:30 horas. Após o leite ser retirado dos latões, esses eram higienizados com detergente e vapor.

b) **Tratamento térmico do leite.**

O leite, previamente coado em pano, foi submetido à injeção direta de vapor no tanque de recepção, tendo sido aquecido a 70 °C por cinco minutos, após os quais sofreu resfriamento em trocadores de calor a placas.

c) **Tanque de fabricação.**

O bombeamento do leite pasteurizado, a partir do tanque na plataforma de recepção para o interior da fábrica, ocorreu cerca de 45 minutos após sua recepção. Nesse trajeto, o leite foi resfriado em trocador de calor a placas (Figura 1).

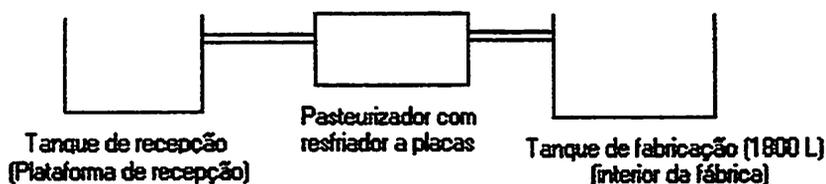


FIGURA 1 Etapa do fluxograma correspondente ao tratamento térmico e resfriamento do leite.

d) Coalho, cultura láctica, corante e nitrato de sódio.

Utilizou-se coalho líquido comercial (Chr. Hansen) na proporção de 400ml/1800 litros de leite, conforme recomendação do fabricante. Adicionaram-se 1,5% de cultura láctica mesofílica mista (5% de *Lactococcus lactis ssp. lactis* e 95% de *Lactococcus lactis ssp. cremoris*), do tipo “O” (R 704), da Chr. Hansens’s Laboratorium, Dinamarca. Empregou-se corante natural de urucum (Chr. Hansen) diluído em água, na proporção de 8 ml/100 litros de leite. O nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$  98%) foi utilizado na fabricação do queijo prato com o intuito de evitar o estufamento tardio, devido à fermentação butírica. Utilizou-se o nitrato de sódio a base de 20g/100 litros de leite.

e) Coagulação e corte da massa.

O corte da massa foi feito com auxílio de liras e teve início por volta de 12:30 horas.

f) Primeira mexedura e dessoragem.

Após o corte e breve descanso, realizou-se a dessoragem utilizando placas de metal e latões cheios de água como peso. Nesse momento, adicionou-se água a 70 °C.

**g) Segunda mexedura e pré-prensagem.**

Após segunda mexedura, aqueceu-se a massa a 42 °C e realizou-se pré-prensagem para enformagem da massa.

**h) Enformagem e prensagem da massa.**

Teve início às 14:30 horas. A enformagem foi feita sobre mesa inox e utilizou formas de plástico previamente higienizadas. As formas, contendo a massa do queijo, foram colocadas na prensa, nos quais permaneceram até o dia seguinte.

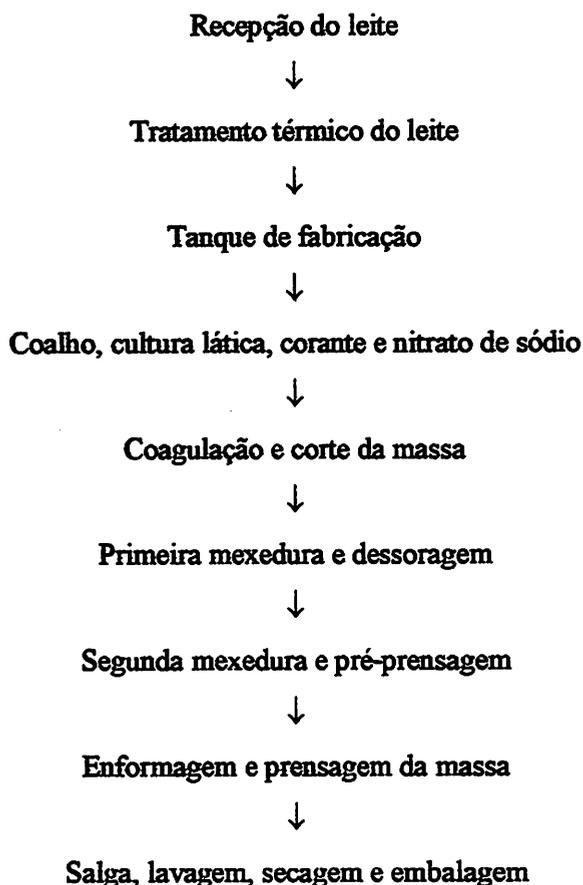
**i) Salga, lavagem, secagem e embalagem.**

Após período de 18 horas, o queijo é retirado das formas e mergulhado na salmoura (20% m/v), na qual permanece por aproximadamente 24 horas. Após esse período, é retirado e mergulhado em água pura por 1 hora. Depois desse procedimento, é colocado em prateleiras de madeira para secar, sendo finalmente embalado a vácuo, com embalagens crio-vac oriundas do próprio laticínio. Entre a recepção do leite e a embalagem do queijo, transcorre um período de aproximadamente 4 dias.

A Figura 2 mostra o fluxograma de produção do queijo prato no laticínio estudado.

### **3.2 Questionário aplicado aos funcionários que trabalham na linha de produção do queijo prato.**

Foi aplicado um questionário aos funcionários que trabalham na linha de produção do queijo prato (quadro 1, anexo), com posterior vistoria, confirmando as informações tabuladas e avaliando-se as condições gerais da fábrica, observando os possíveis pontos de contaminação microbiológica.



**FIGURA 2.** Fluxograma de produção do queijo prato.

### **3.3 Amostragem**

Durante o período de outubro de 2000 a abril de 2001, possíveis pontos de contaminação microbiológica ao longo da linha de produção do queijo prato foram amostrados. A seleção dos pontos de coleta de amostras fundamentou-se na análise do fluxograma de processamento e nas informações obtidas por meio de questionário aplicado aos funcionários do laticínio. Amostras de leite cru, leite pasteurizado, água da torneira, salmoura, água de lavagem do queijo, água

do molho das formas, superfície das mãos e antebraços dos funcionários, superfície do tanque de produção, da mesa de enformagem e das formas de prensagem foram coletadas, periodicamente, por sete vezes. Amostras de queijo embalado foram coletadas, periodicamente, por cinco vezes.

Todas as amostragens foram feitas segundo Silva et al. (1997). As amostras coletadas foram sempre acondicionadas em caixa isotérmica contendo gelo e o tempo transcorrido entre a amostragem e a análise não ultrapassou 2 horas. Para todas as amostras líquidas, foram usados frascos de vidro previamente esterilizados, cheios até 80% de seu volume total, permitindo posterior homogeneização da amostra.

### **3.3.1 Leite cru**

A coleta de amostra foi realizada a partir de um volume de 1000 litros de leite, proveniente dos latões, contido em tanque localizado na plataforma de recepção. A coleta foi feita imediatamente após o término da recepção do leite e antes do processamento térmico.

### **3.3.2 Leite pasteurizado**

Após a pasteurização do leite, amostras foram coletadas em vidro previamente esterilizado. A coleta foi feita na saída da tubulação de alimentação do tanque de fermentação, antes que o leite entrasse em contato com o tanque.

### **3.3.3 Mãos e antebraços de funcionários**

As amostragens das mãos e dos antebraços dos funcionários foram feitas durante o manuseio da massa do queijo. Foi utilizada a técnica do esfregaço de superfície, sendo feito um “swab” em cada mão do funcionário, avaliando-se as bordas das unhas, a região entre os dedos, a palma e o dorso da mão, sempre a partir de dois funcionários, perfazendo um total de quatro “swabs” por

amostragem. Estes quatro “swabs” eram lançados em um erlenmeyer contendo 18 ml de água peptonada 0,1%. No caso do antebraço, utilizou-se molde de 50 cm<sup>2</sup>.

### **3.3.4 Tanque de fabricação, mesa e formas**

A amostra foi coletada após higienização desses utensílios. Foi usada técnica do esfregado em superfície, sendo esfregados quatro “swabs” na superfície desses itens. Foram amostrados 200 cm<sup>2</sup> de superfície. Os “swabs” foram colocados em um erlenmeyer contendo 18 ml de água peptonada 0,1%.

### **3.3.5 Salmoura e Água de molho das formas**

Amostras da salmoura em uso e da água durante o molho das formas foram coletadas em potes de vidro adicionado de 0,1 ml de tiosulfato de sódio 10% P/V.

### **3.3.6 Água do poço**

Antes da coleta, a torneira foi desinfetada com álcool 70% e flambada. Deixou-se a água fluir por aproximadamente 5 minutos e então foi feita a coleta.

### **3.3.7 Água de lavagem do queijo**

A amostra foi feita a partir da água contida em tanque inox, durante a lavagem dos queijos, após estes terem sido retirados da salmoura.

### **3.3.8 Queijo embalado**

Foram coletados, de forma aleatória, dois queijos por amostragem, tendo-se o cuidado de fazer a coleta em lotes de queijos correspondentes ao leite anteriormente analisado. Essa coleta foi feita quatro dias após as demais.

### **3.4 Análises microbiológicas**

#### **3.4.1 Preparo das amostras**

Alíquotas de 2 ml das amostras de leite cru, leite pasteurizado, salmoura, água de molho dos queijos, água do poço, água de lavagem das formas, superfície das mãos e antebraços dos funcionários, do tanque, da mesa e das formas foram utilizadas para realização de diluições seriadas com água peptonada 0,1%.

Amostras de 50g de queijo foram homogeneizadas em liquidificador com 450 ml de citrato de sódio 2%. Diluições seriadas foram feitas com água peptonada 0,1%.

#### **3.4.2 Metodologia das análises**

As análises microbiológicas foram realizadas segundo Silva et al.(1997).

##### **3.4.2.1 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos**

Leite cru, leite pasteurizado, água do poço, água de molho das formas e as superfícies do tanque de fabricação, da mesa de enformagem e desenformagem e das formas foram analisadas quanto ao número de microrganismos aeróbios mesófilos. Alíquotas de 1 ml das diluições adequadas foram semeadas em placas contendo meio Plate Count Ágar (PCA), utilizando-se o método de plaqueamento em profundidade. Após a inoculação, as placas foram incubadas a 35 °C por 48 horas.

##### **3.4.2.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicotróficos**

Leite cru, leite pasteurizado, água do poço, salmoura, água de lavagem dos queijos, superfície do tanque de fermentação, mesa de enformagem/desenformagem, formas e queijo embalado foram analisados quanto ao número de microrganismos aeróbios psicotróficos. Alíquotas de 0,1

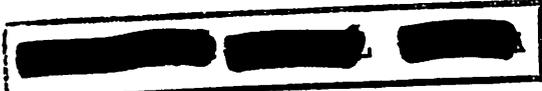
ml das diluições adequadas foram semeadas em placas contendo meio Plate Count Ágar (PCA), utilizando-se o método de plaqueamento em superfície. Após a inoculação, as placas foram incubadas a 7 °C por 10 dias.

#### **3.4.2.3 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes fecais**

Leite cru, leite pasteurizado, água de poço, água de molho das formas, salmoura, água de lavagem dos queijos, superfície do tanque de fabricação, mãos e antebraços de manipuladores, mesa, formas e queijo embalado foram analisados quanto ao número de coliformes totais e fecais. Aliquotas de 1 ml das diluições adequadas foram inoculadas em caldo lauril sulfato triptose (LST), utilizando-se a técnica do número mais provável em série de três tubos. Para as análises de água foram inoculadas aliquotas de 10ml. Esses tubos foram incubados a 37 °C por 48 horas. Tubos com turvação e formação de gás foram usados para determinar o NMP de coliformes totais e repicados para tubos contendo caldo *Escherichia coli* (E.C.). Estes foram incubados em banho-maria a 44,5 °C por 48 horas e usados para determinação do NMP de coliformes fecais.

#### **3.4.2.4 Contagem de *Staphylococcus* produtores de coagulase e *Staphylococcus aureus***

Leite cru, leite pasteurizado, água de molho das formas, salmoura, superfície das mãos e braços de manipuladores e queijo embalado foram analisados quanto ao número de *Staphylococcus* produtores de coagulase e *Staphylococcus aureus*. O número de *Staphylococcus* foi determinado pela inoculação de 0,1 ml das diluições adequadas das amostras em placas contendo ágar Baird-Parker adicionado de emulsão gema de ovo:salina (1:1 peso/peso) e solução aquosa de telurito de potássio 1%, utilizando-se a técnica de plaqueamento em superfície. As placas foram incubadas a 37 °C por 48 horas. Colônias típicas e atípicas foram quantificadas, sendo 6 colônias transferidas



para tubos contendo Plate Count Ágar (PCA) inclinado e incubadas por 24 horas. A partir do crescimento obtido nesses tubos foi feita a coloração pelo método de Gram e observação da capacidade de formação de pigmento pelas colônias, em PCA. Para a realização das provas de catalase, coagulase, Voges-Proskauer, redução do nitrato e termonuclease (Holt et al., 1994; Mc Faddin, 1980; Kloos, Schleifer e Gotz, 1992), utilizou-se cultura em caldo Infusão Cérebro Coração (BHI), incubadas a 37 °C por 24 horas.

#### **3.4.2.5 Contagem de clostrídios sulfito-redutores**

Leite cru, leite pasteurizado e queijo embalado foram avaliados quanto à presença de clostrídios sulfito-redutores. Aliquotas de 1 ml das diluições apropriadas de cada amostra foram semeadas em placas contendo Ágar Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS), utilizando-se a técnica do plaqueamento em profundidade. Após o plaqueamento e endurecimento do meio, foi aplicada uma sobrecamada de SPS. As placas foram incubadas a 37 °C por 24 horas, em condições de anaerobiose, utilizando-se gerador de anaerobiose ANAEROCULT (MERCK). Após este período, as colônias típicas foram quantificadas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos

Elevadas contagens de microrganismos aeróbios mesófilos indicam que patógenos podem estar presentes nos equipamentos, utensílios e água e, possivelmente, serem veiculados para o alimento em seus diversos estágios de processamento (Carvalho, 1999; Reinbold, 1983). A excessiva presença de microrganismos aeróbios mesófilos reflete a má qualidade bacteriológica do alimento, podendo também estar associada a uma provável redução na vida de prateleira do produto.

Os resultados relativos às análises de microrganismos aeróbios mesófilos podem ser observados na Tabela 3. O leite cru apresentou contagens de microrganismos aeróbios mesófilos com valores variando de  $3,5 \times 10^6$  a  $1,2 \times 10^8$  UFC/ml. Após a pasteurização, o leite apresentou população de mesófilos variando de  $7,0 \times 10^2$  a  $2,9 \times 10^5$  UFC/ml. A elevada contagem no leite cru é um forte indicador de que problemas podem estar ocorrendo durante a ordenha e/ou durante o armazenamento e transporte até o laticínio. A redução da população de microrganismos mesófilos, em ciclos log, entre o leite cru e o leite pasteurizado, verificada em cada análise, apresenta oscilação desde 1,5 ciclos log até 5,2 ciclos log. Esse fato evidencia a heterogeneidade do tratamento térmico. De acordo com a nova legislação, até o ano de 2005 o leite chamado de “cru resfriado na propriedade e transportado a granel”, que englobará os atuais tipos “B” e “C”, deverá apresentar valor máximo de  $10^6$  UFC/ml para contagem total de microrganismos mesófilos antes da pasteurização, e  $8,0 \times 10^4$  UFC/ml após a pasteurização. Para a preservação da qualidade do leite, a fase de maior relevância é a da produção (Silva Jr., 2001). Processos inflamatórios nas mamas das fêmeas podem ser fonte de contaminação do leite ordenhado.

**TABELA 3 Contagem total de microrganismos aeróbios mesófilos presentes nos diferentes pontos amostrados na linha de processamento do queijo prato**

Análise n°	Leite cru (UFC/ml)	Leite past. (UFC/ml)	Água poço (UFC/ml)	Água molho formas (UFC/ml)	Tanque (UFC/cm <sup>2</sup> )	Mesa (UFC/cm <sup>2</sup> )	Formas (UFC/cm <sup>2</sup> )
1	4,3x10 <sup>7</sup>	1,8x10 <sup>4</sup>	5,8x10 <sup>2</sup>	8,0	3,6x10 <sup>3</sup>	1,3x10 <sup>5</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>
2	1,8x10 <sup>6</sup>	5,7x10 <sup>4</sup>	4,7x10 <sup>2</sup>	6,5x10 <sup>5</sup>	4,3x10 <sup>1</sup>	2,2x10 <sup>5</sup>	5,4x10 <sup>5</sup>
3	1,8x10 <sup>7</sup>	1,8x10 <sup>5</sup>	1,9x10 <sup>2</sup>	4,6x10 <sup>6</sup>	2,2x10 <sup>1</sup>	1,7x10 <sup>5</sup>	2,4x10 <sup>5</sup>
4	1,2x10 <sup>8</sup>	2,9x10 <sup>5</sup>	5,0x10 <sup>1</sup>	<1	1,4x10 <sup>2</sup>	3,4x10 <sup>5</sup>	1,4x10 <sup>4</sup>
5	1,1x10 <sup>8</sup>	7,0x10 <sup>2</sup>	2,8x10 <sup>2</sup>	5,2x10 <sup>6</sup>	2,6x10 <sup>2</sup>	1,7x10 <sup>5</sup>	7,2x10 <sup>4</sup>
6	3,5x10 <sup>6</sup>	3,7x10 <sup>4</sup>	4,4x10 <sup>2</sup>	2,2x10 <sup>7</sup>	6,5x10 <sup>3</sup>	2,1x10 <sup>6</sup>	5,4x10 <sup>4</sup>
7	1,9x10 <sup>7</sup>	1,3x10 <sup>5</sup>	4,4x10 <sup>2</sup>	7,7x10 <sup>6</sup>	1,2x10 <sup>3</sup>	<1	4,0x10 <sup>6</sup>
Média	4,5x10 <sup>7</sup>	1,0x10 <sup>5</sup>	3,5x10 <sup>2</sup>	5,7x10 <sup>6</sup>	1,7x10 <sup>3</sup>	4,5x10 <sup>5</sup>	7,2x10 <sup>5</sup>

A falta de higiene e a não adoção de princípios e técnicas de garantia sanitária durante a ordenha podem comprometer seriamente a qualidade do leite obtido (Germano et al., 2001). Bactérias do esterco, solo e água podem contaminar o leite principalmente quando se usa ordenha manual em detrimento da mecânica (Carvalho, 1999). Tão importante quanto a ordenha é a etapa de armazenamento e transporte do leite até a indústria. Grande atenção deve ser dada à temperatura de armazenagem do leite até que ele seja entregue no laticínio (Santos, Cargvalho e Abreu, 1999). O leite analisado não era submetido ao resfriamento após a ordenha, sendo transportado em latões até o laticínio. Condições precárias de higienização desses latões no laticínio foram verificadas. Alguns latões apresentavam pontos de ferrugem no seu interior. Segundo Svensson et al. (2000), isso pode contribuir para aumentar a carga microbiana do leite. Algumas vezes, os latões com leite permaneciam por tempo demasiado longo no caminhão de transporte à espera de desembarque no laticínio. Essa demora, de acordo com Bourgeois, Mescle e Zucca. (1994) e Hobbs et al. (1997), sob condições de temperatura ambiente, favorece a proliferação microbiana. Todos os equipamentos e utensílios que venham a entrar em contato com o leite devem ser submetidos a rotinas de higienização que possam prevenir a contaminação do leite por parte desses objetos (Ribeiro, Aleixo e Lima, 1991; Nader-Filho, Rossi Junior e Schocken-Iturrino, 1988). Pode-se notar redução da contagem após o processamento térmico. Em alguns momentos o tratamento térmico foi bem mais eficiente do que em outros momentos. Isso pode estar relacionado a fatores como capacitação do funcionário que operou o pasteurizador. Considerável contagem foi verificada no leite processado. Isso pode estar relacionado com fatores como a estimulação de germinação de microrganismos esporulados após exposição ao tratamento térmico (ICMSF, 1998), falhas na operação do pasteurizador, bem como contaminação proveniente do próprio pasteurizador (Svensson, 2000). Em todos os momentos, o tratamento térmico foi efetuado por

aquecimento no próprio tanque de recepção na plataforma de recepção, utilizando-se injeção direta de vapor. A excessiva permanência do leite no tanque de recepção após o tratamento térmico é fator importante, sendo possível a contaminação cruzada entre o leite pasteurizado e fontes como tanque com leite cru e utensílios que tenham entrado em contato com o leite cru. Cabe ressaltar que o tanque de recepção, na plataforma de recepção, não tinha tampa. Diferentes microrganismos podem estar povoando o leite cru nos diferentes momentos das amostragens. Essa possível variedade de microrganismos pode ser uma das causas da grande oscilação de redução populacional verificada entre leite cru e leite pasteurizado.

A água do poço teve resultados variando de  $5,0 \times 10^1$  a  $5,8 \times 10^2$  UFC/ml. Segundo informações obtidas pelo questionário aplicado aos funcionários, a água utilizada no estabelecimento é obtida no próprio local a partir de poço artesiano e sua qualidade microbiológica não é monitorada. É fundamental o monitoramento periódico e rigoroso da qualidade desta água, visto que esta pode vir a ser um dos mais eficientes e perigosos veículos disseminadores de microrganismos.

Na água de molho das formas, os dados obtidos foram de  $<1$  a  $2,2 \times 10^7$  UFC/ml. Na superfície interna das formas, a contagem foi de  $1,4 \times 10^4$  a  $4,0 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>. De grande importância é a qualidade da água utilizada para a higienização das formas. Esta água, ao invés de permitir a manutenção da segurança microbiológica dessas formas, pode estar contribuindo apenas para a disseminação da contaminação para formas limpas a partir de formas mal higienizadas, visto que a contagem de mesófilos nesta água apresentou resultados expressivos. Em várias ocasiões, as normas básicas de higienização não eram cumpridas e, na maioria das vezes, não foi feito uso de sanitizante. Às vezes procedia-se ao simples enxágue dos utensílios sem limpeza completa e sanitização. Em outros momentos, realizava-se limpeza completa sem posterior

sanitização. Segundo Andrade et al. (1996), higienização satisfatória é composta pela limpeza, que remove as sujidades, e pela sanitização que é responsável por sensível redução da população microbiana. Algumas formas analisadas apresentavam deposições grosseiras de resíduos orgânicos em seu interior, podendo estar aí alojadas populações de microrganismos que serão liberados para o alimento. As formas higienizadas, prontas para utilização, não foram devidamente secas e apresentavam, mesmo após transcorridas 24 horas entre a higienização e sua utilização, excessiva retenção de umidade, o que pode levar à contaminação de víveres.

Na superfície da mesa, os valores variaram de  $<1$  a  $2,1 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>. Ondulações na superfície da mesa favoreciam a deposição de água. Esse fato, aliado ao acúmulo de resíduos orgânicos, pode favorecer a formação de biofilmes nessa superfície. A mesa não era submetida à higienização adequada, sendo que em várias ocasiões foi submetida a simples enxágüe, imediatamente antes de sua utilização. De acordo com Andrade et al. (1996), a inadequada higienização de equipamentos na indústria de alimentos contribui, definitivamente, para a má qualidade microbiológica dos produtos. Se for considerado o íntimo contato que ocorre da massa do queijo com a superfície da mesa, pode-se vislumbrar a importância da boa higienização dessa superfície.

A contagem na superfície interna do tanque variou de  $2,2 \times 10^1$  a  $6,5 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup>. Um fator que contribui para a menor contagem verificada no tanque é o fato de este ter disposição ligeiramente inclinada, o que dificulta a retenção e o acúmulo de água que poderiam favorecer a formação de biofilmes. Aliado a tudo isso, e de fundamental importância, também deve ser citado que durante os procedimentos de higienização os funcionários sempre dispensaram maior atenção ao tanque de fabricação do que a qualquer outra superfície e este tanque era sempre bem higienizado imediatamente antes de seu uso, o que é de fundamental importância para a qualidade da higienização.

Contagens elevadas de mesófilos foram verificadas na superfície da mesa de enformagem da massa, nas formas usadas para prensagem da massa, na superfície interna do tanque de produção e na água do molho das formas. A elevada contagem de microrganismos mesófilos presentes nas superfícies e na água do molho das formas pode contribuir para a recontaminação do produto ao longo do processamento após a redução da carga microbiana do leite pela pasteurização. Grandes variações nos resultados obtidos indicam claramente a falta da aplicação das boas práticas de fabricação para execução de rotinas de higienização dos equipamentos/utensílios. Segundo Harrigan (1998), análises de microrganismos aeróbios mesófilos, em superfícies e equipamentos, que apresentem resultados acima de 25 UFC/cm<sup>2</sup>, devem ser consideradas altamente insatisfatórias e requerem ação imediata.

A negligência, aliada à desinformação, principalmente no que se refere às boas práticas de manufatura e higienização na indústria de alimentos, contribuem de forma decisiva para a ocorrência de realidades microbiológicas como as evidenciadas pelos resultados apresentados anteriormente.

#### **4.2 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos**

A análise de microrganismos aeróbios psicrotróficos, aliada à análise de mesófilos, reforçam as conclusões que possam ser tiradas sobre a qualidade bacteriológica dos alimentos (Reinbold, 1983).

Um grande número de espécies de microrganismos psicrotróficos pode estar envolvido com a ocorrência de toxinfecções alimentares humanas ou com deterioração e perda de qualidade organoléptica dos alimentos (Santos, Carvalho e Abreu, 1999). Os resultados da contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos são apresentados na Tabela 4. As análises do leite cru evidenciam maciça presença desses microrganismos ( $1,1 \times 10^5$  a  $4,4 \times 10^7$  UFC/ml). No leite pasteurizado, os valores variaram de  $5,3 \times 10^1$  a  $2,0 \times 10^4$  UFC/ml.

**TABELA 4 Contagem total de microrganismos aeróbios psicrotróficos presentes nos diferentes pontos amostrados na linha de processamento do queijo prato**

Análise nº	1	2	3	4	5	6	7	Média
Leite cru (UFC/ml)	$4,4 \times 10^7$	$3,7 \times 10^5$	$3,1 \times 10^6$	$2,2 \times 10^7$	$7,8 \times 10^6$	$1,1 \times 10^5$	$6,7 \times 10^6$	$1,2 \times 10^7$
Leite past. (UFC/ml)	$1,7 \times 10^3$	$5,3 \times 10^1$	$1,2 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,9 \times 10^2$	$1,7 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$	$7,3 \times 10^3$
Água do Poço (UFC/ml)	<1	<1	4,0	<1	$8,0 \times 10^3$	<1	1,0	$1,1 \times 10^3$
Salmoura (UFC/ml)	$1,0 \times 10^4$	$3,1 \times 10^5$	$4,7 \times 10^4$	$8,2 \times 10^4$	$2,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^4$	$4,3 \times 10^5$	$1,3 \times 10^5$
Água de lavagem do queijo (UFC/ml)	$7,6 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$	$1,9 \times 10^5$	$8,5 \times 10^4$	$2,2 \times 10^5$	$3,9 \times 10^5$	$5,1 \times 10^4$	$1,5 \times 10^5$
Tanque (UFC/cm <sup>2</sup> )	$6,1 \times 10^6$	$1,3 \times 10^2$	3,0	$5,8 \times 10^1$	$1,1 \times 10^2$	$4,0 \times 10^3$	$1,3 \times 10^1$	$8,7 \times 10^5$
Mesa (UFC/cm <sup>2</sup> )	$6,1 \times 10^4$	$2,6 \times 10^4$	$1,0 \times 10^4$	$4,3 \times 10^2$	$3,6 \times 10^3$	$5,8 \times 10^5$	<1	$9,7 \times 10^4$
Forma (UFC/cm <sup>2</sup> )	$1,0 \times 10^3$	$3,5 \times 10^4$	$3,3 \times 10^3$	$3,3 \times 10^3$	$2,2 \times 10^4$	$2,7 \times 10^3$	$3,6 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$
Queijo (UFC/g)	$3,1 \times 10^3$	$5,9 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	$2,4 \times 10^7$	$4,4 \times 10^3$	$1,3 \times 10^5$	$2,7 \times 10^4$	$3,5 \times 10^6$

O elevado número de microrganismos aeróbios psicrotróficos presente no leite cru sugere que as condições higiênico-sanitárias da ordenha foram insatisfatórias, o que reforça os resultados obtidos para microrganismos aeróbios mesófilos. A redução da população de microrganismos psicrotróficos, em ciclos log, entre o leite cru e o leite pasteurizado, verificada em cada análise, apresenta oscilação desde 0,8 ciclos log até 4,7 ciclos log. Esse fato evidencia a heterogeneidade do tratamento térmico. A tubulação e o resfriador a placas, pelos quais passa o leite após ter sido tratado termicamente, devem estar contribuindo para as contagens de microrganismos aeróbios psicrotróficos verificadas no leite pasteurizado resfriado. Apesar de a pasteurização reduzir sensivelmente a contagem desses microrganismos, como pode ser evidenciado no Quadro 4, a contagem no leite cru é muito alta, permitindo, ainda, quantidade expressiva de microrganismos aeróbios psicrotróficos no leite pasteurizado (média de  $7,3 \times 10^3$  UFC/ml). Apesar de parte dos microrganismos psicrotróficos ser eliminada, suas enzimas, proteases e lipases são termorresistentes, persistindo no leite e causando problemas organolépticos e de rendimento ao queijo. Este residual de psicrotróficos que persiste no leite pasteurizado pode trazer sérios problemas uma vez que esses microrganismos se desenvolvem em temperaturas de refrigeração. Além disso, apesar de algumas dessas bactérias psicrotróficas serem sensíveis aos tratamentos térmicos comumente utilizados, outras não o são (Santos, Carvalho e Abreu, 1995; Andersson, Hedlund e Jonsson, 1979). Deficiências no processamento térmico por injeção de vapor direto no próprio tanque de recepção do leite, podem contribuir para os resultados obtidos. A pasteurização pode estar estimulando a germinação de esporos de bactérias psicrotróficas, contribuindo para a contagem desses microrganismos no leite pasteurizado. Fontes como biofilmes formados nos equipamentos que entram em contato com o leite estão ligadas à recontaminação por psicrotróficos (Abrishami et al., 1994; Criado, Suárez e Ferreirós, 1994). A

contagem inicial de psicrotróficos no leite deve ser extremamente baixa e a presença desses microrganismos em alimentos torna-se potencialmente preocupante quando sua contagem atinge o nível de  $10^7$  UFC/ml. A contaminação cruzada é um sério problema dentro da indústria de alimentos (Silva Jr, 2001), principalmente quando não há especificação de funções para os funcionários, o que foi verificado no cotidiano do laticínio em questão e confirmado pelas informações obtidas pelo questionário aplicado. Se um mesmo funcionário lida com alimentos crus e alimentos processados, isto comprometerá a qualidade microbiológica do produto final. As fontes de contaminação do leite com bactérias psicrotróficas são muito variadas e incluem solo, água, forragem, alimentação do gado, a superfície externa do úbere, infecções no úbere, pessoal responsável pela ordenha, toda a linha de utensílios e equipamentos mal higienizados, transporte e processamento no laticínio (Germano et al., 2001). As variações de resultados encontrados no leite pasteurizado indicam falhas no processamento térmico em alguns momentos e podem estar acusando irregularidades nos processos de higienização.

Todos os itens analisados quanto à presença de bactérias psicrotróficas ao longo do fluxograma apresentaram contagens que nitidamente os enquadram como potenciais recontaminantes do leite. Alguns psicrotróficos como os dos gêneros *Pseudomonas* e *Listeria*, apresentam destacada capacidade para a formação de biofilmes, principalmente no que se refere a laticínios (Figueiredo, 1999).

Na superfície do tanque, os valores foram de 3,0 a  $6,1 \times 10^6$  UFC/cm<sup>2</sup>; na superfície da mesa, de  $<1$  a  $5,8 \times 10^5$  UFC/cm<sup>2</sup>; e na superfície das formas, a contagem variou de  $1,0 \times 10^3$  a  $3,6 \times 10^4$  UFC/cm<sup>2</sup>. Na maioria das superfícies de equipamentos e utensílios analisados nesse trabalho, pode-se constatar uma maior contagem de microrganismos psicrotróficos em relação aos mesófilos, talvez porque uma grande variedade de psicrotróficos esteja envolvida com a

formação de biofilmes. A contagem verificada na salmoura (média de  $1,3 \times 10^5$  UFC/ml) pode ser um acúmulo da contagem da água do poço e das contagens dos itens que, anteriormente à salga, entraram em contato com a massa do queijo. O longo tempo (30 dias) de uso da mesma salmoura sem realização de processos de higienização pode ser o principal fator que contribua para os resultados obtidos, uma vez que a água é excelente veículo de disseminação de microrganismos. A água usada para lavagem dos queijos foi oriunda do poço. O resultado médio da contagem nessa água foi  $1,5 \times 10^5$  UFC/ml. Como esta etapa foi bastante rápida (aproximadamente 1 hora), fica claro que a contaminação adicional dessa água, em relação à água do poço ( $1,1 \times 10^3$  UFC/ml), é proveniente do queijo retirado da salmoura. Deficiências no processo de higienização de equipamentos, má sanitização da salmoura e falta de tratamento da água utilizada na fábrica podem contribuir de maneira marcante para a veiculação de microrganismos por estes itens e etapas. As variações dos resultados da superfície do tanque indicam heterogeneidade dos processos de higienização. Dessa maneira, pode-se verificar que a contagem de bactérias psicrotróficas no queijo embalado (média de  $3,5 \times 10^6$  UFC/g) fica próxima à contagem verificada no leite cru. Esporos bacterianos originários de bactérias psicrotróficas presentes no leite cru, devido a tratamentos térmicos como pasteurização, podem ter sua germinação ativada, passando para a forma vegetativa e começando a se dividir, comprometendo a qualidade do produto. Este fato pode estar contribuindo para a contagem de psicrotróficos que foi verificada no queijo.

#### **4.3 Determinação do número mais provável (NMP) de coliformes totais e coliformes fecais**

Esta análise é um excelente indicador de graves falhas na manipulação do alimento. Indica também deficiências na higienização do estabelecimento e

dos equipamentos, além de evidenciar problemas relativos à higiene pessoal dos manipuladores. Esse grupo de microrganismos é muito sensível ao processo de pasteurização. Todos os resultados das análises de coliformes podem ser vistos na Tabela 5. Os resultados de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF), nos pontos analisados, variaram dentro das seguintes faixas: leite cru, CT ( $2,5 \times 10^5$  a  $9,5 \times 10^7$  NMP/ml) e CF ( $4,0 \times 10^4$  a  $9,5 \times 10^7$  NMP/ml); leite pasteurizado, CT ( $<1$  a  $2,4 \times 10^1$  NMP/ml) e CF ( $<1$  a  $1,5 \times 10^1$  NMP/ml). A redução da população de coliformes fecais, em ciclos log, entre o leite cru e o leite pasteurizado, verificada em cada análise, apresenta oscilação desde 4,2 ciclos log até 8,0 ciclos log. Esse fato evidencia a heterogeneidade do tratamento térmico. A análise do leite cru mostra problemas graves relativos à higiene, segurança da ordenha e etapas anteriores à recepção na indústria. Portanto, não se pode ignorar a importância dos cuidados que devem ser tomados durante a ordenha e deve-se atentar para a realização do resfriamento do leite até sua entrega no laticínio. O processo de pasteurização mostrou-se eficiente, visto que as contagens verificadas no leite pasteurizado enquadram-se nos limites (4NMP/ml para coliformes fecais) estabelecidos pela legislação (Brasil, 2001).

A água do poço não apresentou nenhuma contagem para coliformes totais e fecais, estando de acordo com a legislação (Brasil, 2001), que determina ausência de coliformes fecais em 100 ml de água. Esse fato não elimina a necessidade de realização periódica de análises para verificação da qualidade microbiológica dessa água.

Para água de molho das formas, o resultado foi CT ( $<1$  a  $1,1 \times 10^8$  NMP/100ml) e CF ( $<1$  a  $9,3 \times 10^7$  NMP/100ml); salmoura, CT ( $9,3 \times 10^4$  a  $1,1 \times 10^8$  NMP/100ml) e CF ( $9,3 \times 10^4$  a  $2,4 \times 10^7$  NMP/100ml); água de lavagem do queijo, CT ( $2,4 \times 10^5$  a  $9,3 \times 10^6$  NMP/100ml) e CF ( $1,5 \times 10^5$  a  $2,8 \times 10^6$  NMP/100ml). A salmoura não recebia cuidados adequados que pudessem assegurar sua assepsia.

**TABELA 5** Determinação do NMP de coliformes totais (CT) e coliformes fecais (CF) presentes nos diferentes pontos amostrados na linha de processamento do queijo prato

Análise n°		1	2	3	4	5	6	7	Média
Leite cru (NMP/ml)	CT	$2,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$9,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$
	CF	$4,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$4,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^6$	$2,5 \times 10^5$	$9,5 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$
Leite past. (NMP/ml)	CT	<1	2,5	<1	$2,4 \times 10^1$	2,3	$1,5 \times 10^1$	<1	6,3
	CF	<1	<1	<1	1,1	<1	$1,5 \times 10^1$	<1	2,3
Água poço (NMP/100ml)	CT	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	CF	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Água molho Formas (NMP/100ml)	CT	$4,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^8$	$2,4 \times 10^7$	<1	$2,4 \times 10^6$	$9,3 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$3,7 \times 10^7$
	CF	$4,3 \times 10^6$	$4,3 \times 10^7$	$4,6 \times 10^6$	<1	$2,4 \times 10^6$	$9,3 \times 10^7$	$4,6 \times 10^6$	$2,2 \times 10^7$
Salmoura (NMP/100ml)	CT	$1,1 \times 10^8$	$3,9 \times 10^5$	$4,3 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$4,3 \times 10^5$	$9,3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$
	CF	$6,4 \times 10^6$	$3,9 \times 10^5$	$4,3 \times 10^6$	$1,1 \times 10^6$	$4,3 \times 10^5$	$9,3 \times 10^4$	$2,4 \times 10^7$	$5,2 \times 10^6$
Água lavagem do queijo (NMP/100ml)	CT	$4,3 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$	$9,3 \times 10^5$	$4,3 \times 10^5$	$9,3 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$	$3,1 \times 10^6$
	CF	$2,8 \times 10^6$	$1,4 \times 10^6$	$4,3 \times 10^5$	$1,5 \times 10^5$	$2,4 \times 10^6$	$2,4 \times 10^6$	$2,4 \times 10^5$	$1,4 \times 10^6$
Tanque (NMP/cm <sup>2</sup> )	CT	<1	<1	<1	<1	<1	$9,0 \times 10^2$	5,4	$1,3 \times 10^2$
	CF	<1	<1	<1	<1	<1	$3,4 \times 10^2$	5,4	$4,9 \times 10^1$
Mãos (NMP/cm <sup>2</sup> )	CT	$3,4 \times 10^4$	$2,5 \times 10^1$	$3,4 \times 10^4$	$5,4 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$9,0 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$	$2,3 \times 10^4$
	CF	$1,6 \times 10^4$	$2,5 \times 10^1$	$1,6 \times 10^4$	$2,5 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$1,6 \times 10^4$	$5,4 \times 10^2$	$7,2 \times 10^3$
Braços (NMP/cm <sup>2</sup> )	CT	9,0	$5,1 \times 10^1$	$9,0 \times 10^1$	9,0	9,0	$1,6 \times 10^2$	4,3	$4,7 \times 10^1$
	CF	3,4	$4,0 \times 10^1$	$1,4 \times 10^1$	9,0	9,0	$1,6 \times 10^2$	4,3	$3,4 \times 10^1$
Mesa (NMP/cm <sup>2</sup> )	CT	$1,6 \times 10^4$	$3,4 \times 10^4$	$1,6 \times 10^3$	$3,4 \times 10^4$	$1,6 \times 10^5$	$1,6 \times 10^6$	<1	$2,6 \times 10^5$
	CF	<1	$3,4 \times 10^4$	$9,0 \times 10^2$	$3,4 \times 10^4$	$9,0 \times 10^3$	$7,2 \times 10^4$	<1	$2,1 \times 10^4$
Formas (NMP/cm <sup>2</sup> )	CT	$1,6 \times 10^3$	$5,0 \times 10^3$	$2,5 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$2,6 \times 10^4$
	CF	$9,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$	$1,6 \times 10^3$	$9,0 \times 10^3$	$1,6 \times 10^3$	$2,6 \times 10^4$
Queijo (NMP/g)	CT	$1,4 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$	$6,8 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$4,9 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$	$3,0 \times 10^5$
	CF	$1,2 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$	$6,2 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$4,9 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$3,0 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$

Portanto, atua como fonte de contaminação do alimento. Com relação à água usada na lavagem dos queijos, se uma partida de queijo de melhor qualidade for misturada com outra de menor qualidade no mesmo “banho”, isto transferirá microrganismos de um lote para outro. Toda a água utilizada na indústria de alimentos deve seguir os padrões microbiológicos de água para consumo humano (Figueiredo, 1999), o que não é verificado na salmoura, na água de molho das formas e na água de lavagem dos queijos.

Os valores observados foram: tanque de produção, CT ( $<1$  a  $9,0 \times 10^2$  NMP/cm<sup>2</sup>) e CF ( $<1$  a  $3,4 \times 10^2$  NMP/cm<sup>2</sup>); mãos de funcionários, CT ( $2,5 \times 10^1$  a  $9,0 \times 10^4$  NMP/cm<sup>2</sup>) e CF ( $2,5 \times 10^1$  a  $1,6 \times 10^4$  NMP/cm<sup>2</sup>); antebraços de funcionários, CT ( $4,3$  a  $1,6 \times 10^2$  NMP/cm<sup>2</sup>) e CF ( $3,4$  a  $1,6 \times 10^2$  NMP/cm<sup>2</sup>); mesa de enformagem, CT ( $<1$  a  $1,6 \times 10^6$  NMP/cm<sup>2</sup>) e CF ( $<1$  a  $7,2 \times 10^4$  NMP/cm<sup>2</sup>); formas, CT ( $9,0 \times 10^2$  a  $1,6 \times 10^5$  NMP/cm<sup>2</sup>) e CF ( $9,0 \times 10^2$  a  $1,6 \times 10^5$  NMP/cm<sup>2</sup>). Foi observado, durante a rotina de produção, que pouca atenção era dispensada à higiene da mesa e das formas. Qualquer descuido com a segurança de um único item que entre em contato com o alimento pode levar à contaminação deste e provocar um repovoamento microbiano indesejado no alimento (Svensson et al., 2000; Nader-Filho, Rossi Junior e Schocken-Iturrino, 1988). A presença de coliformes fecais sempre enfatiza a enorme possibilidade da ocorrência de microrganismos patogênicos normalmente presentes nas fezes de animais de sangue quente (Pelczar et al., 1997).

Foi comum a presença de insetos como moscas no ambiente interno do laticínio, o que pode levar à contaminação de alimentos já processados termicamente. Deve ser salientado que o pessoal responsável pela higienização na indústria não era devidamente qualificado para tal função, o que pode comprometer a segurança microbiológica de toda atividade dentro da indústria. As mãos dos funcionários apresentaram-se como potenciais veiculadoras de microrganismos. Os antebraços dos funcionários apresentaram menores

contagens, não podendo ser desconsiderada a importância de sua higienização, visto que esta região do braço sempre entra em contato com a massa do queijo. A partir dessas fontes de inoculação, utensílios como mesa e formas, além da água de molho das formas e salmoura, irão atuar como disseminadores do problema.

Queijo embalado, CT ( $3,0 \times 10^4$  a  $6,8 \times 10^5$  NMP/g) e CF ( $3,0 \times 10^4$  a  $6,2 \times 10^5$  NMP/g). Os resultados obtidos no queijo embalado foram superiores aos limites permitidos pela legislação ( $5,0 \times 10^2$  NMP/g para coliformes fecais) (Brasil, 2001). Em vários momentos foi flagrada a atuação de um mesmo funcionário em etapas correspondentes ao alimento cru e etapas pós-processamento térmico sem as devidas precauções que previnam a contaminação cruzada. Em geral, os funcionários apresentavam precárias noções de higiene necessárias à segurança microbiológica dentro da indústria de alimentos.

Não era realizado nenhum tipo de análise microbiológica de rotina para controle de qualidade do leite cru recebido ou do queijo embalado pronto para comercialização. É sabido que esse tipo de problema tem relação direta com contaminação por coliformes. A presença de altas contagens de coliformes, principalmente fecais, compromete e condena o queijo pronto obtido.

#### 4.4 Contagem de *Staphylococcus* produtores de coagulase e *Staphylococcus aureus*

Elevadas contagens de estafilococos indicam problemas relacionados às condições higiênico-sanitárias de obtenção deste leite, principalmente com relação à manipulação (Pereira et al., 1999; Carvalho, 1999; Smith et al., 1983). A Tabela 6 mostra os resultados relativos às análises de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus* coagulase positiva.

**TABELA 6** Contagem de *Staphylococcus* produtores de coagulase e *Staphylococcus aureus* presentes nos diferentes pontos amostrados na linha de processamento do queijo prato

Análise nº		1	2	3	4	5	Média
Leite cru (UFC/ml)	<i>S. coag. +</i>	$4,0 \times 10^3$	<1	$4,8 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$	$9,0 \times 10^4$	$1,1 \times 10^6$
	<i>S. aureus</i>	$4,0 \times 10^3$	<1	$3,3 \times 10^5$	$1,0 \times 10^5$	$3,4 \times 10^4$	$9,4 \times 10^4$
Leite past. (UFC/ml)	<i>S. coag. +</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	<i>S. aureus</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Água de molho das Formas (UFC/ml)	<i>S. coag. +</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	<i>S. aureus</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Salmoura (UFC/ml)	<i>S. coag. +</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	<i>S. aureus</i>	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Mãos (UFC/cm <sup>2</sup> )	<i>S. coag. +</i>	$4,0 \times 10^2$	<1	<1	<1	$3,1 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$
	<i>S. aureus</i>	$4,0 \times 10^2$	<1	<1	<1	<1	$8,0 \times 10^1$
Antebraços (UFC/cm <sup>2</sup> )	<i>S. coag. +</i>	<1	$3,3 \times 10^3$	<1	$4,7 \times 10^2$	<1	$1,9 \times 10^3$
	<i>S. aureus</i>	<1	$3,3 \times 10^3$	<1	<1	<1	$6,6 \times 10^2$
Queijo (UFC/g)	<i>S. coag. +</i>	$1,0 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	<1	$2,3 \times 10^5$	<1	$7,4 \times 10^4$
	<i>S. aureus</i>	$1,0 \times 10^4$	$3,3 \times 10^4$	<1	$1,4 \times 10^4$	<1	$1,1 \times 10^4$

Os resultados obtidos foram: leite cru, *Staphylococcus* coagulase positiva variando de  $<1$  a  $4,8 \times 10^6$  UFC/ml e *Staphylococcus aureus* variando de  $<1$  a  $3,3 \times 10^5$  UFC/ml. As oscilações dos resultados do leite cru mostram sérias falhas de higiene e manipulação em etapas anteriores à pasteurização. Para leite pasteurizado resfriado, água de molho das formas e salmoura, todas as análises deram  $<1$  UFC/ml, tanto para *Staphylococcus* coagulase positiva quanto para *Staphylococcus aureus*; nas mãos, os valores variaram de  $<1$  a  $4,0 \times 10^2$  UFC/cm<sup>2</sup> para *Staphylococcus* coagulase positiva e para *Staphylococcus aureus*; as análises dos antebraços variaram de  $<1$  a  $3,3 \times 10^3$  UFC/cm<sup>2</sup> tanto para *Staphylococcus* coagulase positiva quanto para *Staphylococcus aureus*; as análises do queijo embalado variaram de  $<1$  a  $2,3 \times 10^7$  UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva e de  $<1$  a  $3,3 \times 10^7$  UFC/g para *Staphylococcus aureus*.

Várias fontes podem ser identificadas como pontos de contaminação do leite por estafilococos, como a vaca, levando-se em consideração seu estado de saúde; o estábulo e suas condições de higiene e limpeza; o solo e qualquer equipamento que entre em contato com o leite e, não menos importante, todo o pessoal que atua desde a ordenha até a recepção do leite na indústria (Furtado, 1999). A elevada contagem verificada no leite cru recebido no laticínio é suficiente para que haja produção de toxina estafilocócica em níveis que possam levar à ocorrência de estafiloenterotoxemia em pessoas que posteriormente, consumam este leite ou seu derivado. É importante ressaltar que a toxina estafilocócica é termorresistente, suportando os tratamentos térmicos aos quais o leite é usualmente submetido (Tatini et al., 1976; Tibana et al., 1987).

As análises efetuadas no leite pasteurizado resfriado não evidenciaram a presença de estafilococos nesta etapa do processamento. De acordo com ICMSF (1998), tal fato demonstra que este tratamento térmico permite conferir segurança microbiológica ao leite. É importante ressaltar que essa segurança não

abrange a possível produção de toxina ocorrida no leite cru. A execução da pasteurização está diretamente vinculada à atenção dada ao binômio tempo/temperatura (Pelczar et al., 1997), além de outros fatores como higienização do pasteurizador (Svensson et al., 2000) e capacitação dos operadores (ICMSF, 1997).

As análises das mãos confirmam a situação esperada de presença de funcionários portadores de *Staphylococcus aureus* entre os manipuladores de alimentos. Segundo Hatakka et al. (2000), esse fato é comum. Os resultados indicam que também os antebraços dos manipuladores podem atuar como fonte desses microrganismos, já que em algumas situações a massa do queijo é transportada em contato direto com essa região do corpo pelos funcionários, contaminando os alimentos. As contagens foram maiores no antebraço do que nas mãos. A população de *Staphylococcus* verificada nas mãos e antebraços de manipuladores pode ser fonte de recontaminação do alimento se a manipulação não for acompanhada por critérios e normas que possam garantir a manutenção da qualidade obtida no tratamento térmico. Condições higiênico-sanitárias precárias submetem o leite e seus derivados ao contato com manipuladores potencialmente veiculadores de microrganismos patogênicos. Além de estafilococos, poderão ser inoculados, no alimento, outros microrganismos tão ou mais patogênicos que tenham entrado em contato com as mãos (Pelczar et al., 1997).

Apesar de alguns autores relatarem a presença de estafilococos na água (Eifert et al., 1996; Bryan, 1974), esta situação não foi verificada na água usada para molho das formas ou na salmoura.

Os níveis de *Staphylococcus coagulase positiva* encontrados no queijo prato embalado foram superiores ao nível permitido pela legislação ( $10^3$  UFC/g) (Brasil, 2001). Esse resultado exprime exatamente a situação que menos se deseja. Vale ressaltar que a manipulação não só inocula microrganismos

residentes da pele, como também transporta microrganismos através da contaminação cruzada (Germano et al., 2001).

Em todos os pontos analisados, entre os microrganismos confirmados como *Staphylococcus* coagulase positiva, uma parcela foi sempre de *Staphylococcus aureus*.

A contagem de *Staphylococcus aureus* verificada no queijo embalado pronto para o consumo estava próxima ao limite  $10^5$  UFC/g, considerado perigoso no que se refere à ocorrência de estafiloenterotoxemia. A toxina possivelmente produzida por esta população de microrganismos presente no queijo embalado irá incrementar os níveis de toxina que possam ter sido introduzidas no alimento pela população desses microrganismos presente no leite cru. Prolongar o período de maturação pode aumentar a segurança microbiológica do alimento (Bryan, 1983), visto que as condições verificadas no queijo pronto e no decorrer da maturação passam a limitar o crescimento do microrganismo.

As medidas para eliminar *S. aureus* são totalmente impraticáveis devido à sua ampla difusão. Portanto, as medidas de controle procuram limitar a contaminação e o crescimento subsequente desta bactéria nos alimentos (Hayes, 1993; Doyle, 1989). As estafiloenterotoxemias podem ser evitadas respeitando-se as regras higiênicas ao longo de toda a cadeia de produção do alimento (Jay, 1994; Bourgeois et al., 1994; Smith et al., 1983). A contaminação dos alimentos por *Staphylococcus* de origem humana pode ser bastante reduzida mediante a separação das pessoas infectadas e/ou portadoras da preparação dos alimentos, pela redução da manipulação dos alimentos, pela higiene dos manipuladores e adoção de boas práticas de manufatura (Jay, 1994; Bourgeois et al., 1994; Hayes, 1993). A contaminação por *Staphylococcus* de origem animal pode ser reduzida mediante o controle das mamites bovinas e evitando-se a contaminação entre alimentos crus e pasteurizados (Jay, 1994; Bourgeois et al., 1994). É

importante, também, destruir esses germes pelo calor (pasteurização) antes que cheguem a multiplicar-se e paralisar sua multiplicação, mantendo os alimentos refrigerados a temperaturas não superiores a 6 °C (Jay, 1994). A cadeia do frio é um dos pontos principais na prevenção das estafiloenterotoxemias (Bourgeois et al., 1994).

#### 4.5 Contagem de clostrídios sulfito-redutores

Verificou-se a ausência de isolamento de bactérias esporuladas do gênero *Clostridium* em todas as amostras analisadas. Todavia, este fato não invalida a constante preocupação com a possibilidade da proliferação de um ou mais esporos de bactérias do gênero *Clostridium* (Schoken-Iturrino et al., 1996).

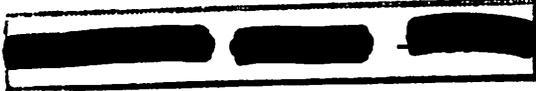
As amostragens foram feitas no período de verão, quando o gado geralmente está se alimentando no pasto. Isso exclui uma importante fonte de esporos de clostrídios que é a silagem aliada ao tratamento do gado em ambientes fechados como os estábulos (Carvalho, 1999). Também se deve considerar que os esporos possivelmente provenientes de operários portadores e que tenham sido inoculados no alimento após a pasteurização não sofreram nenhum choque térmico que pudesse desencadear sua germinação e conseqüente detecção pelas análises laboratoriais. O expressivo tamanho da microbiota verificada no alimento em etapas posteriores ao seu tratamento térmico pode estar inibindo a multiplicação e evidenciação de clostrídios no intervalo final do fluxograma, visto que estes microrganismos não são bons competidores. Outro fato que pode estar limitando a multiplicação desses microrganismos no queijo é a faixa de pH na qual esses microrganismos apresentam capacidade de crescimento. Segundo Sperber (1983), *C. perfringens* requer nível de atividade de água maior quando em solução de NaCl do que em presença de outros solutos. Dessa forma, a presença de NaCl no queijo pode estar contribuindo para o não isolamento desse microrganismo no referido alimento.

## 5 CONCLUSÕES

De acordo com as condições experimentais e levando em conta os dados obtidos, pode-se concluir que todas as etapas analisadas, desde a recepção do leite na indústria até o queijo pronto para ser embalado, são importantes para a obtenção de produto com adequada qualidade microbiológica. A qualidade microbiológica do queijo prato produzido estava fora dos padrões estabelecidos pela legislação, condenando o produto e impedindo sua utilização para fins de nutrição humana. Manipulação inadequada durante o processamento, contaminação cruzada, má higienização de utensílios e equipamentos além de má qualidade da água utilizada em diversas etapas foram os principais fatores envolvidos na contaminação por coliformes fecais verificada. *Staphylococcus* produtores de coagulase e *Staphylococcus aureus* encontrados no queijo tiveram como principal fonte de contaminação a superfície das mãos e antebraços dos manipuladores. Para a contaminação por bactérias psicrotróficas, foram importantes fontes o leite cru, a superfície de utensílios e equipamentos e a água utilizada em diversas etapas ao longo do processamento. Deficiências nos procedimentos de higienização estão diretamente relacionadas com a contaminação por bactérias psicrotróficas. Os funcionários do laticínio apresentavam insuficiente conhecimento a respeito de higiene e segurança microbiológica dentro da indústria de queijo prato.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, L.R. Efeito dos diferentes níveis de nitrato de sódio adicionado ao leite, nos teores de nitrato e nitrito do soro e do queijo prato ao longo da maturação. Lavras: UFLA, 1986. 89p. (Dissertação de Mestrado).
- ABRISHAMI, S.H.; TALL, B.D.; BRUURSEMA, T.J.; EPSTEIN, P.S.; SHAH, D.B. Bacterial adherence and viability on cutting board surfaces. *Journal of Food Safety*, Westport, v.14, n.2, p.153-172, May 1994.
- ADAMS, D.M.; BARACH, J.T.; SPECK, M.L. Heat resistant proteases in milk by psychrotrophic bacteria of dairy origin. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.58, n.6, p.828-834, Dec. 1974.
- ADAMS, D.M.; BRAWLEY, T.G. Heat resistant bacterial lipases and ultra-high temperature sterilization of dairy products. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.64, n.10, p.1951-1957, Oct. 1981.
- AHMED, A.A-H.; MOUSTAFA, M.K.; MARTH, E.H. Incidence of *Bacillus cereus* in milk and some milk products. *Journal of Food Protection*, Ames, v.46, n.2, p.126-128, Feb. 1983.
- ANDERSSON, R.E.; HEDLUND, C.B.; JONSSON, U. Thermal inactivation of a heat-resistant lipase produced by the Psychrotrophic bacterium *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.62, n.3, p.361-367, Mar. 1979.
- ANDRADE, N.J.; MACÊDO, J.A.B. Higienização na indústria de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 182p.
- BISHOP, J.R.; WHITE, C.H. Assessment of dairy product quality and potential shelf-life – a review. *Journal of Food Protection*, Ames, v.49, n.9, p.739-753, Sept. 1986.
- BOURGEOIS, C.M.; MESCLE, J.F.; ZUCCA, J. *Microbiología alimentaria*. Tradução: Víctor A. Díez Fernández. Zaragoza: Acribia, 1994. 437p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico Sobre os Padrões



**Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, n.7-E, 10 jan. 2001. p.45-53.**

**BRYAN, F.L. Epidemiology of milk-borne diseases. Journal of Food Protection, Ames, v.46, n.7, p.637-649, July 1983.**

**BRYAN, F.L. Microbiological food hazards today – based on epidemiological information. Food Technology, Chicago, v.28, n.9, p.52-84, Sept. 1974.**

**BRYAN, F.L. Risks associated with vehicles of foodborne pathogens and toxins. Journal of Food Protection, Ames, v.51, n.6, p.498-508, June 1988a.**

**BRYAN, F.L. Risks of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne diseases. Journal of Food Protection, Ames, v.51, n.8, p.663-673, Aug. 1988b.**

**CARVALHO, E.P. de. Microbiologia de alimentos.. Lavras: UFLA/FAEPE, 1999. 76p. (Curso de Especialização Pós-Graduação “Lato Sensu” Ensino à Distância: Processamento e Controle de Qualidade em Carne, Leite, Ovos e Pescado).**

**CHORDASH, R.A.; POTTER, N.N. Stability of Staphylococcal enterotoxin a to selected conditions encountered in foods. Journal of Food Science, Chicago, v.41, n.4, p.906-909, July/Aug. 1976.**

**COLLINS, E.B. Heat resistant psychrotrophic microorganisms. Journal of Dairy Science, Champaign, v.64, n.1, p.157-160, Jan. 1979.**

**CRAVEN, S.E. Growth and Sporulation of *Clostridium perfringens* in Foods. Food Technology, Chicago, Athens, v.34, n.4, p.80-87, Apr. 1980.**

**CRIADO, M.T.; SUÁREZ, B.; FERREIRÓS, C.M. The importance of bacterial adhesion in the dairy industry. Food Technology, Chicago, v.48, n.2, p.123-126, Feb. 1994.**

**CULLOR, J.S. HACCP (Hazard Analysis Critical Control Points): is it coming to the dairy? Journal of Dairy Science, Champaign, v.80, n.12, p.3449-3452, 1997.**

**DAMS, R.I.; BEIRÃO, L.H.; TELXEIRA, E. Sistema de análise de risco e pontos críticos de controle: revisão de literatura. Boletim do Centro de**

**Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.13, n.1, p.47-54, jan./jun. 1995.

**DOYLE, M.P.** Foodborne bacterial pathogens. New York: Marcel Dekker, 1989. 445p.

**EIFERT, J.D.; GENNINGS, C.; CARTER JR., W.H.; DUNCAN, S.E.; HACKNEY, C.R.** Predictive model with improved statistical analysis of interactive factors affecting the growth of *Staphylococcus aureus* 196E. **Journal of Food Protection**, Ames, v.59, n.6, p.608-614, June 1996.

**EL-BASSIONY, T.A.** Occurrence of *Clostridium perfringens* in milk and dairy products. **Journal of Food Protection**, Ames, v.43, n.7, p.536-537, July 1980.

**EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS - EPAMIG.** Os queijos na fazenda. 2.ed. Rio de Janeiro: Globo, 1988. 219p. (Coleção do agricultor. Laticínios).

**FARRAG, S.A.; MARTH, E.H.** Growth of *Listeria monocytogenes* in the presence of *Pseudomonas fluorescens* at 7 or 13°C in skim milk. **Journal of Food Protection**, Ames, v.52, n.12, p.852-855, Dec. 1989.

**FIGUEIREDO, R.M.** PRP: Programa de redução de patógenos; SSOP: padrões e procedimentos operacionais de sanitização; manual de procedimentos e desenvolvimento. São Paulo: R.M. Figueiredo, 1999. 164p. (Coleção higiene dos alimentos, v.1).

**FURTADO, M.M.** A arte e a ciência do queijo. São Paulo: Publicações Globo Rural, 1991. 297p.

**FURTADO, M.M.** Principais problemas dos queijos: causas e prevenção. São Paulo: Fonte Comunicações e Editora, 1999. 176p.

**GÉLINAS, P.; GOULET, J.** Neutralization of the activity of eight disinfectants by organic matter. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.54, n.2, p.243-247, Apr. 1983.

**GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S.** Higiene e vigilância sanitária de alimentos. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 630p.

- GIESE, J.H.** Sanitation: the key to food safety and public health. **Food Technology**, Chicago, v.45, n.12, p.74-80, Dec. 1991.
- GLATZ, B.A.; BRUDVIG, S.A.** Survey of commercially available cheese for enterotoxigenic *Escherichia coli*. **Journal of Food Protection**, Ames, v.43, n.5, p.395-398, May 1980.
- GOULD, G.W.** Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications. **Journal of Food Protection**, Ames, p.82-86, 1996. Supplement.
- HAJDENWURCEL, J.R.** HACCP na indústria de laticínios. 1999. 41p.
- HALPIN-DOHNALEK, M.I.; MARTH, E.H.** *Staphylococcus aureus*: Production of extracellular compounds and behavior in foods – a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v.52, n.4, p.267-282, Apr. 1989.
- HARRIGAN, W.F.** Laboratory methods in food microbiology. 3.ed. San Diego: Academic Press, 1998. 532p.
- HATAKKA, M.; BJORKROTH, K.J.; ASPLUND, K.; MAKI-PETAYS, N.; KORKEALA, H.J.** Genotypes and enterotoxicity of *Staphylococcus aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. **Journal of Food Protection**, Ames, v.63, n.11, p.1487-1491, Nov. 2000.
- HAYES, P.R.** Microbiología e higiene de los alimentos. Tradução: Bernabé Sanz Pérez. Zaragoza: Acribia, 1993. 369p.
- HEUVELINK, A.E.; BLEUMINK, B.; VAN DEN BIGGELAAR, F.L.A.M.; TE GIFFEL, M.C.; BEUMER, R.R.; DE BOER, E.** Occurrence and survival of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H & in raw cow's milk in the Netherlands. **Journal of Food Protection**, Ames, v.61, n.12, p.1597-1601, Dec. 1998.
- HOBBS, B.C.; ROBERTS, D.** Higiene y toxicología de los alimentos. Tradução: Pedro Ducar Maluenda. 3.ed. Zaragoza: Acribia, 19997. 478p.
- HOLT, J.G.; KRIEG, N.R.; SNEATH, P.H.A.; STALEY, J.T.; WILLIAMS, S.T.** Bergey's manual of determinative bacteriology. 9.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787p.

HURST, A.; HUGHES, A. The protective effect of some food ingredients on *taphylococcus aureus* MF31. ~~Journal of Applied Bacteriology~~, Oxford, v.55, n.1, p.81-88, Aug. 1983.

INTERNATIONAL ASSOCIATION OF MILK, FOOD AND ENVIRONMENTAL SANITARIANS (IAMFES). Guia de procedimentos para implantação do método de análise de perigos em pontos críticos de controle (APPCC)/ Bryan, F.L. e cols., IAMFES; tradução, Gillian Alonso Arruda e cols. São Paulo: Ponto Crítico Consultoria em Alimentação, 1997. 107p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos. Tradução: D.Anna Terzi Giova; revisão científica Eneo Alves da Silva Jr. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 377p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Microorganismos de los alimentos: características de los patógenos microbianos. Tradução: Manuel Ramis Vergés. Zaragoza: Acribia, 1998. 606p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). Microorganismos de los alimentos – técnicas de análisis microbiológico. Tradução: B.Moreno e cols. 2.ed. Zaragoza: Acribia, 1983. v.1, 431p.

JAY, J.M. Microbiologia moderna de los alimentos. Tradução: Manuel Ramis Vergés. Zaragoza: Acribia, 1994. 804p.

KLOOS, W.E.; SCHLEIFER, K.H.; GÖTZ, F. The Genus *Staphylococcus*. In: BALOWS, A.; TRIPER, H.G.; DWORKIN, M.; HARDER, W.; SCHLEIDER, K.H. (eds). *The Procaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications*. New York: Springer-Verlag, 1992. p.1369-1420.

KLUNGEL, G.H.; SLGHUIS, B.A.; HOGVEEN, H. The Effect of the introduction of automatic milking systems on milk quality. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.83, n.9, p.1998-2003, Sept. 2000.

KUAYE, A.Y. Análise de perigos e pontos críticos de controle – garantia e controle de qualidade no processamento de alimentos. *Boletim da Sociedade*

**Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.29, n.2, p.151-154, jul./dez. 1995.**

**LIN, J.; SMITH, M.P.; CHAPIN, K.C.; BAIK, H.S.; BENNETT, G.N.; FOSTER, J.W. Mechanisms of acid resistance in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v.62, n.9, p.3094-3100, Sept. 1996.**

**LONDOÑO, M.M.D. Determinação das características de fabricação, padrões físico-químicos, sensoriais e de comercialização do queijo minas mei-cura e comparação com os queijos minas padrão e prato. Lavras: UFLA, 1998. 109p. (Dissertação de Mestrado).**

**LONDOÑO, M.M.D.; ABREU, L.R.de. Fabricação de queijo prato – apoio ao produtor rural. Lavras: UFLA. Pró-reitoria de extensão, 1998. 18p. (Circular, ano VII, n.107)**

**LINDQVIST, R.; ANDERSSON, Y.; DE JONG, B.; NORBERG, P. A summary of reported foodborne disease incidents in Sweden, 1992 to 1997. *Journal of Food Protection*, Ames, v.63, n.10, p.1315-1320, Oct. 2000.**

**MAC FADDIN, J.F. biochemical tests for identification of medical bacteria. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 485p.**

**MAXCY, R.B. Fate of post-cooking microbial contaminants of some major menu items. *Journal of Food Science*, Chicago, v.41, n.2, p.375-378, Mar./Apr. 1976.**

**MENDES, E.S.; LIMA, E.C.; NUMERIANO, A. K.M.; COELHO, M.I.S. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*e coliformes em queijos de “Coalho” comercializados em Recife. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.13, n.66/67, p.122-126, nov. 1999.**

**NADER FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O.D.; SCHOCKEN-ITURRINO, R.P. Avaliação das características microbiológicas do leite tipo b em diferentes pontos do fluxograma de beneficiamento. *Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes*, Juiz de Fora, v.43, n.259, p.13-17, set./out. 1988.**

**NASCIMENTO, G.G.F.; FIGUEIREDO, S.H.M.; UBISSES, D.M.; ANTONELLI, E.M. Condições microbiológicas do leite pasteurizado comercializado em Piracicaba, SP. *Boletim da Sociedade Brasileira de***

- Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.1, p.13-21, jan./jun. 1991.
- OLIVEIRA, J.S.** Queijo: fundamentos tecnológicos. 2.ed. Campinas: Ícone, 1986. 146p.
- PADHYE, N.V.; DOYLE, M.P.** *Escherichia coli* O157:H7: epidemiology, pathogenesis, and methods for detection in food. **Journal of Food Protection**, Ames, v.55, n.7, p.555-565, July 1992.
- PELCZAR JR., M.J.; CHAN, E.C.S.; KRIEG, N.R.** **Microbiologia – conceitos e aplicações**. 2.ed. São Paulo: Makron Books do Brasil, 1997. v.1, 524p.
- PEREIRA, M.L.; PEREIRA, J.L.; SERRANO, A.M.; BERGDOLL, M.S.** Estafilococos e alimentos: possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.66/67, p.48-55, nov. 1999.
- PINTO, R.A.; MASSON, M.L.** Análise de perigos e pontos críticos de controle (HACCP): história e aplicação. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v.16, n.2, p.229-246, jul./dez. 1998.
- PRATA, L.F.** Higiene de alimentos e as necessidades contemporâneas. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.11, n.71, p.13-16, jul. 2000.
- QUINTO, E.J.; FRANCO, C.M.; FENTE, C.A.; VASQUEZ, B.I.; CEPEDA, A.** Growth of *Escherichia coli* O157:H7 in the presence of *Pseudomonas fluorescens* in skimmed milk at 7 or 25°C. **Journal of Food Safety**, Westport, v.16, n.4, p.273-285, Apr. 1997.
- REINBOLD, G.W.** Indicator organisms in dairy products. **Food Technology**, Chicago, v.37, n.6, p.111-113, June 1983.
- RIBEIRO, G.A.; ALEIXO, J.A.G.; LIMA, N.B.F.** Ocorrência de *Escherichia coli* enteropatogênicas em produtos lácteos comercializados em Pelotas, RS. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.25, n.2, p.62, jul./dez. 1991.
- RIBEIRO, M.G.; PINTO, J.P.A.N.; SILVA, E.O.T.R.** *Escherichia coli* O157:H7. De Hambúrguer, leite e outros gêneros alimentícios à colite hemorrágica e síndrome urêmica-hemolítica. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.13, n.66/67, p.88-99, nov./dez. 1999.

- RICE, E.W.; JOHNSON, C.H. Short communication: survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy cattle drinking water. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v.83, n.9, p.2021-2023, Sept. 2000.
- SANTOS, E.S.; CARVALHO, E.P.; ABREU, L.R. Psicrotóxicos: conseqüências de sua presença em leites e queijos. **Boletim da sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de alimentos**, Campinas, v.33, n.2, p.129-138, jul./dez. 1999.
- SBAMPATO, C.G.; ABREU, L.R. produção higiênica do leite – apoio ao produtor rural. Lavras: UFLA/Coordenadoria de Extensão, 1995. 17p. (Circular, ano IV, n.22).
- SCHEUSNER, D.L.; HARMON, L.G. Growth and enterotoxin production by various strains of *Staphylococcus aureus* in selected foods. **Journal of Food Science**, Chicago, v.38, n.3, p.474-476, Mar./Apr. 1973.
- SCHOKEN-ITURRINO, R.P.; NADER FILHO, A.; DIMENSTEIN, A.R. Ocorrência de bactérias esporuladas dos gêneros *Bacillus* e *Clostridium* em amostras de Leite Longa Vida. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.10, n.42, p.25-27, mar./abr. 1996.
- SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1997. 295p.
- SILVA JR., E.A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 4.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 477p.
- SMITH, J.L.; BUCHANAN, R.L.; PALUMBO, S.A. Effect of food environment on Staphylococcal Enterotoxin synthesis: a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v.46, n.6, p.545-555, June 1983.
- SPERBER, W.H. Influence of /water- activity on foodborne bacteria - a review. **Journal of Food Protection**, Ames, v.46, n.2, p.142-150, Feb. 1983.
- SVENSSON, B.; ENEROTH, A.; BRENDHAUG, J.; MOLIN, G.; CHRISTIANSSON, A. Involvement of a pasteurizer in the contamination of milk by *Bacillus cereus* in a commercial dairy plant. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.67, n.3, p.455-460, Aug. 2000.

- TATINI, S.R.; CORDS, B.R.; GRAMOLI, J. Screening for Staphylococcal Enterotoxins in food. **Food Technology**, Chicago, v.30, n.4, p.64-74, Apr. 1976.
- TATINI, S.R.; SOO, H.M.; CORDS, B.R. Heat-stable nuclease for assessment of Staphylococcal growth and likely presence of enterotoxins in foods. **Journal of Food Science**, Chicago, v.40, n.2, p.352-356, Mar./Apr. 1975.
- TEUFEL, P.; BRYAN, F.L.; QADAR, F.; RIAZ, S.; ROOHI, S.; MALIK, Z. Risks of Salmonellosis and staphylococcal food poisoning from pakistani milk-based confectioneries. **Journal of Food Protection**, Ames, v.55, n.8, p.588-594, Aug. 1992.
- TIBANA, A.; RAYMAN, K.; AKHTAR, M.; SZABO, R. Thermal stability of Staphylococcal enterotoxins A, B and C in a buffered system. **Journal of Food Protection**, Ames, v.50, n.3, p.239-242, Mar. 1987.
- TROLLER, J.A. Influence of water activity on microorganisms in foods. **Food Technology**, Chicago, v.34, n.5, p.76-82, May 1980.
- TROLLER, J.A.; STINSON, J.V. Influence of water activity on the production of extracellular enzymes by *Staphylococcus aureus*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.35, n.3, p.521-526, Mar. 1978.
- VARMAM, A.H.; EVANS, M.G. **Foodborne pathogens: an illustrated text**. Londres: Mosby Year Book, 1991. 557p.
- WANG, G.; ZHAO, T.; DOYLE, M.P. Fate of enterohemorrhagic *Escherichia coli* o157:h7 in bovine feces. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.62, n.7, p.2567-2570, July 1996.
- ZOTTOLA, E.A. Scientific status summary – microbial attachment and biofilm formation: a new problem for the food industry? **Food Technology**, Chicago, v.48, n.7, p.107-114, July 1994.
- ZSCHÖCK, M.; SOMMERHÄUSER, J.; CASTANEDA, H. Relatedness of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mammary gland suffering from mastitis in a single herd. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v.67, n.3, p.429-435, Aug. 2000.

## ANEXO

Questionário, elaborado segundo Silva Jr.(2001) e Hajdenwurcel, aplicado aos funcionários do laticínio para avaliação das condições gerais do estabelecimento.

Perguntas	Resp.	Observações
<b>• Matéria-prima</b>		
1.Existe pessoal habilitado para inspeção e seleção do leite recebido?	Não	
2.Existe controle de qualidade da água utilizada no estabelecimento?	Não	
3.O leite recebido passa por tratamento térmico devidamente controlado?	Sim	
4.O leite recebido é imediatamente utilizado?	Sim	As vezes fica no caminhão muito tempo
5.O leite de má qualidade é devolvido?	Sim	
6.O leite é armazenado de forma refrigerada nas fazendas?	Não	
<b>• Condições de processamento e higienização do material</b>		
1.O laticínio é construído em área onde os arredores não ofereçam riscos às condições de higiene?	Não	
2.Os equipamentos são em aço inoxidável?	Sim	Nem todos
3.Os equipamentos e utensílios encontram-se em bom estado de conservação e funcionamento?	Sim	Nem todos
4.Há disponibilidade de água quente para a lavagem de utensílios/equipamentos?	Sim	
5.Os utensílios/equipamentos são devidamente higienizados antes e depois de serem utilizados?	Não	
6.Quando não estão sendo utilizados, os utensílios/equipamentos são guardados em locais próprios (longe do chão e parede)?	Não	
7.O pessoal que executa os trabalhos de higienização são treinados para isso?	Não	
8.A limpeza do chão, canaletas e ralos é efetuada corretamente?	Não	
9.Os banheiros e vestiários dos funcionários são lavados diariamente?	Não	

10.Existem produtos para higienização das mãos?	Sim	
11.É feito algum controle de qualidade microbiológica após a fabricação dos produtos?	Não	
• Estrutura física		
1.O local apresenta projeto e construção que facilitem as operações de manutenção e higienização?	Sim	
2.O local detém a entrada de roedores, insetos e demais pragas?	Não	
3.Os sanitários e vestiários são afastados da área de produção?	Sim	
• Pessoal		
1.Manipuladores mantêm cabelos aparados e totalmente cobertos pelo gorro, rede ou similares?	Sim	
2.Os manipuladores utilizam máscara e luvas durante o processo?	Não	
3.As unhas são mantidas curtas, limpas e livres de esmalte?	Sim	
4.Funcionários (masculinos) apresentam barbas cortadas?	Sim	
5.O uniforme é mantido em bom estado, sem rasgos, partes descosturadas, conservados limpos durante o trabalho e trocados diariamente?	Não	
6.Os calçados se encontram limpos e em boas condições?	Sim	
7.As pessoas que se encontram afetadas por alguma enfermidade infecto-contagiosa ou que apresentam inflamações ou infecções na pele são excluídas ou afastadas da manipulação de alimentos?	Sim	Não existe muito controle desse fato
8.Cada funcionário tem uma função específica dentro do laticínio?	Não	
9.O pessoal é submetido a exame médico periódico?	Não	
10.Ao tocar (manusear) a matéria-prima, produtos em processo ou produto acabado, é observada a higienização das mãos?	Não	

11. Acessórios tais como brincos, anéis, colares, pulseiras, relógios e outros são utilizados por manipuladores durante o processo?	Não	
12. Os funcionários são alertados quanto a não passarem as mãos nos cabelos ou na face, coçarem o nariz ou órgãos genitais durante as etapas de produção? E logo após a realização de uma dessas ações lavarem bem as mãos imediatamente?	Sim	
13. Os funcionários sabem que não devem enxugar as mãos no uniforme ou avental?	Sim	
14. Os funcionários são alertados quanto a não falar, cantar, gritar, tossir ou espirrarem em direção aos alimentos?	Sim	Nem sempre isso é cumprido
15. Os funcionários estão cientes de que não devem tocar nas partes de utensílios (liras termômetros, etc.) que entrem em contato com os alimentos?	Não	
16. Os funcionários estão orientados a não fumarem durante o trabalho e, quando necessitem, que saiam da área e lavem bem as mãos logo após?	Sim	
17. Os funcionários têm orientação quanto ao tratamento odontológico?	Não	