

Ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positiva em queijos Minas tipos frescal e padrão comercializados nas feiras-livres de Goiânia-GO

Occurrence of coagulase positive - *Staphylococci* in fresh and cured types Minas cheese sold at open free market of Goiânia-GO

RIALA6/1142

Marcele L. T. ARRUDA^{1*}, Edmar S. NICOLAU², Alline P. REIS¹, Aariane S. ARAÚJO³, Albenones J. MESQUITA².

* Endereço para correspondência: Quadra 02 conjunto B/10 casa 26, Sobradinho, DF/Brasil CEP 73015-210, marcelelouse@gmail.com

¹Médica Veterinária, Mestre em Ciência Animal/Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO/Brasil.

²Professores da Escola de Veterinária/ Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO/Brasil.

³Acadêmica do Curso de graduação em Engenharia de Alimentos/ Universidade Federal de Goiás (UFG), Goiânia, GO/Brasil.

Recebido: 31/09/2007 – Aceito para publicação: 01/11/2007

RESUMO

O queijo Minas, produto largamente consumido no Brasil, por vezes fabricado de forma inadequada, pode causar intoxicações alimentares. Nesses eventos o *Staphylococcus aureus* desempenha importante papel. Desenvolveu-se este trabalho com objetivo de determinar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positivo em queijos comercializados em feiras-livres de Goiânia-GO. Foram analisadas 84 amostras (42 de queijo Minas frescal e 42 de Minas padrão) oriundas de 21 feiras-livres distribuídas pela cidade de Goiânia, cuja extensão foi dividida em quatro quadrantes para sorteio das feiras. As amostras coletadas foram submetidas à análise para contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo. Os valores médios de contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo de queijos frescos foram: $6,3 \times 10^4$; $9,3 \times 10^4$; $3,8 \times 10^3$ e $5,6 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente para os quadrantes I, II, III e IV. Para os queijos Minas padrão, os valores médios foram: $1,8 \times 10^5$; $1,3 \times 10^3$; $1,3 \times 10^4$. Os queijos Minas comercializados em feiras-livres de Goiânia-GO apresentam elevadas contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo, que podem representar risco para o consumidor.

Palavras-chave. microbiologia de alimentos, queijo Minas, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

Minas cheese is widely consumed in Brazil. This cheese is often made in an inadequate and inaccurately way, which could be a cause foodborne disease, and among these microorganisms *Staphylococcus aureus* plays a crucial role. This study was performed in order to evaluate the cheese commercialized at open free market in Goiânia-GO concerning the contamination by coagulase positive - *Staphylococcus*. Eighty-four samples (42 samples of fresh Minas cheese and 42 samples of cured one) were collected from 21 open markets set up in different locations of Goiânia, and to conduct this study the local extension was divided into four quadrants. Cheese samples were analyzed for coagulase positive - *Staphylococcus* counting. The mean values of coagulase positive-*Staphylococcus* counting were 6.3×10^4 ; 9.3×10^4 ; 3.8×10^3 and 5.6×10^4 CFU/g in fresh Minas cheese collected from quadrants I, II, III, and IV, respectively. In cured Minas cheese, the mean values of counting were: 1.8×10^5 ; 1.3×10^3 ; 1.3×10^4 and 2.5×10^2 CFU/g, in samples collected from quadrants I, II, III e IV, respectively. The mean values for coagulase positive-*Staphylococcus* counting in cured cheese were higher in samples from quadrants I and III. In conclusion Minas cheese samples commercialized at open market located in Goiânia-GO present high counting of coagulase positive-*Staphylococcus*, and the occurrence of pathogenic microorganisms might be a risk of contamination to consumers.

Key words. food microbiology, Minas cheese, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUÇÃO

Historicamente, os queijos e o leite permitiram que populações sobrevivessem a períodos de extrema escassez de alimentos¹. Nutricionalmente, o queijo representa rica fonte de proteínas de alta qualidade, com alto percentual de gordura e cálcio, contendo ainda fósforo, riboflavina e vitamina A².

Economicamente, acredita-se que o queijo seja um dos produtos alimentícios com maior demanda reprimida, até mesmo entre as classes de maior renda³. O mercado de queijo no Brasil foi avaliado em US\$ 1 bilhão/ano e, apesar da presença das multinacionais e da concentração nos mercados de queijos finos, os queijos tradicionais produzidos em condições semi-artesaniais ainda representam grande peso neste mercado⁴.

Nacionalmente, compete às indústrias de menor porte a produção dos queijos Minas e Mussarela, enquanto as de maior porte dedicam-se à fabricação de produtos lácteos mais sofisticados⁵. Além disso, por apresentar baixa visibilidade de marca, os queijos tradicionais, sofrem constante depressão de preços e este segmento torna-se vulnerável à indústria informal pela falta de barreiras tecnológicas⁴.

Estes fatores associados ao contexto econômico a partir da década de 80 resultaram em significativo impulso na produção do queijo Minas principalmente devido ao maior rendimento do produto, ao fácil processamento e à estocagem dispensável em relação a outros tipos de queijo. Desta forma, a indústria, ao optar pelo queijo Minas frescal passou a fabricar um produto com menor exigência de capital de giro, adequando-se à queda do poder aquisitivo dos consumidores⁵.

De acordo com a legislação brasileira o queijo Minas frescal é um produto fresco, semi-gordo (com 38 a 47% de gordura no extrato seco), de muito alta umidade (de 55 a 60% de umidade), obtido pela coagulação enzimática do leite com o coalho e/ou outras enzimas coagulantes apropriadas⁶. Tendo em vista estas características, a sua vida de prateleira é de 7 a 10 dias⁸ e o produto deve ser mantido sob refrigeração em temperaturas abaixo de 8°C durante sua cadeia de comercialização⁹.

O queijo Minas padrão passa por um período de maturação de 20 dias, em média. A legislação brasileira o caracteriza como um produto fresco, de alta umidade (46 a 49% de umidade), semigordo ou gordo (43 a 49% de gordura extrato seco), conforme elaboração⁷. A vida de prateleira é mais longa, de 2 a 3 meses, e durante sua comercialização também é necessário que a refrigeração seja controlada⁸.

O processo de preparo desses queijos requer constante manipulação que, por vezes, é realizado por pessoas sem nenhum conhecimento e/ou cuidado de higiene, como os estafilococos estão primordialmente associados à mucosa e pele de animais de sangue quente são comumente isolados em alimentos, poeira e água¹⁰.

De acordo com a nona edição do Manual Bergey's, o gênero *Staphylococcus* é subdividido em 27 espécies¹⁰

sendo o *Staphylococcus aureus* a espécie mais freqüentemente associada às doenças estafilocócicas, veiculadas ou não por alimentos¹¹.

Staphylococcus são bactérias mesófilas que apresentam temperatura de multiplicação na faixa de 7°C a 47,8°C¹², com temperatura ideal de 30-37°C¹⁰. São cocos Gram-positivos, imóveis, não formadores de esporos e anaeróbios facultativos que podem ocorrer em pares, separadamente ou em cachos irregulares¹⁰. São bastante tolerantes a concentrações de sal de 10% a 20% e a nitratos e são capazes de multiplicar em condições de atividade de água (Aa) inferiores a 0,86¹¹.

Os estafilococos são comumente encontrados nas fossas nasais, garganta, leito subungüal e pele de portadores, portanto, os manipuladores de alimentos constituem importante fonte de disseminação desses microrganismos patogênicos, principalmente para os alimentos e demais funcionários¹³.

Alimentos que requerem considerável manipulação durante o seu preparo e cuja temperatura de conservação seja inadequada são passíveis de causar este tipo de intoxicação¹⁴, como é o caso dos queijos Minas frescal e padrão.

A intoxicação alimentar causada por esta bactéria, conhecida por intoxicação estafilocócica, é causada pela enterotoxina termoestável produzida pelo *S.aureus*¹⁵ e pode ser contraída pela ingestão de alimentos, inicialmente contaminados por esta bactéria, submetidos a temperaturas de cocção insuficientes para provocar sua destruição e submetidos a temperaturas inadequadas de conservação. Alimentos contaminados após o preparo e mantidos sob temperaturas que permitam a multiplicação do microrganismo também são potenciais causadores de intoxicação estafilocócica¹⁴. Geralmente, a produção da enterotoxina, ocorre quando a bactéria está no alimento em concentrações em torno de 10⁵ UFC/g¹⁶.

Tendo em vista o grande consumo de queijo Minas no Brasil, as condições de fabricação e suas características físico-químicas, desenvolveu-se o presente trabalho com o objetivo de determinar a ocorrência de *Staphylococcus* coagulase positivo em queijos comercializados em feiras-livres de Goiânia-GO.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

No período de maio a setembro de 2005, foram colhidas e analisadas 84 (oitenta e quatro) amostras de queijos Minas oriundos de 21 (vinte e uma) feiras-livres do município de Goiânia/GO. Em cada uma das feiras, foram escolhidas aleatoriamente duas bancas e em cada uma delas foram colhidas duas amostras de queijo, sendo uma amostra do produto tipo frescal e outra do produto tipo padrão; perfazendo assim um total de quatro amostras de queijo por feira.

Para efeito de sorteio, o mapa de Goiânia-GO foi dividido em quatro quadrantes. Como ponto central foi definido a Praça Cívica. Feiras noturnas não participaram do sorteio por privilegiarem o comércio de roupas e artesanato.

No momento da organização do sorteio, observou-se que o IV quadrante possuía apenas 6 feiras-livres e, no momento da coleta, constatou-se que duas feiras do quadrante IV e uma no quadrante I eram muito pequenas e não dispunham de bancas de venda de queijo. Assim os quadrantes I, II, III e IV foram representados respectivamente por 5, 6, 6 e 4 feiras.

No momento da aquisição dos queijos que compuseram a amostragem foram observadas as características ideais para o produto, quais sejam: coloração branco-amarelada, aroma suave e consistência macia, para os queijos minas frescal.

As amostras eram colhidas antes das 10 horas da manhã. Em todas as feiras, os queijos eram mantidos em ambiente não refrigerado. Sendo importante salientar, que a temperatura média ambiente no período de maio a setembro varia de 22°C a 24,6°C¹⁷. Uma vez colhidas, eram acondicionadas em sacos plásticos para produtos alimentícios evitando o contato manual, e postas em caixas isotérmicas contendo gelo “reciclável” e transportadas ao Centro de Pesquisas em Alimentos (CPA) da Escola de Veterinária da UFG para análise. Aqueles queijos que não puderam ser analisados imediatamente foram mantidos sob refrigeração por um prazo máximo de 48 horas e em seguida analisados.

Para as análises microbiológicas foram pesados asepticamente 10 gramas de queijo e homogeneizados em Stomacher juntamente com 90ml de solução de citrato de sódio a 2%¹⁸, durante dois minutos, obtendo-se assim, uma diluição 10⁻¹. A partir das diluições 10⁻¹ foram preparadas diluições seriadas de 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴ e 10⁻⁵ usando como diluente a água peptonada 0,1%¹⁹.

Em seguida, foi semeado 0,1mL de cada diluição sobre a superfície seca do ágar Baird-Parker. Com o auxílio de alça de Drigalski ou bastão do tipo “hockey”, o inóculo foi espalhado cuidadosamente por toda a superfície do meio, até sua completa absorção. As placas foram incubadas invertidas a 36°C ± 1°C por 30 a 48 horas.

As placas selecionadas para a contagem foram aquelas que continham entre 20 e 200 colônias. Foram selecionadas de 3 a 5 colônias típicas e atípicas, para inoculação, individualmente, em tubos contendo Brain Heart Infusion Broth (BHI). Foram incubadas a 36°C±1°C, por 24 horas. A partir das culturas em caldo BHI efetuou-se a prova de coagulase²⁰ e as seguintes provas complementares: Prova de Catalase, Termonuclease, Teste de Oxidação e Fermentação da Glicose e Manitol e Produção de Acetoína¹⁹

Delineamento Estatístico

Foram utilizadas estatísticas descritivas e distribuições de frequência e análise de variância do delineamento inteiramente casualizado, com a média dos tratamentos comparada pelo teste F²¹.

Tais procedimentos estatísticos foram empregados na análise biométrica do experimento, tanto na comparação entre quadrantes como nas comparações entre feiras dentro de cada quadrante, e os dados foram tabulados em um quadro auxiliar.

Para as comparações entre as médias das variáveis estudadas, utilizou-se o teste de Tukey²⁰.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios das contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva de cada quadrante, estão representados na Tabela 1. A análise de variância pode ser visualizada na Tabela 2.

No quadrante I para o queijo Minas frescal (Tabela 1), a menor contagem média de *Staphylococcus* coagulase positiva neste quadrante foi de 1,0 x 10¹ UFC/g na Feira E e a maior contaminação por esta bactéria foi representada por uma contagem média de 2,6 x 10⁶ UFC/g na Feira A. Todas as amostras analisadas neste quadrante, com exceção das amostras da feira E, apresentaram contagens de *S.aureus* em níveis passíveis de causar intoxicação alimentar (acima de 10⁵ UFC/g)¹⁶.

Em relação às contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva dos queijos Minas padrão das feiras do Quadrante I (Tabela 1), os queijos Feira A tiveram com contagem média de 1,1 x 10³ UFC/g, o que representa boa qualidade microbiológica. Neste quadrante, as únicas amostras de queijo Minas padrão com valores de contagens individuais que apresentavam pouco risco de intoxicação estafilocócica foram: Feira A (amostra 1 - < 1,0 x 10¹UFC/g), Feira D (amostra 2 - 5,4 x 10⁴UFC/g) e Feira E (amostra 1 - 6,3 x 10⁴UFC/g), as demais amostras representavam risco ao consumidor com valores de contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo acima da contagem mínima necessária à produção de enterotoxina (10⁵UFC/g)¹⁶.

No quadrante II a Feira K apresentou a menor contagem média de *Staphylococcus* coagulase positiva - 4,4 x 10²UFC/g - para o queijo Minas frescal. As amostras deste queijo coletadas nesta feira (2,2 x 10⁴UFC/g e < 1,0 x 10¹UFC/g) e aquelas coletadas na Feira J (5,0 x 10⁴UFC/g e 4,3 x 10²UFC/g) foram as únicas que representaram baixo risco ao consumidor de intoxicação alimentar por *Staphylococcus aureus*¹⁶. A amostra de queijo Minas frescal de maior contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva neste quadrante - 2,8 x 10⁶UFC/g - foi colhida em banca da Feira F.

No quadrante III, (Tabela 1) para o Minas frescal, a feira de melhor qualidade foi a Feira Q (Tabela 1) com média de 2,8 x 10²UFC/g, onde as duas amostras coletadas representaram baixo risco de intoxicação alimentar por *Staphylococcus aureus*, fato observado também nas Feiras O e P. Na comparação dos queijos Minas padrão, a feira de melhor qualidade foi a Feira N com média de 2,5 x 10² UFC/g, representando baixo risco de contaminação alimentar estafilocócica¹⁶.

Em referência ao quadrante IV (Tabela 1) a feira onde foram coletadas as amostras de melhor qualidade foi a Feira U, com média de $7,2 \times 10^4$ UFC/g. Em uma das feiras deste quadrante foi encontrada a maior contagem média dentre as amostras coletadas neste estudo: $2,3 \times 10^7$ UFC/g em queijos frescos colhidos na Feira R.

Os valores médios das contagens de *Staphylococcus* coagulase positiva obtidas de queijos Minas padrão no quadrante IV foram consideradas relativamente baixas, apesar de terem sido observadas elevadas contagens isoladas (Feira R – $1,0 \times 10^5$ UFC/g e Feira S - $1,0 \times 10^6$ UFC/g), passíveis de causar intoxicação.

Tabela 1. Valores médios de contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC/g) em queijo Minas frescal e padrão colhidos em feiras-livres na cidade de Goiânia, 2005.

Local	Tipo de Queijo	
	Minas frescal	Minas padrão
Quadrante I		
Feira A	$2,6 \times 10^6$ a	$1,1 \times 10^3$ a
Feira B	$5,4 \times 10^5$ ab	$1,8 \times 10^6$ a
Feira C	$3,7 \times 10^5$ b	$1,6 \times 10^6$ a
Feira D	$1,9 \times 10^5$ b	$1,5 \times 10^6$ a
Feira E	$1,0 \times 10^1$ c	$3,9 \times 10^5$ a
Quadrante II		
Feira F	$9,6 \times 10^5$ a	$7,4 \times 10^3$ a
Feira G	$4,9 \times 10^6$ a	$3,0 \times 10^2$ a
Feira H	$4,1 \times 10^5$ a	$1,0 \times 10^1$ a
Feira I	$1,7 \times 10^5$ a	$2,8 \times 10^3$ a
Feira J	$4,6 \times 10^3$ a	$9,3 \times 10^4$ a
Feira K	$4,4 \times 10^2$ a	$9,5 \times 10^2$ a
Quadrante III		
Feira L	$1,3 \times 10^4$ a	$4,1 \times 10^3$ a
Feira M	$1,7 \times 10^4$ a	$4,2 \times 10^3$ a
Feira N	$1,0 \times 10^3$ a	$2,5 \times 10^2$ a
Feira O	$8,6 \times 10^4$ a	$4,6 \times 10^5$ a
Feira P	$6,0 \times 10^2$ a	$6,1 \times 10^3$ a
Feira Q	$2,8 \times 10^2$ a	$4,9 \times 10^5$ a
Quadrante IV		
Feira R	$2,3 \times 10^7$ a	$9,4 \times 10^2$ a
Feira S	$3,1 \times 10^3$ a	$3,0 \times 10^3$ a
Feira T	$1,9 \times 10^3$ a	$1,0 \times 10^1$ a
Feira U	$7,2 \times 10^4$ a	$1,4 \times 10^2$ a
Entre Quadrantes		
Quadrante I	$6,3 \times 10^4$ a	$1,8 \times 10^5$ a
Quadrante II	$9,3 \times 10^4$ a	$1,3 \times 10^3$ b
Quadrante III	$3,8 \times 10^3$ a	$1,3 \times 10^4$ ab
Quadrante IV	$5,6 \times 10^4$ a	$2,5 \times 10^2$ b

Obs: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si (teste t para múltiplas médias, $p < 0,05$).

Observa-se na Tabela 2, que não há diferença significativa ($P > 0,05$) na comparação entre queijos Minas frescal entre os quatro quadrantes. A maior contaminação por *Staphylococcus* coagulase positivo para o queijo Minas frescal foi apresentada pelo Quadrante II, com média de $9,3 \times 10^4$ UFC/g. Por outro lado o queijo Minas padrão apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os quadrantes sendo os quadrantes I e III os mais contaminados, com médias de $1,8 \times 10^5$ UFC/g e $1,3 \times 10^4$ UFC/g, respectivamente e o quadrante I o único a diferir dos demais.

Comparando-se os valores médios de cada quadrante para os diferentes queijos, observa-se que os queijos Minas padrão apresentaram contagens superiores aos queijos Minas frescal, nos quadrantes I e III.

Os valores de tolerância para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo em queijos expostos à comercialização, podem variar de acordo com o teor de umidade dos queijos. Para queijos de muito alta umidade, característica

no qual se enquadra o queijo Minas frescal, os valores de tolerância são de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Já para os queijos de alta umidade, dentre eles, o queijo Minas padrão, os valores de tolerância para contagem de *Staphylococcus* coagulase positivo são de 10^3 UFC/g²¹.

Ao analisar as contagens médias obtidas no quadrante I (Tabela 1), observa-se que apenas 20% dos queijos frescos apresentavam contagens inferiores aos valores de tolerância, sendo estes produtos adquiridos em uma mesma feira (Feira E). Dentre os queijos Minas padrão, todos estão em desacordo com as normas estabelecidas pela legislação nacional²¹.

No quadrante II (Tabela 2), 16,6% dos valores médios das contagens obtidas para os queijos Minas frescal se encontravam em acordo com os padrões estabelecidos e 50% das contagens médias para os queijos Minas padrão foram considerados aceitáveis para o consumo em relação às contagens de *Staphylococcus* coagulase positivo.

Tabela 2. Análise de Variância para a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (UFC/g) em queijo Minas frescal e padrão colhidos em feiras-livres na cidade de Goiânia-GO em cada um dos quadrantes e entre quadrantes.

FV	GL	Quadrado Médio Minas frescal	Minas padrão
Quadrante 1			
Feiras	4	9,3801**	3,9913
Resíduo	5	0,1944	2,0660
CV		4,1067	26,81
X _G		$6,3 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$
Quadrante 2			
Feiras	5	3,5407	3,6166
Resíduo	6	1,4563	6,9648
CV		25,0811	84,0423
X _G		$9,3 \times 10^4$	$1,3 \times 10^3$
Quadrante 3			
Feiras	5	1,4199	3,3252
Resíduo	6	4,3394	8,6204
CV		59,2738	70,8076
X _G		$3,8 \times 10^3$	$1,3 \times 10^4$
Quadrante 4			
Feiras	3	6,9347	2,3907
Resíduo	4	6,1069	5,7991
CV		51,9144	99,7041
X _G		$5,6 \times 10^4$	$2,5 \times 10^2$

FV: Fonte de variação; GL: Grau de liberdade; CV: Coeficiente de variação; X_G: Média geral de todas as observações; * e **: Significativos a 5% e 1% respectivamente.

No quadrante III, tanto para o queijo Minas frescal quanto para o Minas padrão, 16,6% dos valores médios obtidos das amostras analisadas estavam de acordo com o padrão estabelecido pela legislação.

No quadrante IV foram encontrados os melhores resultados para queijos Minas padrão (Tabela 1). Dos valores médios referentes aos queijos Minas frescal colhidos neste quadrante, 100% foram consideradas inaceitáveis para o consumo. Para os queijos Minas padrão, a porcentagem de produtos aceitáveis para o consumo foi de 75%.

A partir de uma observação global, observou-se que 100% dos valores médios para os queijos Minas frescal colhidos para este estudo apresentaram contagens de *Staphylococcus coagulase* positivo superiores aos limites estabelecidos pela ANVISA²¹. Apenas 25% dos valores médios relacionados aos queijos Minas padrão foram considerados aceitáveis para o consumo.

A comparação destes resultados com estudos realizados em outros estados brasileiros permitiu observar que os queijos Minas frescal comercializados em Poços de Caldas - MG²² e Campo Grande - MS² apresentavam melhor qualidade microbiológica quanto à presença de *Staphylococcus aureus*, pois 50% e 70% das amostras, respectivamente, apresentaram contagem acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/g. Da mesma forma, os queijos Minas frescal comercializados em Campo Grande - MT apresentavam melhor qualidade microbiológica relacionada à presença deste patógeno, pois 96,67% das amostras apresentaram contagem acima de $1,0 \times 10^3$ UFC/g²³.

Os queijos Minas frescal e padrão comercializados em feiras-livres da capital goiana apresentaram elevadas contagens de *Staphylococcus coagulase* positivo e seu consumo pode representar um perigo para o consumidor.

REFERÊNCIAS

1. Kosikowski F. Cheese and Fermented Milk Foods, Ed. 2. Michigan: Edwards Brothers, Inc, 700p. 1982.
2. Câmara SAV, Amaral GB, Muller MT, Silveira KCS, Almeida TN, Medeiro CF Avaliação microbiológica de queijos tipo Minas frescal artesanal, comercializados no mercado municipal de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2000. Hig Aliment 2002; 16 (101): 32-6.
3. Macedo MA, Albuquerque LC. Queijos no Mundo, volume V: Sistema Integrado de Qualidade, Marketing – Uma Ferramenta Competitiva. Juiz de Fora: Templo Gráfica e Editora, 2003.
4. Wilkinson J. Estudo da competitividade da indústria brasileira: competitividade da indústria de laticínios. Campinas, MCT/FINEP/PADCT, 1993. [acesso em 15Dec 2006] Disponível em: <http://www.mct.gov.br/publi/Compet/Default.htm>.
5. Pinto PSA, Germano MIS, Germano PML. Qualidade do Queijo. In: Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos, 2nd ed. São Paulo: Editora Varela; 2003. p. 111-23.
6. Brasil. Resolução Mercosul/GMC/RES.Nº145/96 de 13 de dezembro de 1996. Regulamento Técnico MERCOSUL de Identidade e Qualidade de Queijo Minas frescal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 1996 [acesso em 20 Nov 2005] Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/doconsultaLei?op=viewTextual&codigo=5774>.
7. Brasil. Instrução Normativa nº 4, de 1 de março de 2004. Inclui o termo “Muito” na expressão “Alto Umidade” nos itens 2.2 (Classificação), 4.2.3 (Requisitos Físico-Químicos) e 5.1 (Aditivos), no Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade do Queijo Minas do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2004 [acesso 2005 Nov 20] Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/consultasislegis/doconsultaLei?op=viewTextual&codigo=5974>.
8. Furtado MM. Quesos Típicos de Latinoamérica, 1st ed. São Paulo (SP): Fonte Comunicação e Editora; 2005.
9. Bressan MC. Apostila - Legislação de Alimentos de Origem Animal, Lavras (MG): UFLA/FAEPE; 2002.
10. Holt JG, Krieg NR, Sneath JT, Staley JT, Williams ST. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Baltimore: Willians&Wilkins; 1994.
11. Franco BDGM, Landgraf M. Microbiologia de Alimentos. São Paulo: Atheneu; 2004.
12. Jay JJ, Microbiologia de Alimentos. Porto Alegre: Artmed; 2005.
13. Vanzo SP, Azevedo RVP. Detecção de *S.aureus* em Manipuladores de Alimentos – Perfil de Resistência a Antibióticos e Quimioterápicos. Hig Aliment 2003, 17 (104/105): 114-23.
14. Germano PML, Germano MIS. Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos. São Paulo: Varela, 2003.
15. Genigeorgis CA. Present state of knowledge on *Staphylococcus* intoxication. Int J Food Microbiol 1989; 9: 327-60.
16. Almeida PMP, Franco RM. Avaliação Bacteriológica de Queijo Tipo Minas Frescal com Pesquisa de Patógenos Importantes à Saúde Pública: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp e Coliformes Fecais. Hig Aliment 2003; 17 (111): 79-85.
17. Brasil. Instituto Nacional de Meteorologia. Gráficos Climatológicos/Temperatura média/ 1661-1990. [acesso em 22 Out 2007] Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/html/clima/graficos/index4.html>
18. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos. 2nd ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001.
19. Brasil. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura,

- Pecuária e Abastecimento. Métodos analíticos oficiais para controle de produtos de origem animal e água. 2003 [acesso em 31 Nov 2005] Disponível em:<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis-consulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=2851>.
20. Brasil. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Aprova o Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. 2001 [acesso 2005 Nov 20] Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>.
21. Centeno AJ. Curso de estatística aplicada à biologia. Goiânia: CEGRAF, 186p. 1990.
22. Almeida Filho ES, Nader Filho A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo “frescal”. Rev Saúde Pública 2003; 34(6): 578-80.
23. Loguercio, AP, Aleixo JAG. Microbiologia de Queijo Tipo Minas frescal Produzido Artesanalmente. Ciência Rural, 2001; 31(6):1063-67.