

**Avaliação da qualidade higiênico sanitária dos locais  
de venda e de amostras de queijo Minas meia cura,  
comercializado na cidade de São Paulo.**

**Suzete Contrera de Moura Pedro**

Dissertação apresentada ao Departamento de Prática  
de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da  
Universidade de São Paulo para obtenção do título de  
Mestre.

Área de concentração: Serviços de Saúde Pública.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Helena Matté.

São Paulo

2003



Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos,  
a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores.

Assinatura: *Suzete CM Pedro*

Data: 23/4/03

43 600 / 2003 cg

Ao meu marido, amigo e companheiro Cláudio e  
filhos queridos Felipe e Frederico, meus grandes  
amores, por todo o estímulo, apoio e carinho.

À Profa. Dra. Maria Helena Matté pela orientação  
prestada, incentivo, amizade e confiança.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao nosso Grande Mestre.

Ao Cláudio, Felipe e Frederico.

Aos meus pais e familiares.

À Profa. Dra. Maria Helena Matté e família.

À Profa. Dra. Lúcia Baldassi.

Ao Prof. Dr. Pedro Manuel Leal Germano.

Ao Prof. Dr. Glavur Rogério Matté.

À Profa. Dra. Nicolina Silvana Romano-Lieber.

À Profa. Dra. Simone de Carvalho Balian.

À Profa. Dra. Maria Cecília Focesi Pelicionè e Prof. Américo Pelicione.

Às amigas do Laboratório de Saúde Pública da Faculdade.

Aos professores do Departamento de Prática de Saúde Pública.

Aos funcionários do Departamento de Prática de Saúde Pública.

## RESUMO

Pedro SCM. **Avaliação da qualidade higiênico sanitária dos locais de venda e de amostras de queijo Minas meia cura, comercializado na cidade de São Paulo.**

São Paulo; 2003 [Dissertação de mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].

O queijo Minas meia cura é um produto de fácil fabricação, que pode ser produzido tanto no local de extração do leite, como no laticínio com maior controle sanitário. É um produto de boa aceitação pelos consumidores, sendo vendido nos estabelecimentos comerciais, entre eles os mercados municipais e nas ruas por ambulantes e feirantes. O objetivo deste estudo foi o de avaliar os locais de venda e a qualidade microbiológica de 60 amostras de queijo Minas meia cura comercializado por ambulantes, nas feiras livres e nos mercados municipais da cidade de São Paulo. Os resultados indicaram que a contagem de microrganismos: mesófilos e bolores/leveduras é semelhante para os três pontos de venda e a contagem dos psicrófilos foi maior nas amostras das feiras livres. Os locais de venda com melhor avaliação foram os mercados municipais. Do total de amostras estavam em desacordo com a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária 12 de 02 de janeiro de 2001, 26,7% para a presença de *Staphylococcus aureus* e 73,3% para coliformes fecais.

**Descritores:** Queijo. Ambulantes, feira livre, mercado municipal. Saúde Pública.

Vigilância Sanitária de Alimentos.

## SUMMARY

**Pedro SCM. Evaluation of the sanitary quality of commercial point and samples of Minas cheese half cured, commercialized at the city of São Paulo. São Paulo; 2003 [Dissertação de mestrado – Faculdade de Saúde Pública da USP].**

The Minas cheese half cured is a product of easy production that can be made at the ranch of milk extraction, as well as at the dairy plant with better controlled sanitary conditions. It is a product of good acceptance by consumers, and sold at different commercial establishments such as local markets, street markets and by street vendors. The objective of this study was to evaluate the sales point and the microbiologic quality of 60 samples of half cured Minas cheese sold by street vendors, street markets and at local markets of the city of São Paulo. The results indicated that counts of mesophylic microorganisms and molds/yeasts were similar for the three sale points, while counts of psychrophylic organisms were higher for samples from the street markets. The commercial point with better condition evaluated were the local markets. From the total of samples, 26,7% were in disagreement with the Resolução da Diretoria Colegiada 12 de 02 de Janeiro de 2001 from Health Ministry - Brazil, for *Staphylococcus aureus* counts, and 73,3% for fecal coliform counts.

**Descriptors:** Cheese. Street vendors, street market, local market. Public health, Sanitary surveillance.



# ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO   | 1  |
| 1.1. Aspectos gerais dos indicadores microbiológicos              | 5  |
| 1.2. Saúde Pública  | 10 |
| 1.3. Locais de Venda  | 13 |
| 1.4. Pesquisas  | 14 |
| 2. OBJETIVOS  | 22 |
| 2.1. Objetivo geral   | 22 |
| 2.2. Objetivos específicos  | 22 |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS   | 23 |
| 3.1. Amostragem   | 23 |
| 3.2. Pontuação dos locais de venda                                | 25 |
| 3.3. Obtenção da temperatura                                      | 26 |
| 3.4. Preço  | 26 |
| 3.5. Análise microbiológica                                       | 26 |
| 3.5.1. Coliformes   | 27 |
| 3.5.2. <i>Staphylococcus aureus</i>                               | 27 |
| 3.5.3. Contagem geral de outros organismos indicadores de higiene | 28 |
| 3.5.4. Análise estatística  | 28 |

|   |    |
|---|----|
| 3.5.5. Legislação   | 29 |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO                                 | 30 |
| 4.1. Pontuação dos locais de venda                        | 30 |
| 4.2. Temperatura da amostra                               | 39 |
| 4.3. Preço de comercialização do queijo                   | 41 |
| 4.4. Pesquisa de coliformes                               | 43 |
| 4.4.1. NMP de coliforme fecal/ g de queijo                | 43 |
| 4.4.2. Pesquisa de <i>E. coli</i>                         | 47 |
| 4.4.3. Sorologia de <i>E. coli</i>                        | 48 |
| 4.5. <i>S. aureus</i>                                     | 49 |
| 4.6. Pesquisa de outros organismos indicadores de higiene | 52 |
| 4.6.1. Contagem de mesófilos                              | 52 |
| 4.6.2. Contagem de psicrófilos                            | 54 |
| 4.6.3. Contagem de bolores e leveduras                    | 56 |
| 5. CONCLUSÕES   | 60 |
| 6. REFERÊNCIAS  | 61 |



## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** Mapa do município de São Paulo, divisão por regiões e por bairros que pertencem à pesquisa . 24
- FIGURA 2.** Pontuação dos locais de venda das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002. 31
- FIGURA 3.** Box de mercado municipal. Exposição dos produtos ao meio ambiente sem proteção, falta de refrigeração e aproximação dos produtos como queijos, embutidos, latas, vidros e conservas (contaminação cruzada). São Paulo, 2001-2002. 33
- FIGURA 4.** Box de mercado municipal. Presença de balcão refrigerado e os produtos ficam expostos ao meio ambiente sem refrigeração. São Paulo, 2001-2002. 34
- FIGURA 5.** Ambulante. Falta de uniforme e de higiene do local, produto fora de refrigeração e de origem desconhecida, falta de disponibilidade de água. São Paulo, 2001-2002. 35
- FIGURA 6.** Ambulante. Falta de disponibilidade de água, exposição ao meio ambiente, falta de refrigeração, falta de uniforme. São Paulo, 2001-2002. 35
- FIGURA 7.** Ambulante. Falta de disponibilidade de água, exposição ao meio ambiente, falta de refrigeração. São Paulo, 2001-2002. 36
- FIGURA 8.** Feira livre. Falta de disponibilidade de água, exposição ao meio ambiente, falta de refrigeração, aproximação de produtos com embalagem e sem embalagem, falta de higiene do local. São Paulo, 2001-2002. 36
- FIGURA 9.** Feira livre. Falta de uniforme, produtos fracionados, de origem desconhecida, falta de refrigeração e expostos ao meio ambiente. São Paulo, 2001-2002. 37
- FIGURA 10.** Feira livre. Falta de disponibilidade de água, produto fora de refrigeração e exposto ao meio ambiente. São Paulo, 2001-2002. 37
- FIGURA 11.** Temperatura das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002. 39

|  |    |
|--|----|
| <b>FIGURA 12.</b> Preço/ kg de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.  | 42 |
| <b>FIGURA 13.</b> NMP de coliforme fecal/ g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.                                      | 44 |
| <b>FIGURA 14.</b> NMP de coliforme fecal/ g de queijo Minas meia cura nas amostras totais, comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.                 | 45 |
| <b>FIGURA 15.</b> Pesquisa de <i>E. coli</i> nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.                        | 47 |
| <b>FIGURA 16.</b> Contagem de ufc de <i>S. aureus</i> coagulase positiva/ g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.      | 50 |
| <b>FIGURA 17.</b> Contagem de ufc de mesófilos /g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.                                | 53 |
| <b>FIGURA 18.</b> Contagem de ufc de psicrófilos /g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.                              | 55 |
| <b>FIGURA 19.</b> Contagem de ufc de bolores e leveduras /g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.                      | 56 |
| <b>FIGURA 20.</b> Locais de venda das amostras de queijo Minas meia cura, segundo os parâmetros em desacordo com a legislação vigente. São Paulo, 2001-2002. | 59 |

## ANEXOS

- Anexo 1.** Esquema geral de preparação das diluições da amostra de queijo para análise microbiológica . A1
- Anexo 2.** Esquema de análise de coliformes a 45°C e *E. coli* pelo método do número mais provável. A2
- Anexo 3.** Provas da série bioquímica para *E. coli*. A3
- Anexo 4.** Esquema de análise para contagem de *S. aureus* em alimentos por plaqueamento direto. A4
- Anexo 5.** Provas da série bioquímica para o *S. aureus*. A5
- Anexo 6.** Esquema de análise para contagem de microrganismos mesófilos, psicrófilos e bolores / leveduras. A6
- Anexo 7. TABELA 1.** Pontuação dos locais de venda das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A7
- Anexo 8. TABELA 2.** Temperatura das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A8
- Anexo 9. TABELA 3.** Preço/ kg das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A9
- Anexo 10. TABELA 4.** NMP de coliformes a 45°C/ g de queijo nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A10
- Anexo 11. TABELA 5.** Pesquisa de *E. coli* detectada nos testes bioquímicos IMVC (Indol, Vermelho de Metila – Voges Proskauer, Citrato de Simmons) nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São

Paulo, 2001 – 2002. A11

**Anexo 12. TABELA 6.** Contagem de ufc de *S. aureus* coagulase positiva/ g de queijo nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A12

**Anexo 13. TABELA 7.** Contagem de mesófilos nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A13

**Anexo 14. TABELA 8.** Contagem de psicrófilos nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A14

**Anexo 15. TABELA 9.** Contagem de bolores e leveduras nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002. A15

## 1. INTRODUÇÃO

O leite é o primeiro alimento dos mamíferos, é tido como alimento saudável e essencial nas diversas fases de crescimento, dele se originam vários subprodutos, sendo o queijo o mais apreciado.

É um alimento importante em saúde pública pela sua qualidade intrínseca, pelo risco de servir como veiculador de microrganismos patogênicos ou ainda por ser alvo de fraudes durante o processamento, fatores estes que podem torná-lo prejudicial à saúde do consumidor. A sua ingestão e de seus derivados sem tratamento prévio (pasteurização), expõe a população ao risco de doenças como tuberculose e brucelose. Por isso deve ocorrer o controle higiênico-sanitário dos rebanhos e da ordenha, a refrigeração pós ordenha e no transporte, a avaliação do leite *in natura* e a pasteurização assegurando desta forma a distribuição de um produto isento de riscos à população, o mesmo se aplicando a todos os seus derivados (GERMANO e GERMANO 2001, VIEIRA e col. 2001).

Mesmo que a contaminação inicial seja pequena esta quantidade pode vir a ser muito elevada, devido ao rico substrato que favorece a sobrevivência e multiplicação bacteriana. Estes agentes podem ser provenientes do próprio animal ou carreados durante a manipulação, e mesmo após a pasteurização (CASTRO 1995; PINTO e col. 1996).

As bactérias se multiplicam nesses produtos quando são mantidos fora de refrigeração, o que justifica o fato de ser a intoxicação alimentar mais freqüente no verão do que no inverno (HOBBS e ROBERTS 1996).

O queijo Minas meia cura é um produto de fácil elaboração e sua fabricação ocorre, muitas vezes, na propriedade onde é realizada a ordenha, em precárias condições de higiene. É de paladar agradável e preço acessível, fatores que favorecem a boa aceitação pelos consumidores (PINTO e col. 1996).

Na literatura não há muitas pesquisas realizadas com o queijo Minas meia cura, a grande maioria é realizada com o queijo Minas frescal, são oriundos da mesma massa, porém o primeiro permanece mais tempo em processo de maturação, muitas vezes exposto ao meio ambiente.

É cultural crer que o melhor queijo Minas é o de fabricação artesanal, ocorrendo a falsa idéia de que seria um produto mais natural e saudável e este é o principal argumento utilizado pelo vendedor para a sua comercialização.

Na cidade de São Paulo, o queijo Minas meia cura é normalmente vendido nas ruas, por ambulantes e feirantes e nos mercados municipais, as condições são diversas: exposto ao meio ambiente em contato com a poluição; manipulado pelos vários consumidores; fracionados; acondicionados de forma inadequada; sem refrigeração e outros fatores que podem interferir na qualidade e segurança do produto.

Os microrganismos são componentes essenciais para a fabricação dos queijos, são divididos em biota principal e biota secundária. A biota principal responsável pela acidez, é composta pelos gêneros *Lactococcus* spp, *Lactobacillus* spp e *Streptococcus* spp e dependendo do tipo de queijo podem ser utilizadas várias combinações. A biota secundária desenvolve textura e sabor e é composta por misturas de bactérias e fungos de acordo com a variedade de queijo (BERESFORD e col. 2001).

Todas as etapas de fabricação do queijo devem obedecer a normas operacionais pré-estabelecidas, desde a recepção do leite utilizado como matéria prima até o produto final, de modo a impedir que falhas técnicas ou negligência propiciem a contaminação do produto ou alterações em sua composição normal. A contaminação microbiana de queijos assume destacada relevância pois pode acarretar alterações de sabor, odor e aparência nos produtos, bem como pela veiculação de agentes de toxinfecções alimentares. As bactérias do grupo coliforme são consideradas como os principais agentes contaminantes associados à deterioração de queijos, causando fermentações anormais e estufagem precoce dos produtos. A contagem destes microrganismos, sobretudo os de origem fecal, indica as condições de higiene em que os queijos foram processados (OLIVEIRA e col. 1998).

De acordo com o artigo 598 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, “queijo é o produto fresco ou maturado que se obtém por separação parcial do soro do leite ou leite reconstituído (integral, parcial ou totalmente desnatado) ou de soros lácteos, coagulados pela ação física do coalho, enzimas específicas de bactérias específicas, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para consumo alimentar, com ou sem agregação de substâncias alimentícias e/ ou especiarias e condimentos, aditivos especificamente indicados, substâncias aromatizantes e matérias corantes. O queijo fresco esta pronto para consumo após sua fabricação. O queijo maturado sofre trocas bioquímicas e físicas necessárias e características da variedade do queijo. Os queijos são produtos com base láctea que não contêm gordura e ou proteína de origem não láctea.”

O queijo Minas, de acordo com o artigo 614 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, “é o produto obtido de leite

integral ou padronizado, pasteurizado, de massa crua, prensado mecanicamente e devidamente maturado durante vinte dias, apresenta formato cilíndrico de faces planas, bordas retas, formando ângulo vivo, peso de um a um quilo e duzentos gramas, crosta fina amarelada preferentemente revestida de parafina, consistência semi dura tendente a macia de textura cremosa, buracos mecânicos e em cabeça de alfinete pouco numerosos, cor branco creme homogênea, odor e sabor próprios ácidos agradáveis e não picantes.”

O Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal, determina que só é permitida a fabricação de queijo fresco e mole a partir de leite pasteurizado, já que o leite cru constitui importante via de transmissão para inúmeros agentes etiológicos de enfermidades dentre os quais pode ser destacada a bactéria *Escherichia coli* (PINTO e col. 1996).

Apesar da proibição legal imposta à comercialização de queijos frescos e moles, elaborados a partir de leite cru no Brasil, a comercialização de queijo Minas produzido artesanalmente tem sido realizada abertamente em nosso meio, especialmente nos Estados de Minas Gerais e São Paulo (ALMEIDA FILHO e NADER FILHO 2000).

De acordo com a Resolução 7 de 28 de novembro de 2000, do Ministério da Agricultura e Abastecimento, que oficializa e normatiza os critérios de funcionamento e controle da Produção de Queijarias para seu relacionamento junto ao Serviço de Inspeção Federal, o queijo Minas pode ser produzido na propriedade leiteira, e conforme o item 5.4 pode ser fabricado a partir de leite cru conforme determinado na Portaria 146/ 96 do Ministério da Agricultura de 7 de março de 1996



(Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos), desde que comercializado após 60 dias de cura e ou maturação em temperatura inferior a 5°C.

### 1.1. Aspectos gerais dos indicadores microbiológicos

A maioria dos alimentos contém nutrientes suficientes para sustentar a multiplicação microbiana. Vários fatores favorecem, previnem, ou limitam o crescimento de microrganismos nos alimentos, sendo os mais importantes:  $a_w$  (atividade de água ou disponibilidade de água), pH (concentração de íons hidrogênio) e temperatura. Igualmente relevante é a relação entre os diversos fatores, isto é, sinérgismo ou antagonismo, o que determinará o crescimento das bactérias. Por exemplo, a  $a_w$  de um alimento pode afetar a habilidade do calor em eliminar uma bactéria. Os valores ótimos para multiplicação de cepas de *Staphylococcus aureus* variam de 7 a 45°C de temperatura, de 4,2 a 9,3 de pH, e  $a_w > 0,86$ ; para o crescimento da *Escherichia coli* a temperatura pode variar de 2,5 a 45°C, pH de 4,6 a 9,5 e  $a_w > 0,935$  (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001).

Atividade de água ou disponibilidade de água ( $a_w$ ) de um alimento é definida como sendo as moléculas livres de água que podem se misturar a outras substâncias (solutos) competindo com a célula microbiana. Com exceção do *S. aureus* as bactérias, ao contrário dos fungos são pouco competidoras em relação à  $a_w$ .

Nos valores baixos de  $a_w$  os microrganismos não se multiplicam, mas podem permanecer latentes e virulentas, podendo ser revitalizadas após hidratação (HOBBS e ROBERTS 1996). A  $a_w$  de um alimento pode mudar com o passar do tempo e pode

variar entre alimentos semelhantes de fontes diversas (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001).

Os microrganismos se desenvolvem em temperaturas que variam de 2 até 70°C e são classificados de acordo com o intervalo de maior multiplicação (JAY 1997).

Organismos psicrófilos desenvolvem-se de 0 até 20°C, sendo ótima a temperatura de 15°C, podendo a temperatura ambiente, 25°C, ser letal para o grupo. Nos alimentos são encontrados os gêneros: *Achromobacter* spp, *Pseudomonas* spp, *Salmonella* spp, *Clostridium* spp, *Corynebacterium* spp, *Micrococcus* spp, *Proteus* spp, *Streptococcus* spp e algumas cepas de *Escherichia* sp, espécies de *Aspergillus* sp e de *Cladosporidium* sp (JAY 1997, SANTANA e col. 2001).

Organismos mesófilos multiplicam-se no intervalo médio de 30 a 45°C, compõem o grupo que contém o maior número de microrganismos patogênicos, bactérias, bolores e leveduras (JAY 1997). A sua contagem visa pesquisar os contaminantes que são provenientes do meio ambiente, indica a qualidade da matéria prima utilizada, a limpeza e desinfecção de superfícies usadas no processamento e como foi realizada a conservação. A temperatura de armazenamento do leite após a ordenha é o principal fator determinante da taxa de crescimento bacteriano no leite não refrigerado, sendo predominantes os mesófilos que provocam a acidificação do leite pelo acúmulo de ácido láctico, resultante da fermentação da lactose (DIAZ e col. 1995; SANTOS e FONSECA 2001).

Os microrganismos patogênicos multiplicam-se entre 15 e 45°C e melhor na temperatura corpórea de 37°C (exceto *Clostridium perfringens*, que se multiplica em até 47°C). As bactérias não esporuladas morrem em temperaturas acima de 60°C, no

tempo de 10 a 30 minutos, por isso para o leite ser inócuo deve ser pasteurizado em temperaturas entre 62,8°C – 65,6°C por 30 minutos, 71,7°C por 15 segundos ou 132°C por 1 segundo (tratamento térmico ultra-alto). O frio intenso não elimina as bactérias, porém evita que se multipliquem, os refrigeradores retardam a sua multiplicação e portanto as alterações dos alimentos (HOBBS e ROBERTS 1996).

Estudos laboratoriais demonstraram que em condições ótimas, a multiplicação bacteriana ocorre ao final de cada vinte minutos, sendo que decorridas 5 horas, a partir de uma bactéria poderão resultar 32768 bactérias. O intervalo mais crítico de temperatura para um alimento é de 37,7 a 40°C, no qual ocorre rápida multiplicação bacteriana, o que indica o perigo que pode representar um alimento quando conservado de forma inadequada (JAY 1997).

Os microrganismos se diferenciam na capacidade de multiplicação em diferentes faixas de pH, ocorrendo preferivelmente em valores de pH entre 4,5 e 8,0 (JAY 1997).

Há um pH ótimo para a multiplicação de cada microrganismo no qual esse crescimento é máximo, havendo mudança em qualquer direção, também haverá mudança na velocidade do crescimento microbiano. As alterações de pH em um determinado alimento, com o passar do tempo, podem refletir sua biota microbiana, um alimento pode apresentar um pH inicial que impeça o crescimento bacteriano, mas como resultado do metabolismo de outros organismos contaminantes, como por exemplo bolores e leveduras, as alterações de pH podem ocorrer favorecendo o crescimento de bactérias (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001).

A contagem de bolores e leveduras apresenta grande interesse na previsão da conservação de produtos. A presença de fungos indica que ocorreu um

processamento deficiente e avalia a qualidade da matéria prima. Sua pesquisa pode sugerir a presença de micotoxinas que são prejudiciais à saúde (DIAZ e col. 1995; KONEMAN e col. 1997).

Bactérias do grupo coliformes, habitualmente utilizadas como indicadores de contaminação, pertencem à família *Enterobacteriaceae* compreendendo bastonetes Gram negativos, não esporulados, anaeróbios facultativos, capazes de fermentar a lactose com produção de gás, tendo como habitat o intestino normal ou patológico do homem. Inclui os gêneros *Escherichia* spp, *Enterobacter* spp e *Klebsiella* spp. A presença de *Escherichia coli* é utilizada como índice higiênico sanitário, indicando a higiene e a incidência de contato direto ou indireto dos alimentos com matéria fecal. A presença de coliforme de origem fecal em alimentos indica também a possibilidade da presença de outras bactérias patogênicas entéricas como a *Salmonella* spp, *Shigella* spp entre outras. Vários autores sugerem a utilização de *Escherichia coli* como microrganismo indicador visto que os gêneros *Klebsiella* e *Enterobacter* podem ser isolados em ambientes não associados com contaminação fecal (SIQUEIRA 1995; ALMEIDA e col. 1996; DAVIS e col. 1996; ADAMS e MOSS 1997; KONEMAN e col. 1997; FORBES e col. 1998; TORTORA e col. 2002).

Embora a *E. coli* faça parte da biota intestinal humana, do intestino grosso (GERMANO e GERMANO 2001), alguns organismos desta espécie podem ser patogênicos para o homem. Baseados nas características e efeitos das doenças causadas por *E. coli* foram observados cinco grupos de virulência para esse organismo: enterotoxigênica (ETEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatogênica

(EPEC), enterohemorrágica (EHEC) e enteroagregativa (EAEC) (JAY 1997; DOYLE e col. 1997; FORBES e col. 1998; TORTORA e col. 2002).

*Staphylococcus aureus* pertence à família *Micrococcaceae*, que inclui 31 espécies sendo cerca de 20 delas de potencial interesse em alimentos. São cocos Gram positivos, imóveis, agrupados em massas irregulares ou em cachos de uva. Anaeróbios facultativos, fermentam a glicose com produção de ácido, tanto em aerobiose, como em anaerobiose e nisso se diferenciam dos microrganismos do gênero *Micrococcus* que só fermentam em aerobiose. A pele das mãos e mucosa nasal albergam freqüentemente o *S. aureus*. Podem ser encontrados no solo, água, ar, sobrevivendo por longos períodos em objetos inanimados secos, são resistentes ao calor e altas concentrações salinas e lipídicas. (SIQUEIRA 1995; FEHLHABER e JANETSCHKE 1995; ALMEIDA e col. 1996; DAVIS e col. 1996; ADAMS e MOSS 1997; DOYLE e col. 1997; JAY 1997; KONEMAN e col. 1997; FORBES e col. 1998; TORTORA e col. 2002).

Alguns sorotipos produzem enterotoxinas, com características de resistência ao calor e de hidrossolubilidade, denominadas de A, B, C1, C2, C3, D, E e TST (toxic shock toxin), exceção à última relacionadas à intoxicação alimentar, sendo as mais freqüentes os tipos A e D. A toxina é pré-formada no alimento ocorrendo entre 10 e 46°C, com temperatura ótima de 40 a 45°C. A multiplicação do *S. aureus* e a conseqüente produção de toxinas depende também do tipo de substrato, atividade de água, concentração salina e pH. O melhor pH para crescimento dos organismos é entre 4,5 a 9,3, e para produção de toxina é próximo ao neutro. Quantidades superiores a  $10^4$  células de *S. aureus* por grama, podem produzir suficiente quantidade de enterotoxina para desencadear intoxicação, quando presentes em

alimentos produzidos e manipulados de forma inadequada, e armazenados em temperaturas acima de 28°C por 2 a 4 horas (SIQUEIRA 1995; FEHLHABER e JANETSCHKE 1995; ALMEIDA e col. 1996; DAVIS e col. 1996; ADAMS e MOSS 1997; DOYLE e col. 1997; JAY 1997; KONEMAN e col. 1997; FORBES e col. 1998; TORTORA e col. 2002). Este organismo é um dos maiores responsáveis por mastites variando sua prevalência de 7 a 40% nos rebanhos afetados; estima-se que 20 a 60 % da população humana, é portadora do agente (GERMANO e GERMANO 2001).

Bactérias do gênero *Staphylococcus* são facilmente destruídas pelo calor, porém sua toxina é mais resistente, pode seguir ativa após um breve aumento de temperatura só sendo destruída após ebulição por mais de 30 minutos (ALMEIDA e col. 1996; HOBBS e ROBERTS 1996).

Na década de 70, vários surtos de intoxicação estafilocócica foram associadas ao queijo, estimulando muitos estudos que indicaram como causa, a falta de tratamento térmico adequado do leite ou a contaminação após o aquecimento (JAY 1997).

## **1.2. Saúde Pública**

A Vigilância Sanitária é definida pela Lei Orgânica da Saúde (LF nº 8080/90) como um conjunto de ações capazes de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde abrangendo o controle de bens de consumo que direta ou indiretamente se

relacionem com a saúde, compreendidas todas as etapas e processos, da produção ao consumo e o controle da prestação de serviços que também se relacione direta ou indiretamente com a saúde. As ações de fiscalização são exclusivas do Estado e, portanto estão diretamente ligadas às políticas de saúde adotadas pelos Governos Federal, Estadual e Municipal (GERMANO e GERMANO 2001; VALENTE 2001).

O queijo Minas assume considerável importância em saúde pública, dadas as suas condições peculiares de produção, exigindo maior atenção por parte dos órgãos oficiais, principalmente no que concerne ao controle higiênico sanitário (CASTRO 1995; PINTO e col. 1996).

A gravidade das intoxicações alimentares é variável, dependendo da virulência do agente causal, da quantidade de toxina e da sensibilidade do indivíduo, isso explica o fato de que nem todos que ingerem o alimento ficam doentes. É necessário ingerir grandes quantidades do microrganismo e/ou toxina para causar a doença, pois estes deverão superar os mecanismos de defesa do organismo como o pH do suco gástrico, a gordura do alimento que protege o microrganismo do suco gástrico, a biota da mucosa intestinal, o muco entérico que funciona como bactericida, o movimento das franjas pilosas do epitélio intestinal, o peristaltismo intestinal, a descamação do epitélio mucoso e as células de defesa (fagócitos) (FEHLHABER e JANETSCHKE 1995; GERMANO e GERMANO 2001).

A intoxicação causada pelo *S. aureus* tem como características: vômitos, dor abdominal com cólicas e diarreia, dor de cabeça e contrações musculares 1 a 6 horas após a ingestão do alimento contaminado com a toxina. A recuperação ocorre de forma espontânea, 6 – 24 horas após. A suscetibilidade individual à toxina é um dos fatores que determinam os sintomas (ADAMS e MOSS 1995; ALMEIDA e col.

1996; HOBBS e ROBERTS 1996; DOYLE e col. 1997; JAY 1997; GERMANO e GERMANO 2001).

A *E. coli* patogênica promove quadros de gastroenterite em adultos conhecidos como diarreia dos viajantes e também diarreia infantil (ADAMS e MOSS 1995; ALMEIDA e col. 1996; HOBBS e ROBERTS 1996; DOYLE e col. 1997; JAY 1997; GERMANO e GERMANO 2001).

O alimento inócuo encontra-se isento de sujidades visíveis, de matérias químicas nocivas e de alterações bacterianas, estas podem ser incorporadas ao alimento antes (animais infectados), durante (manipulação) ou depois (conservação) do seu preparo. Para a produção de alimentos saudáveis, destacam-se quatro fatores:

1. Matéria prima: que seja garantida a sanidade inicial, dos produtos de origem animal crus antes de chegar à indústria alimentícia, ou restaurantes, cozinhas, cantinas e hotéis;
2. Manipulação: os manipuladores de alimentos devem receber orientações de higiene. (Pessoas com lesões cutâneas devem ser afastadas da manipulação);
3. Instalações e utensílios: a limpeza da cozinha ou do local de manipulação e dos equipamentos, deve ser observada;
4. Armazenamento e estocagem: os alimentos não devem ser expostos à temperatura ambiente, sendo a refrigeração importante para evitar a multiplicação bacteriana e a produção de toxina (HOBBS e ROBERTS 1996; SILVA JR 1999; GERMANO e GERMANO 2001).



### 1.3. Locais de venda

A prefeitura do município de São Paulo concede autorização para o exercício da atividade de comércio e prestação de serviço de ambulantes, em vias e logradouros públicos do município de São Paulo. Dos pontos destinados ao comércio de rua, dois terços são destinados às pessoas portadoras de deficiência física, aposentados por invalidez e pessoas com mais de 60 anos de idade (<http://www.prodiam.sp.gov.br>, 2001).

O governo do Estado de São Paulo normatiza o comércio ambulante por meio da resolução SS 142, de 03 de maio de 1993, publicada no DOE 103 (81).

PERRI e GOLOVATY (1998), descrevem que os vendedores ambulantes informais ocorrem onde o desemprego é alto, os salários são baixos e as oportunidades escassas. Não necessitam de capital inicial alto e nem pagam impostos, oferecem serviço rápido e preços baixos que são atrativos aos transeuntes.

O consumo de alimentos vendidos nas ruas é um hábito cultural muito disseminado. Nos últimos anos diversos fatores sócio-econômicos, tais como desemprego e queda do poder aquisitivo, impulsionaram o comércio nas vias públicas, e ainda não existe fiscalização para esta atividade (GERMANO e col. 2000).

As feiras livres funcionam no município de São Paulo, desde os meados do século XVII, haja vista a ocorrência de uma certa oficialização para venda, em 1687, de “gêneros da terra, hortaliça e peixe”, no Terreiro da Misericórdia. As feiras-livres são fortes fontes de empregos e escoamento da produção de hortifrutigranjeiros, além do tradicional comércio de pescados. Nos dias de hoje, existem aproximadamente

900 feiras livres semanais, as quais são realizadas de 3ª feira a domingo, no horário das 06:00 às 12:00 horas nos diversos bairros da capital paulista (AUDI 2002). Foram criadas para possibilitar a venda direta entre produtor e consumidor. Os problemas gerados pelo seu caráter ambulante se referem à disponibilidade de água, falta de proteção dos alimentos e disposição inadequada do lixo. Há a crença de que os alimentos comercializados são mais frescos (MENDONÇA e col. 2002).

A prefeitura do município de São Paulo administra 15 mercados municipais, os quais são responsáveis pelo suprimento de alimentos dentro do sistema de comercialização varejista e atacadista, para uma grande parcela da população paulistana (<http://www.prodam.sp.gov.br>, 2001).

Os mercados poderiam ser higienicamente melhores porque possuem boxes permanentes de alvenaria, cobertos, providos de abastecimento de água e esgoto, porém na prática observa-se uma estrutura desorganizada com higiene precária (MENDONÇA e col. 2002).

#### 1.4. Pesquisas

Várias pesquisas foram realizadas referentes à microbiologia de laticínios, como as que seguem:

A análise de 30 amostras de leite obtidas em cooperativas, do Rio de Janeiro, de fabricantes de queijo Minas, demonstrou contagens de mesófilos e psicrófilos acima de  $10^6$ ufc/ml respectivamente em 96,7% e 93,3% das amostras. Contagem de coliformes totais superiores a 2400nmp/ml em 53,3% delas, com *E. coli* em 70%, 20% das amostras apresentaram contagem de *S. aureus* maior que  $10^4$ ufc/ ml, em

desacordo com o padrão aceitável que é de  $10^3$  ufc/ml determinado pela Portaria 1 DINAL (Divisão Nacional de Alimentos) do Ministério da Saúde de 28 de janeiro de 1987. Estes resultados indicam a precária higiene na fabricação de queijos (CHIAPPINI e col. 1995).

REIBNITZ e TAVARES (1995), analisaram amostras de queijo colonial comercializadas em feiras livres de Blumenau (SC), para determinação da presença de *S. aureus* coagulase e DNase positivos. Das 20 amostras pesquisadas, 100% revelaram a presença deste organismo patogênico, sendo que, 95% destas apresentaram concentração microbiana em desacordo com os padrões recomendados pela Portaria 1 da Divisão Nacional de Alimentos do Ministério da Saúde de 28 de janeiro de 1987.

Foram analisadas em 1996, por ALMEIDA e col. 2433 amostras de alimentos coletados nas vias públicas em diversas cidades Latino Americanas, a bactéria mais encontrada foi o *S. aureus*, presente em 8,42% das amostras, indicando a importância da pesquisa desta bactéria nos alimentos.

MACEDO e col. (1996), estudaram as mudanças ocorridas na biota e nas características físico químicas no queijo da Serra durante as várias fases da lactação, as bactérias ácido lácticas eram os componentes principais da biota durante a maturação, nenhuma diferença estatisticamente significativa foi verificada entre a superfície e o interior do queijo. As bactérias dos gêneros *Enterococcus* e *Staphylococcus*, presentes no coalho, eram em número máximo durante a primeira semana e ainda estavam em números significantes no final do período de maturação, além de variarem estatisticamente com o período de lactação.

PEREIRA e col. (1996) investigaram um surto de toxinfecção alimentar que ocorreu envolvendo sete indivíduos de uma mesma família após a ingestão de um queijo produzido em Minas Gerais. Os autores observaram a presença de *S. aureus* ( $2,9 \times 10^8$  ufc/g) e por meio do método imunoenzimático ELISA (enzyme linked immunosorbent assay) identificaram a enterotoxina D.

SHAMANOVA (1998) relata os métodos de transmissão dos organismos patogênicos encontrados no leite comercializado na Rússia, comenta sobre a pasteurização inadequada, limpeza inadequada dos equipamentos utilizados no processo, contaminação dos produtos durante a fabricação, concluindo que os trabalhadores deveriam receber instruções de higiene e deveria haver um melhor controle do tratamento térmico do leite, para desta forma, obter um produto e subprodutos mais seguros.

Pela análise de 30 amostras de queijos Minas, de fabricação artesanal para a detecção de *S. aureus*, SABIONE e MAIA (1998), constataram que 21 (70%) apresentaram contagens acima de  $1,0 \times 10^6$  ufc/ g. Entretanto, nenhuma amostra apresentou atividade da enzima termonuclease. Portanto, a pesquisa da atividade de termonuclease em queijos Minas de fabricação artesanal em substituição à análise do *S. aureus*, não parece ser uma prática segura.

POURSHAFIE e col. (1998) estudaram casos de botulismo ocorridos na província do norte do Irã, de março a abril de 1997. Um total de 27 indivíduos foram afetados e 1 morreu. Toxina botulínica foi detectada no queijo, e colônias de *Clostridium botulinum* foram isoladas em amostras clínicas e de queijo. Este é o primeiro surto documentado de botulismo no Irã, devido ao consumo de queijo.

ELLIS e col. (1998) em Ontário / Canadá descreveram o caso notificado em setembro de 1994, a uma unidade de saúde pública relativo à ingestão de um queijo. Os laboratórios de saúde pública informaram um aumento no número de isolamentos de *Salmonella* spp de pacientes com diarreia. Ocorreu uma investigação clínica, ambiental e de laboratório para determinar a natureza do surto. O isolamento de *Salmonella* spp foi comparado usando eletroforese de campo pulsado (PFGE). Os isolados de pacientes, e amostras do queijo e de carcaças de galinha eram semelhantes, sugerindo que o queijo foi contaminado, por carcaças de galinha, durante a produção. Em outubro, tinham sido identificados 82 casos clínicos incluindo 35 confirmados, 44 suspeitos e 3 negativos. A investigação relacionou a doença a consumo de queijo produzido em uma fazenda e vendido aos mercados pelos fazendeiros. O surto descrito ilustra o papel da contaminação secundária na transmissão de organismos patogênicos.

ALTEKRUSE e col. (1998) identificaram os fatores que contribuíram para os surtos por ingestão de queijo que ocorreram de 1973 a 1992 nos Estados Unidos. Os surtos haviam sido um problema de saúde pública freqüente durante a primeira metade do século XX. De 32 surtos notificados e associados ao produto, 11 foram atribuídos a erros industriais, os quais foram responsáveis por doenças e hospitalizações incluindo 58 mortes. O uso do leite cru ou impropriamente pasteurizado ou contaminado após a pasteurização foi o fator mais importante relacionado. Em dois deles associados a *Salmonella* spp encontraram menos que 10 colônias por grama de queijo, dois outros a *Brucella* sp. O processo de cura inativa a maioria das bactérias presentes nesse produto lácteo, esta porém não pode ser utilizada como controle para eliminar os organismos patogênicos.

JURKIEWICZ (1999) estudou as bactérias probióticas que podem ser utilizadas na fabricação do queijo Minas frescal, e discorreu sobre os inúmeros benefícios que poderiam trazer à saúde, incluindo a redução da intolerância à lactose, tratamento e prevenção de diarréias e estímulo do sistema imune.

MIRÓ e SELGRAD (1999) avaliaram a qualidade microbiológica dos queijos brancos venezuelanos em um período de 10 anos, analisaram 512 amostras de várias origens: recebidas para registro, para controle e amostras suspeitas de ocasionarem surtos. Encontraram que 73,8% das amostras continham coliformes fecais, com valores superiores a 3,0 nmp/g, e fungos menor que 3,0 ufc/g. A prevalência de *Salmonella* spp foi de 2,1% e para *S. aureus* encontraram 73,8% com contagem menor ou igual a 3,0 ufc/g. Concluíram que 98,8% do total de amostras apresentaram resultados não satisfatórios para os parâmetros avaliados, revelando uma qualidade microbiológica deficiente e indicando que este alimento representa um risco aos consumidores.

PEREIRA e col. (1999) realizaram experimento com 100 amostras de queijo Minas e demonstraram que 52% apresentavam contaminação por coliformes totais e fecais em desacordo com o permitido pela Portaria 1 da Divisão Nacional de Alimentos do Ministério da Saúde de 28 de janeiro de 1987.

BELL e col. (1999) realizaram um trabalho educacional para reduzir a incidência de surtos de intoxicação por *S. Typhimurium* provenientes da ingestão de queijo fresco, fabricado com leite cru, comida tradicional na dieta hispânica. Foi desenvolvida uma receita de queijo fresco utilizando leite pasteurizado com sabor e textura aceitável pela comunidade hispânica. Voluntários hispânicos treinados elaboraram seminários sobre a fabricação do queijo que foram assistidos por mais de

225 pessoas. A aceitação dos participantes foi excelente e positiva, e as mudanças de comportamento mantidas por mais de 6 meses.

DE VALK e col. (2000) estudaram um surto ocorrido em 1997, na França, causado por *Salmonella* spp devido à ingestão de queijo de Morbier fabricado com leite não pasteurizado.

A refrigeração do leite previne o crescimento das bactérias mesófilas, porém permite o crescimento dos psicrotróficos tais como *Yersinia enterocolitica*, *L. monocytogenes* e *Bacillus cereus* (ASSUMPCÃO e col. 2001).

SILVA e col. (2001) analisaram três marcas de leite pasteurizado que apresentaram contagens bacterianas em desacordo com o padrão permitido pela Portaria 451 de 19 de setembro de 1997, Regulamento Técnico do Ministério da Saúde, Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária. Isolaram 208 cepas de *E. coli*, entre as quais 46 (22,1%) foram classificadas como sorogrupo enteropatogênico (EPEC). O sorogrupo mais freqüente foi o O55 (15,2%). Consideraram que o isolamento de sorogrupos de EPEC, nesse alimento, representou risco potencial para crianças e, também, possível meio de veiculação de outros organismos patogênicos.

PERESI e col. (2001) realizaram análise microbiológica em 30 amostras artesanais de queijo Minas frescal em feiras livres de São João do Rio Preto e 30 industriais coletadas em supermercados revelando que 23,3% das industriais e 76,7% das artesanais estavam em desacordo com a Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) 12 de 2 de janeiro de 2001 (RDC 12/ 2001), devido à presença de coliformes fecais e cepas de *Staphylococcus* coagulase positiva.

Em 2001, SILVA e col. observaram que 95,65% do queijo Minas frescal artesanal produzido em São José do Rio Preto e comercializado em feiras livres estavam em desacordo com os padrões da RDC 12/ 2001.

RABELO e col. (2001) analisaram 160 amostras de queijo Minas frescal no Estado de Goiás, revelando que 43% das amostras apresentaram contaminação por coliformes fecais e por *S. aureus* em desacordo com a RDC 12/ 2001.

A análise de 18 amostras de queijo Minas frescal de Cuiabá/ MT revelou que o artesanal é inferior em qualidade microbiológica em comparação com o industrial (ALMEIDA FILHO e col. 2001).

COIA e col. (2001), examinaram 2429 amostras de alimentos para a presença de *E. coli* O157 (ETEC O157) por meio de separação imunomagnética (IMS). Estas amostras incluíram carne crua do varejo (1190), leite cru de fazendas (500) e queijo do varejo produzido com leite cru (739), para todas as amostras os autores isolaram níveis altos de *E. coli* ETEC O157.

PINTO e col. (2001) analisaram amostras de queijo Minas que seriam utilizados na fabricação de pão de queijo, encontraram 93% das amostras em desacordo com a legislação RDC 12/ 2001.

No ano de 1973, ocorreu um surto por *E. coli* enteroinvasiva EIEC, nos Estados Unidos, devido à ingestão de queijo importado da França, a doença causada por EIEC é incomum além de poder ser confundida com a causada por *Shigella* spp e por isso sua prevalência pode ser subestimada. O Departamento de Saúde de Wisconsin, Estados Unidos, recebeu, em 1998, notificação de oito laboratórios confirmando a suspeita de infecções por *E. coli* O157:H7 ocorridas entre os



residentes, o surto ocorreu devido a ingestão de queijo (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001).

BENEVIDES e TELLES (2002), analisaram quarenta amostras de queijo tipo coalho comercializado em Fortaleza, encontraram, 80,56% para coliformes fecais e 44,44% para *S. aureus* das amostras em desacordo com a RDC 12/ 2001, 40% fora de refrigeração, 70% apresentavam sujidades e 40% não apresentavam embalagem.

HOFFMANN e col. (2002) encontraram 100% de dez amostras de queijo Minas frescal comercializado em feiras livres de São José do Rio Preto em desacordo com a RDC 12/ 2001.

Considerando-se a facilidade de fabricação de forma caseira do queijo Minas meia cura; a exposição ao meio ambiente durante a cura favorecendo as contaminações; as poucas pesquisas realizadas neste produto de alto valor nutritivo que possibilita o crescimento microbiano e os diferentes locais onde é comercializado, justifica-se a elaboração da pesquisa, visando avaliar a qualidade dos locais de venda e do produto oferecido ao consumidor.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliar a qualidade higiênico sanitária dos locais de venda e das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo.

### **2.2. Objetivos específicos**

2.2.1. Verificar a presença de organismos indicadores da qualidade microbiológica por meio da:

- a) contagem de coliformes fecais, pesquisa de *E. coli*;
- b) pesquisa e contagem de *S. aureus*;
- c) contagem geral de organismos mesófilos, psicrófilos, bolores/ leveduras.

2.2.2. Verificar a qualidade higiênico sanitária dos locais de venda do produto.

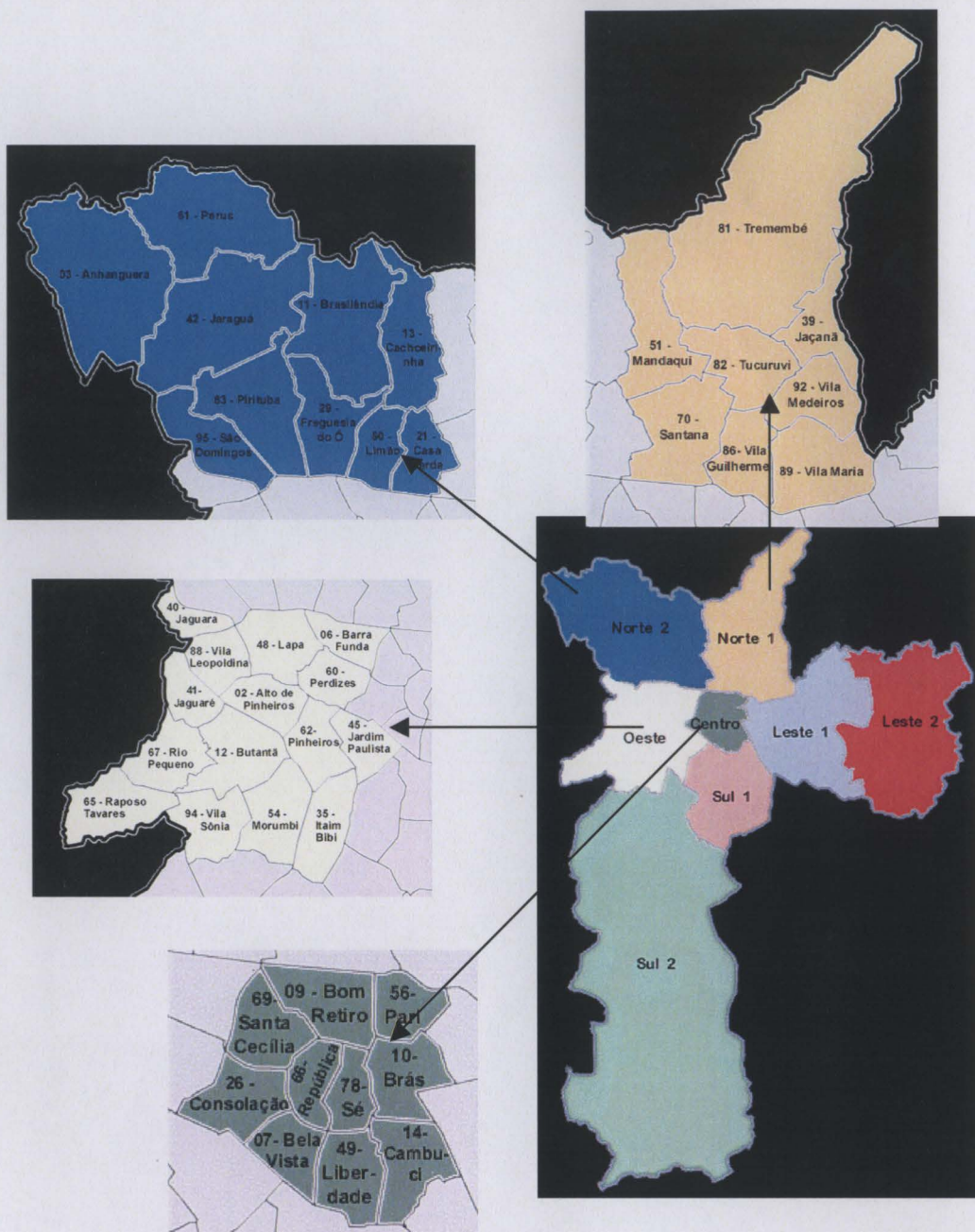
2.2.3. Comparar os resultados obtidos com a tolerância permitida pela RDC 12/2001.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS .

#### 3.1. Amostragem:

Foram estudadas 60 amostras de queijo Minas meia cura, sendo 20 provenientes de ambulantes, 20 de feiras livres e 20 de mercados municipais, disponíveis para a comercialização nas regiões norte, oeste e central da cidade de São Paulo. **FIGURA 1.**

- **Ambulantes:** a amostragem é de conveniência (não probabilística), devido não existir um banco de dados que possa ser consultado.
- **Feiras Livres:** por meio do cadastro de feiras livres da Secretaria Municipal de Abastecimento, foram sorteadas (amostragem probabilística) 20 feiras livres das 241 feiras livres das regiões norte, oeste e central da cidade de São Paulo (<http://www.prodam.sp.gov.br>, 2001).
- **Mercado Municipal:** por meio do cadastro de mercados municipais da Secretaria Municipal de Abastecimento, foram sorteados (amostragem probabilística) 20 dos 41 boxes de permissionários de laticínios dos mercados das regiões norte, oeste e central da cidade de São Paulo (<http://www.prodam.sp.gov.br>, 2001).



**FIGURA 1.** Mapa do município de São Paulo, divisão por regiões e por bairros que pertencem à pesquisa .

Fonte: <http://www.prodiam.sp.gov.br> 2001.

### 3.2. Pontuação dos locais de venda

No momento da compra foram observadas as condições gerais do local de venda e dos produtos oferecidos.

As condições gerais foram pontuadas (0 para inadequado e 1 para adequado), conforme abaixo relacionado:

1. Disponibilidade de água para higiene do vendedor;
2. Aspecto geral adequado do produto;
3. Ausência de insetos e outros animais;
4. Higiene pessoal adequada;
5. Manipulação adequada do alimento;
6. Limpeza adequada de utensílios;
7. Limpeza adequada do local de venda;
8. Temperatura adequada de refrigeração;
9. Exposição adequada de venda e
10. Produto apresenta adequada inspeção na origem.

Os itens foram baseados:

- Norma técnica relativa ao comércio ambulante de gêneros alimentícios- Resolução SS 142 de 03/05/1993 do Estado de São Paulo;
- Normas técnicas especiais de manipulação de alimentos – Decreto 25.544 e Decreto 25.545 de 14/03/1988 do município de São Paulo e
- Portaria CVS 6/ 99- Regulamento técnico do Estado de São Paulo.

### 3.3. Obtenção da temperatura

Após a aquisição foi obtido o valor da temperatura da amostra por meio de um termômetro de penetração (DT-650) devidamente desinfetado com álcool etílico 70%.

### 3.4. Preço

Foi obtido o preço por quilo de cada amostra para análise comparativa da variação de acordo com o local de venda.

## 2.5. Análise microbiológica

As amostras foram transportadas para o laboratório de Saúde Pública do Departamento de Prática de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, sob refrigeração, e as análises realizadas, imediatamente após a aquisição. Foi utilizada a metodologia descrita no Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods da American Public Health Association (APHA) (VANDERZANT & SPLITTSTOESSER 1992).

Uma amostra de 25g foi retirada de várias partes de cada queijo com uma espátula esterilizada e misturada de forma asséptica a 225 ml de solução de citrato de sódio a 2% estéril e desta, realizadas diluições até  $10^{-5}$  (SILVA e col. 1997). Anexo 1.

### 3.5.1 Coliformes

A contagem de coliformes fecais foi realizada pelo método do Número Mais Provável, com série de três tubos com diluições até  $10^{-5}$ . Foram inoculados tubos contendo Caldo Lauril Sulfato Triptose (Merck) a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24-48 horas. Os que apresentaram formação de gás foram cultivados em Caldo EC (Merck), para contagem de coliformes fecais a  $45^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, os positivos foram contados e determinados o NMP (tabela), confirmados para a presença de *E. coli* em placa com meio de Ágar Eosina Azul de Metileno (Merck) a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. As colônias características (esverdeadas) foram submetidas aos testes da série bioquímica: Indol, Citrato de Simmons (Difco), Vermelho Metila e Voges – Proskauer (IMVC) (SILVA e col. 1997). **Anexos 2 e 3.**

Para as colônias de *E. coli* isoladas foram efetuadas a reação sorológica de aglutinação direta, em placa escavada, utilizando-se suspensão de cultura recente de *E. coli* em ágar lúria em salina e como controle negativo solução salina. Adicionou-se uma gota de soro antibacteriano (soro Anti *E. coli*: clássica, polivalente A, B e C, invasora, polivalente A e B.-Probac), uma gota da suspensão bacteriana, misturou-se e observou-se. A aglutinação obtida em 2 segundos foi considerada como prova positiva, identificando a cepa (MOURA e col. 1992).

### 3.5.2 *Staphylococcus aureus*

A pesquisa e contagem de *S. aureus* foi realizada em placas com meio Baird Parker (Merck) incubadas a  $35^{\circ}\text{C}$  por 24 horas, as colônias típicas foram semeadas

em placas com o meio Cled (Difco), incubadas a 35<sup>0</sup>C por 24 horas, as colônias amarelo ouro, foram isoladas em ágar lúria, das quais foram realizadas as provas de catalase, DNase (Difco), coagulase e esfregaços corados pelo método de Gram (SILVA e col. 1997). **Anexos 4 e 5.**

### **3.5.3 Contagem geral de outros organismos indicadores de higiene**

Para a contagem de microrganismos mesófilos (35<sup>0</sup>C por 48 horas), psicrófilos (7<sup>0</sup>C por 10 dias), bolores / leveduras (25<sup>0</sup>C por 5 dias), foi utilizado Ágar Padrão para Contagem (Merck) em placas, no caso de bolores / leveduras acrescido de cloranfenicol (100mg/litro) (SILVA e col. 1997). **Anexo 6.**

### **3.5.4. Análise estatística**

A determinação da amostragem foi realizada com o programa EPI INFO version 6.04, 1997.

A análise dos resultados foi realizada com a utilização do programa NCSS (HENNEKENS e BURING 1987; DAWSON e TRAPP 2001), por meio dos testes:

- Kruskal Wallis (alfa de 0,05), que é a comparação de três médias de amostras independentes, variável quantitativa;
- Múltiplas comparações (alfa de 0,05), que é a comparação ou contraste entre duas médias;
- Correlação linear de Pearson, que mede a correlação entre duas variáveis.



As variáveis utilizadas na análise foram: pontuação dos locais de venda, preço, temperatura da amostra, contagem de coliformes a 45° C /g de queijo, presença de *E. coli*, contagem de *S. aureus* ufc/ g, contagem de mesófilos, contagem de psicrófilos e contagem de bolores e leveduras.

### 3.5.5. Legislação

As amostras de queijo Minas meia cura, foram consideradas como de média umidade (36%) de acordo com a RDC 12/ 2001 da ANVISA. Segundo essa resolução a tolerância, para amostra indicativa, é de  $1 \times 10^3$  coliformes a 45°C/ g e de  $1 \times 10^3$  para *Staphylococcus* coagulase positiva/ g de produto.

## **4. RESULTADOS e DISCUSSÃO**

As 60 amostras foram analisadas sob os aspectos relacionados aos locais de venda e qualidade microbiológica apresentando os resultados relacionados a seguir.

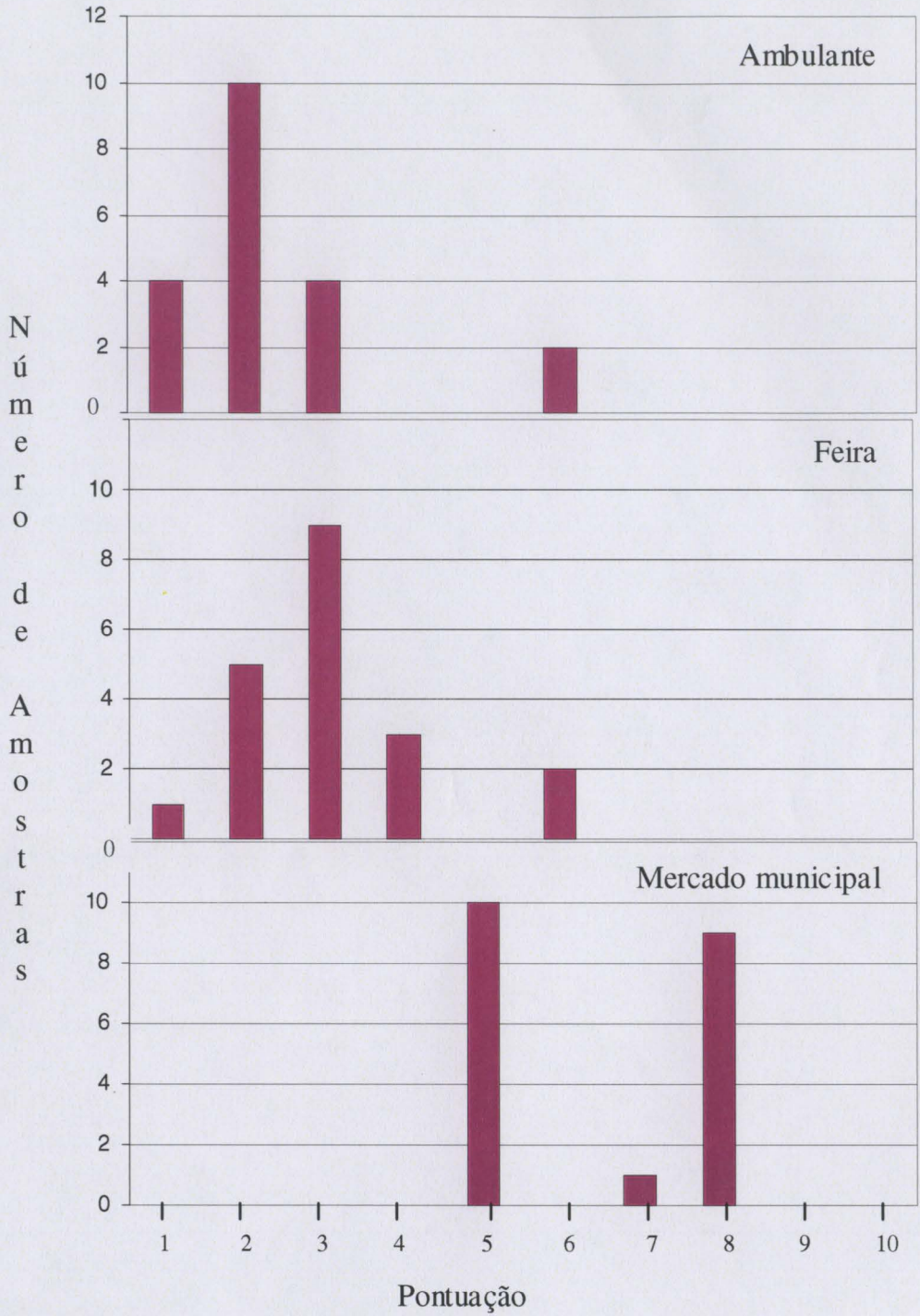
O teste de Correlação linear de Pearson, foi realizado com todas as variáveis e não foi encontrado nenhum resultado estatisticamente significativo.

### **4.1. Pontuação dos locais de venda**

A avaliação dos locais de venda foi realizada no momento da aquisição das amostras, os resultados obtidos estão demonstrados na **FIGURA 2 e Anexo7**

Nas amostras totais os pontos variaram de 1 até 8 ocorrendo maior frequência ao redor de 2 pontos, nenhum local atingiu os dez pontos, para os ambulantes e as feiras livres houve variação de 1 até 6 pontos e os mercados municipais apresentaram melhor pontuação que variou de 5 até 8 pontos.

Confirmando por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p < 0,05$  ou seja, estatisticamente as médias da pontuação dos pontos de venda são diferentes.



**FIGURA 2.** Pontuação dos locais de venda das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.

As médias encontradas foram para o comércio ambulante de 2,4, feira livre 3,1 e de mercados municipais 6,4, por meio do teste de múltiplas comparações, a diferença estatística encontra-se entre as médias dos pontos dos ambulantes e das feiras livres com a dos mercados municipais.

A análise estatística indica que os mercados municipais apresentaram melhor pontuação em comparação às feiras livres e ambulantes, teoricamente os mercados reúnem as melhores condições para o comércio de alimentos porém na prática se observa desorganização, falta de manutenção dos equipamentos e práticas inadequadas (falta de refrigeração, fracionamento) semelhante ao relatado por MENDONÇA e col. (2002). BELL e col. (1999), realizaram com êxito um trabalho educacional, visando a mudança de comportamento de um grupo em relação à manipulação de um alimento, semelhante tarefa se mostra necessária nos três grupos estudados. **FIGURAS 3 e 4.**

Observa-se que as feiras livres e o comércio ambulante são semelhantes quanto à falta de disponibilidade de água, falta de proteção dos alimentos, disposição inadequada do lixo, concordando com os relatos de MENDONÇA e col. (2002) e AUDI (2002), sendo que o local de venda com a melhor pontuação é o mercado municipal.



**FIGURA 3.** Box de mercado municipal. Exposição dos produtos ao meio ambiente sem proteção, falta de refrigeração e aproximação dos produtos como queijos, embutidos, latas, vidros e conservas (contaminação cruzada). São Paulo, 2001-2002.



**FIGURA 4.** Box de mercado municipal. Presença de balcão refrigerado e os produtos ficam expostos ao meio ambiente sem refrigeração. São Paulo, 2001-2002.

A atividade exercida pelo ambulante é muitas vezes decorrente de uma necessidade imediata, pode variar no tipo de produto a ser comercializado dependendo da disponibilidade do mesmo, já o feirante a exerce profissionalmente, o tipo de produto é fixo e a forma de comercialização esta normatizada pelo órgão municipal e portanto este deveria ter um maior cuidado com a manipulação e conservação dos produtos que o primeiro. **FIGURAS 5, 6, 7, 8, 9 e 10.**



**FIGURA 5.** Ambulante. Falta de uniforme e de higiene do local, produto fora de refrigeração e de origem desconhecida, falta de disponibilidade de água. São Paulo, 2001-2002.



**FIGURA 6.** Ambulante. Falta de disponibilidade de água, exposição ao meio ambiente, falta de refrigeração, falta de uniforme. São Paulo, 2001-2002.



**FIGURA 7.** Ambulante. Falta de disponibilidade de água, exposição ao meio ambiente, falta de refrigeração. São Paulo, 2001-2002.



**FIGURA 8.** Feira livre. Falta de disponibilidade de água, exposição ao meio ambiente, falta de refrigeração, aproximação de produtos com embalagem e sem embalagem, falta de higiene do local. São Paulo, 2001-2002.





**FIGURA 9.** Feira livre. Falta de uniforme, produtos fracionados, de origem desconhecida, falta de refrigeração e expostos ao meio ambiente. São Paulo, 2001-2002.



**FIGURA 10.** Feira livre. Falta de disponibilidade de água, produto fora de refrigeração e exposto ao meio ambiente. São Paulo, 2001-2002.

Os mercados municipais comercializam produtos com origem conhecida e inspecionados diferente do observado nas feiras livres e nos ambulantes, onde predominam os produtos artesanais de origem desconhecida e sem apresentarem

indicação de terem sido inspecionados. Do total de amostras pesquisadas 58% eram de origem desconhecida. A sanidade inicial da matéria prima utilizada, que é garantida pela inspeção dos produtos de origem animal, é essencial para assegurar um alimento de qualidade (HOBBS e ROBERTS 1996; SILVA JR 1999; GERMANO e GERMANO 2001). SHAMANOVA (1998) descreve a transmissão de microrganismos patogênicos por meio do leite contaminado, semelhante relato feito por DE VALK e col.(2000) sobre surto ocorrido na França, após ingestão de queijo contaminado, oriundo de leite não pasteurizado. ALMEIDA FILHO e col. (2001) concluíram que o queijo Minas artesanal é inferior em qualidade microbiológica comparado com o industrial.

Observou-se a utilização da embalagem plástica principalmente pelos mercados municipais e feiras livres que possuem uma maior vivência no comércio de alimentos, ficando mais evidente o uso inadequado de papel de embrulho pelos ambulantes (Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal 1997; Resolução SS142 1993; Decreto 25.544 e Decreto 25.545 1988; Portaria CVS 6 1999). Do total de amostras 82% estavam embaladas em filme plástico, BENEVIDES e TELLES (2002) encontraram 40% das amostras de queijo Minas sem embalagem e 70% com sujidades.

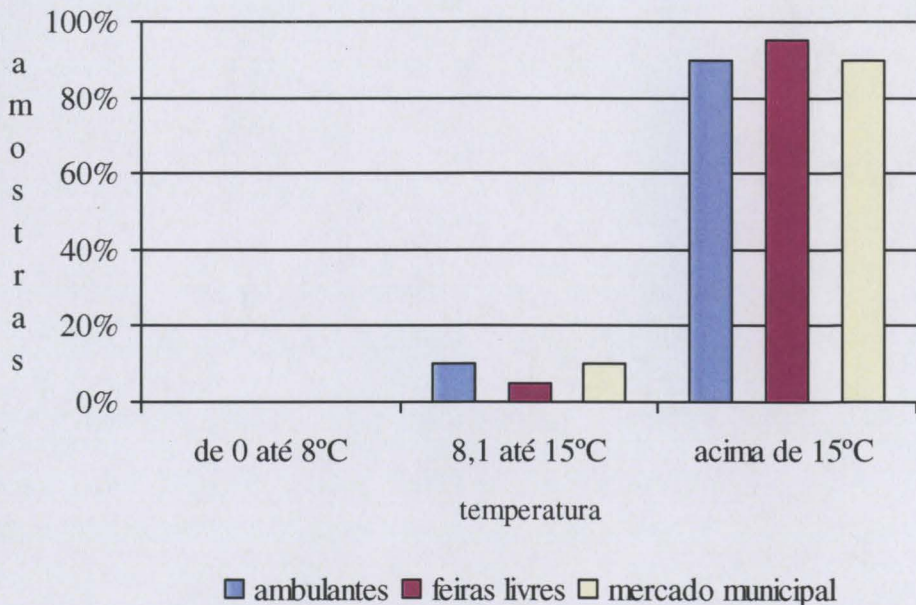
A exposição dos produtos ao meio ambiente, sem a proteção da embalagem, como observado principalmente nos dois tipos de comércio de rua, favorece a contaminação por meio da manipulação dos consumidores e também de insetos, especialmente moscas (SCHULLER 2000).

As baixas pontuações dos locais de venda indicam que o produto está sendo comercializado em condições insatisfatórias para a manutenção da sua qualidade e

segurança, que está sujeito a vários tipos de contaminações, aumentando a possibilidade de ser um veiculador de microrganismos, podendo causar doença ao consumidor. Alimentos saudáveis são aqueles que foram produzidos com matéria prima de qualidade, sem alterações, manipulação adequada, instalações e utensílios limpos assim como armazenamento refrigerado (HOBBS e ROBERTS 1996; SILVA JR 1999; GERMANO e GERMANO 2001). Surtos podem ocorrer devido à contaminação secundária, como descreveu ELLIS e col. (1998).

#### 4.2. Temperatura da amostra

A temperatura da amostra foi obtida no momento da aquisição por meio de um termômetro de penetração desinfetado, os resultados obtidos estão demonstrados na **FIGURA 11. Anexo 8.**



**FIGURA 11.** Temperatura das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.

No total das amostras as temperaturas variaram de 11,6 até 33,2 °C sendo que a maioria apresentava temperatura acima de 15°C. Para as amostras dos ambulantes havia uma variação de 11,6 até 29,4°C, as amostras das feiras livres de 14,8 até 29,9°C e as amostras dos mercados municipais de 11,8 até 33,2°C. Nenhuma amostra apresentava temperatura adequada de refrigeração ou seja, até 8°C.

Por meio da análise do teste de Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p > 0,05$ , não há diferença estatística entre as médias das temperaturas das amostras dos diferentes locais de venda.

As médias das temperaturas encontradas para as amostras dos ambulantes foi de 22,71°C, das amostras das feiras livres de 22,78°C e das amostras dos mercados municipais de 22,33°C. Não há diferença estatística significativa entre as médias das amostras utilizando-se o teste de múltiplas comparações

A não observação de diferença estatística, quando são comparadas as médias das temperaturas das amostras, nos diferentes pontos de venda, confirma que apesar dos mercados municipais possuírem balcão refrigerado e câmaras frias, o queijo Minas é comercializado fora de refrigeração (temperatura maior do que 8°C) à semelhança das feiras livres e dos ambulantes.

Os laticínios, especialmente quando mantidos fora de refrigeração, são excelentes meios de cultura, acima de 15°C multiplicam-se a maioria dos microrganismos patogênicos (HOBBS e ROBERTS 1996).

Temperaturas acima de 20°C foram observadas em 75% das amostras. O intervalo de multiplicação do *S. aureus* é de 7 a 45 °C, sua toxina pode ser pré-formada no alimento entre 10 e 46°C, e o da *E. coli* de 2,5 a 45°C, portanto a temperatura da maioria das amostras encontrava-se favorável ao crescimento de

ambas, assim como para os organismos mesófilos, psicrófilos e bolores/ leveduras (JAY 1997; U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001). SHAMANOVA (1998) destaca a importância do tratamento térmico do leite e derivados para a produção de produtos seguros.

AUDI (2002) de forma semelhante constatou em sua pesquisa que os laticínios são comercializados fora de refrigeração nas feiras livres, assim como BENEVIDES e TELLES (2002), encontraram 40% das amostras de queijo Minas fora de refrigeração.

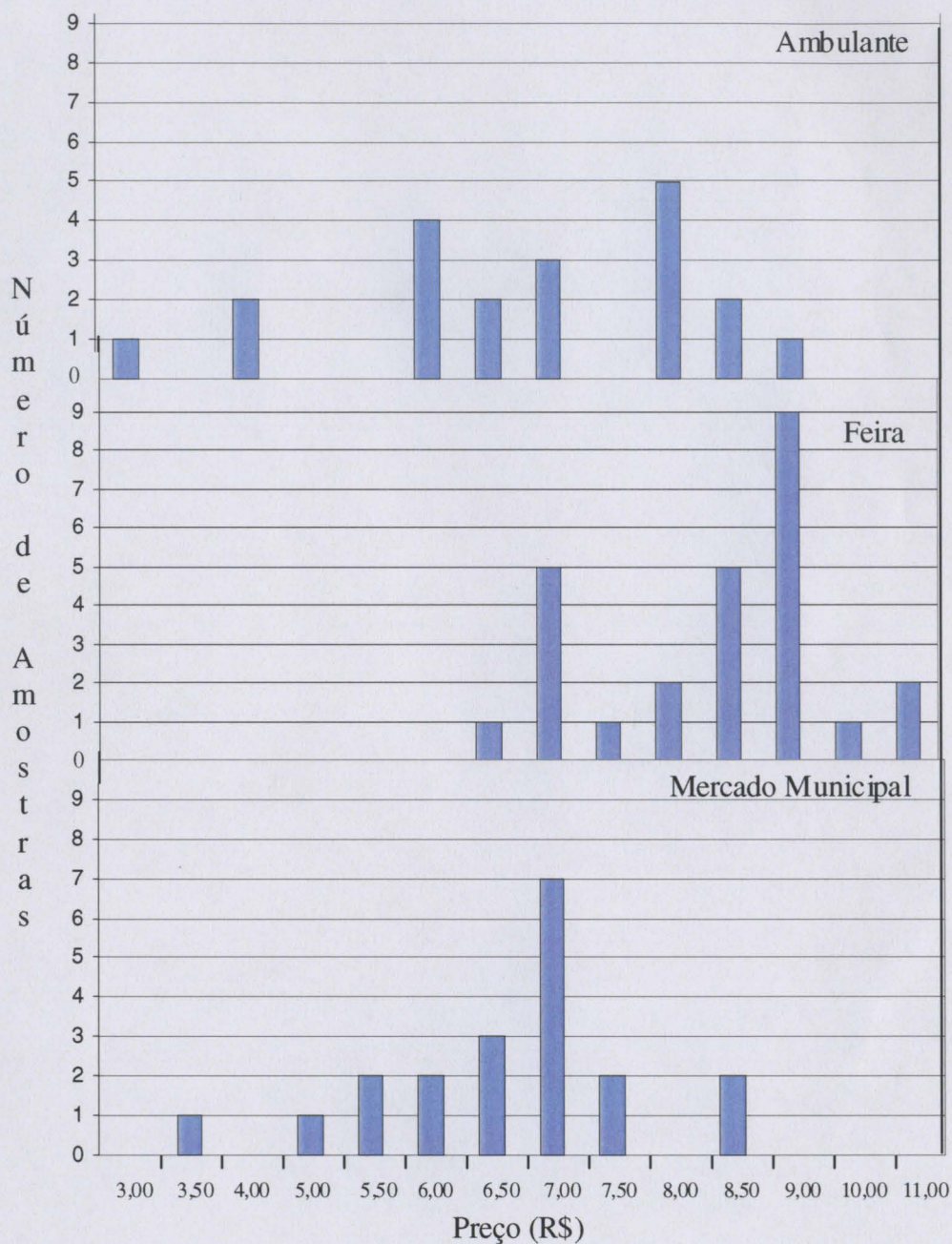
Segundo a técnica de fabricação, o queijo Minas deve ser refrigerado durante o processo de cura para evitar a proteólise que altera o sabor, e também diminuir a multiplicação bacteriana e produção de toxina (HOBBS e ROBERTS 1996; SILVA JR 1999). As condições de conservação e comercialização do queijo Minas deverão ser em temperatura não superior a 8° C, a legislação determina que os laticínios sejam mantidos sob refrigeração (Resolução SS 142 1993; Decreto 25.544 e Decreto 25545 1988; Portaria CVS 6 1999, Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos).

### **4.3. Preço de comercialização do queijo**

O preço da amostra foi transformado em preço (real)/kg e os resultados obtidos estão demonstrados na **FIGURA 12. Anexo 9.**

O consumo de alimentos de alto valor nutritivo, como o queijo Minas meia cura, acessível a uma população de baixo poder aquisitivo pode representar um complemento importante na dieta da coletividade, mas devido à qualidade duvidosa

deste produto, pode veicular microrganismos e causar enfermidades ao consumidor. KERR-PONTES e ROUQUAYROL (1999), descrevem que as taxas de mortalidade por todas as doenças são maiores nas populações de maior carência sócio-econômica.



**FIGURA 12.** Resultados do preço/ kg de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

No total o preço das amostras variou de 3 até 11 reais, a variação de preço entre as amostras dos ambulantes foi de 3 até 9 reais, das amostras das feiras livres o intervalo foi de 6,5 até 11 reais e das amostras dos mercados municipais foi de 3,5 até 8,5 reais; o maior número de amostras teve o preço ao redor de 7 reais/ kg.

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p < 0,05$  estatisticamente as médias do preço das amostras dos três locais de venda estudados são diferentes.

As médias de preços encontradas para o produto foram para os ambulantes de 6,7/ kg, para as feiras livres de 8,3/ kg e para os mercados municipais de 6,6/ kg, por meio do teste de múltiplas comparações a diferença estatística esta entre a média encontrada para as amostras de ambulantes e dos mercados municipais com a média das amostras das feiras livres.

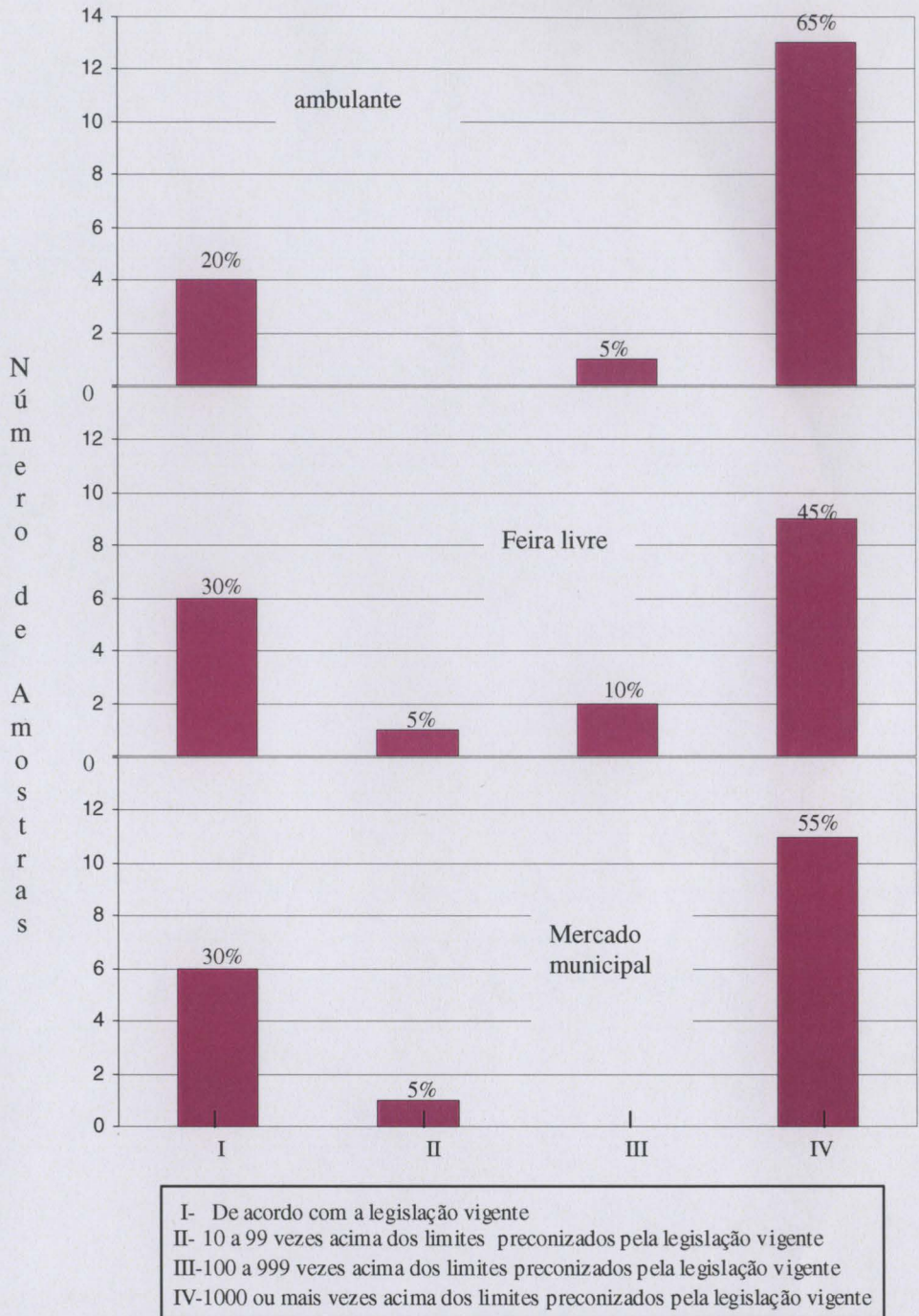
Os valores mais altos de preço encontrados foram nas amostras das feiras livres, o que contradiz com a finalidade da sua criação, que é a de aproximar produtor e consumidor trazendo um produto mais fresco e mais barato (MENDONÇA e col. 2002). O preço foi menor que 6 reais/kg em apenas 21,6% das amostras totais.

#### **4.4. Pesquisa de coliformes**

Foram pesquisadas nas amostras a presença de coliformes a  $45^0$  C/ g de amostra, comparados com a RDC 12/ 2001, presença de *E. coli* e testes sorológicos .

##### **4.4.1.NMP de coliforme fecal/ g de queijo.**

Os resultados obtidos do NMP de coliforme fecal/g de queijo estão descritos nas **FIGURAS 13 e 14. Anexo 10.**

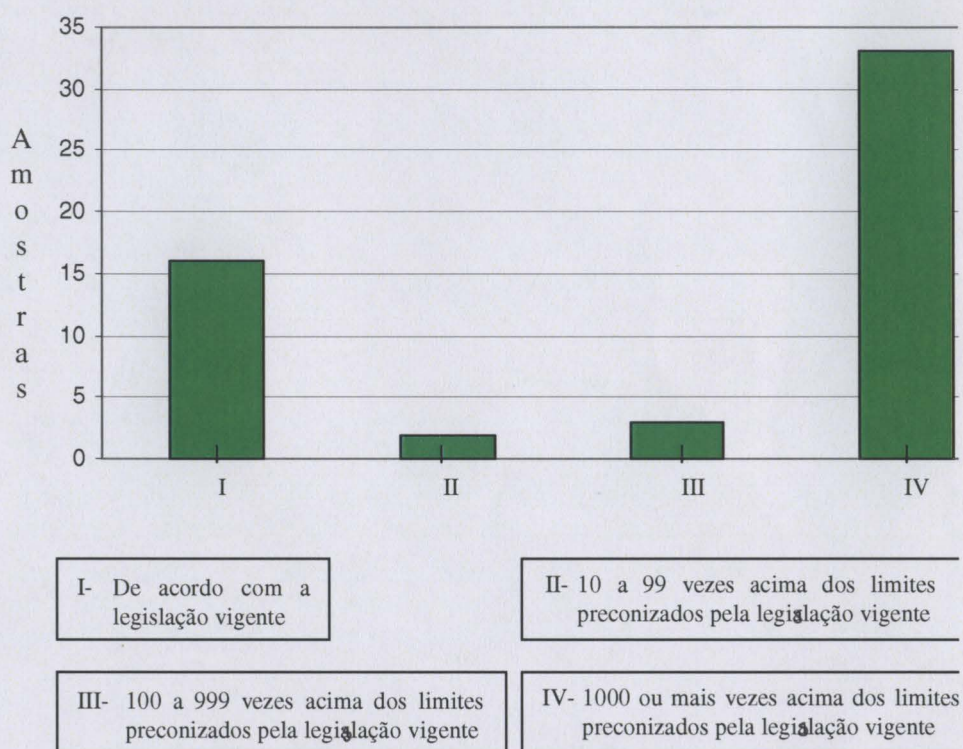


**FIGURA 13.** NMP de coliforme fecal/ g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo. 2001-2002. (legislação vigente: RDC 12/ 2001).

Deve-se observar portanto, que embora exista uma padronização preconizada para garantia da estrutura física ideal, com especificação de instalações e equipamentos, que deveriam auxiliar na manutenção e qualidade do alimento



comercializado, essa padronização foi insuficiente para garantir que os mercados municipais, que tiveram a melhor pontuação, quando comparados com a legislação vigente, apresentassem índices muito elevados: 55% das amostras com contagens 1000 vezes do permitido pela legislação, RDC 12 /2001, para coliformes a 45°C. Esses valores quando comparados com o ambulante e a feira livre foram muito próximos, 65 e 45% respectivamente.



**FIGURA 14.** NMP de coliforme fecal/ g de queijo Minas meia cura nas amostras totais, comercializado na cidade de São Paulo. 2001-2002. (legislação vigente: RDC 12/ 2001).

Das amostras totais a variação do NMP de coliforme fecal/g de queijo foi entre menor que três até maior que  $2,4 \times 10^8$ , ocorrendo a maior frequência no intervalo de  $1,1$  até  $2,8 \times 10^7$ . Os resultados indicam que a contaminação nos três locais de venda ocorre de forma semelhante. A contagem desses organismos indica as condições de higiene em que os queijos foram processados (OLIVEIRA e col. 1998).

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p > 0,05$ , indicando que estatisticamente não houve diferença significativa entre as médias.

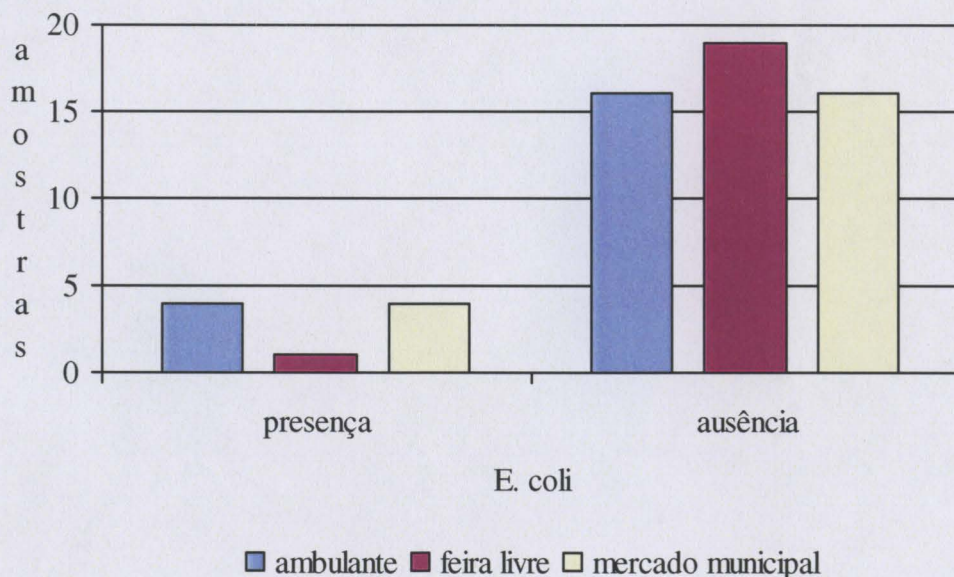
A média encontrada para as amostras dos ambulantes foi de  $5,97 \times 10^7$ , para as amostras das feiras livres foi de  $2,17 \times 10^7$  e para as amostras dos mercados municipais foi de  $3,96 \times 10^7$ , por meio do teste de múltiplas comparações não há diferença estatística significativa entre as médias encontradas das amostras.

Do total das amostras estudadas 73,3% apresentaram-se em desacordo com o padrão da RDC 12/ 2001, valor abaixo dos 80,56%, 93%, 95,65% e 100%, encontrados por BENEVIDES e TELLES (2002), PINTO e col.(2001), SILVA e col. (2001) e HOFFMAN e col. (2002), respectivamente; valor bastante próximo aos 73,8% e 76,7% (amostras artesanais), encontrados por MIRÓ e SELGRAD (1999) e PERESI e col. (2001) respectivamente; porém valor acima aos encontrados por PEREIRA e col. (1999), CHIAPPINI e col. (1995), PERESI e col. (2001) e RABELO e col. (2001), que foram de 52%, 53,3 %, 23,3% (amostras industriais) e 43%, respectivamente, em desacordo, quando da vigência, com a Portaria 1 DINAL/MS 1987 e RDC 12/ 2001.

ALTEKRUSE e col. (1998) estudaram surtos por ingestão de queijo e concluíram que o processo de cura inativa a maioria das bactérias presentes nesse produto lácteo, porém não pode ser utilizada como controle para eliminar os organismos patogênicos, concordando com os resultados encontrados, visto que um grande número de amostras apresentou presença acima de  $10^3$ , limite de tolerância, para coliformes a  $45^\circ\text{C}$ , o produto, teoricamente, deveria ter pelo menos 20 dias de cura.

#### 4.4.2. Pesquisa de *E. coli*

A presença e ausência de *E. coli* confirmada pelos testes bioquímicos está descrita na **FIGURA 15. Anexo 11.**



**FIGURA 15.** Pesquisa de *E. coli* nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.

Das amostras totais 51 (85%) não apresentaram presença de *E. coli*, as feiras livres apresentaram menos amostras contaminadas, valor abaixo dos 70% encontrado por CHIAPPINI e col. (1995).

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p > 0,05$ , estatisticamente não há diferença significativa entre as amostras dos três locais de venda para as médias da presença de *E. coli*.

A média encontrada para as amostras de ambulantes foi de 0,20, para as amostras das feiras livres foi de 0,05 e para as amostras dos mercados municipais foi de 0,20, por meio do teste de múltiplas comparações não há diferença estatística entre as médias das amostras.

Em geral as pesquisas em alimentos, só detectam a presença de coliformes fecais e sua contagem para o enquadramento com a legislação, porém a detecção da presença de *E.coli* é uma informação importante, visto que é utilizada como índice higiênico sanitário, sugerindo a higiene e a incidência de contato direto ou indireto do produto com matéria fecal, pode advertir também sobre a possibilidade da presença de outras bactérias patogênicas entéricas (SIQUEIRA 1995; ALMEIDA e col. 1996; DAVIS e col. 1996; ADAMS e MOSS 1997; KONEMAN e col. 1997; FORBES e col. 1998; TORTORA e col. 2002).

#### **4.4.3. Sorologia de *E. coli***

Os resultados da sorologia realizada para as cepas de *E. coli* segundo o tipo de estabelecimento, estão apresentados a seguir:

**Ambulantes:** 2 amostras apresentaram reação positiva para o soro anti *E.coli* invasora polivalente tipo A, e 1 amostra apresentou reação positiva para o soro anti *E.coli* enteropatogênica clássica polivalente tipo A.

**Feiras livres:** 1 amostra apresentou reação positiva para o soro anti *E.coli* enteropatogênica clássica polivalente tipo C.

**Mercados municipais:** 1 amostra apresentou reação positiva para o soro anti *E.coli* invasora polivalente tipo B.

Os três pontos de venda apresentaram amostras com sorologia positiva para EPEC e EIEC semelhante ao encontrado por NASCIMENTO e col. (1988) e SILVA e col. (2001), que isolaram o sorogrupo EPEC de amostras de leite pasteurizado, considerando o resultado perigoso para a população infantil e também possível meio de veiculação de outros organismos patogênicos; diverso ao estudo de COIA e col. (2002), onde isolaram de vários tipos de amostras, inclusive de laticínios, altos níveis do sorogrupo ETEC.

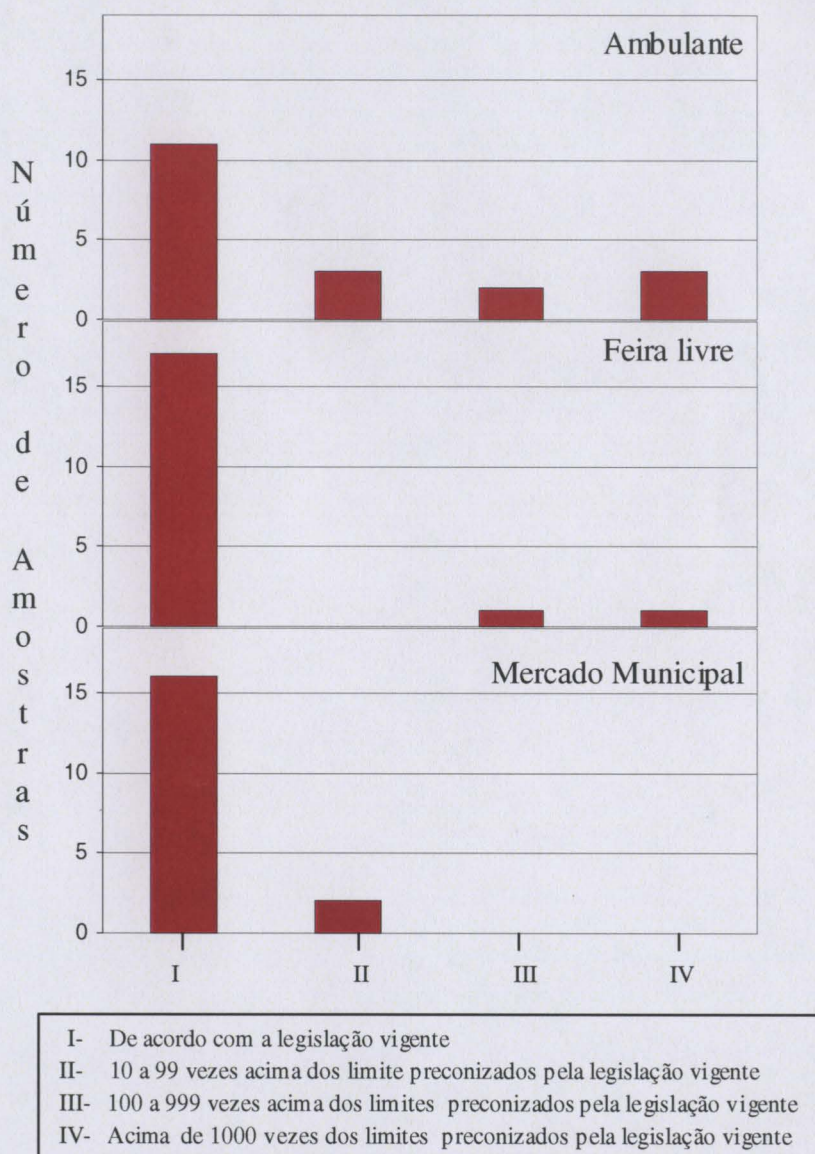
Na década de 70, nos Estados Unidos, isolaram o sorogrupo EIEC de queijos suspeitos de causarem surto (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001).

#### **4.5. *S. aureus***

Os resultados da contagem de *S. aureus* coagulase positiva ufc/ g de queijo, estão expressos na **FIGURA 16. Anexo 12.**

Os mercados municipais apresentaram algumas amostras em desacordo com a legislação, e havia amostras com contagens próximas do limite tolerado, indicando que o produto, se mantido em condições inadequadas, o que já foi demonstrado nos

itens anteriores (pontuação e temperatura), poderá vir a apresentar valores maiores de contaminação.



**FIGURA 16.** Contagem de ufc de *S. aureus* coagulase positiva/ g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo. 2001-2002. (Legislação: RDC 12/ 2001).

O comércio de ambulantes apresentou maior número de amostras com os maiores valores de contaminação, indicando a contaminação por meio da manipulação inadequada.

As feiras livres apresentaram amostras com valores altos de contaminação em desacordo com a legislação.

Os mercados municipais apresentaram poucas amostras em desacordo com a RDC12/2001.

Amostras com os valores dentro dos parâmetros aceitáveis, podem, se mantidas em condições inadequadas no local de venda (pontuação, temperatura), ter o seu valor de contagem aumentado.

Apesar do *S. aureus* não tolerar competição com outras bactérias encontradas na flora dos alimentos (JAY 1997), no caso dos laticínios, MACEDO e col. (1996) demonstraram sua presença em número significativo, tanto no início como no final do período de maturação do queijo Serra.

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p < 0,05$ , estatisticamente as médias da ufc de *S. aureus* coagulase positiva/ g de queijo dos três locais de venda são diferentes.

A média para os ambulantes foi de  $4,5 \times 10^5$  ufc/g, para as feiras livres  $5,5 \times 10^4$  ufc/g e  $1,4 \times 10^3$  ufc/g para os mercados municipais, por meio do teste de múltiplas comparações a diferença estatística encontra-se entre a média dos mercados municipais e das feiras livres com a dos ambulantes.

As condições inadequadas dos locais de venda e de temperatura, favorecem a multiplicação desta bactéria, que já poderá estar contaminando o produto, desde a sua origem, visto ser uma das maiores responsáveis por mastites, com alta

prevalência no rebanho bovino (7 a 40%) (GERMANO e GERMANO 2001). Vários surtos devido ao consumo de laticínios, oriundos de leite contaminado, foram estudados na década de 70 (JAY 1997). PEREIRA e col. (1996), identificaram a enteroxina D, como causa de surto devido à ingestão de queijo Minas, as contagens de *S. aureus* coagulase positiva eram de  $10^8$  ufc/g.

Do total de amostras, 26,7% apresentaram-se em desacordo com padrão da RDC 12/ 2001, dado este abaixo dos 43%, 44,44%, 76,5%, 93% e 95,65%, obtidos respectivamente por RABELO e col. (2001), BENEVIDES E TELLES (2002), PERESI e col. (2001), PINTO e col. (2001) e SILVA e col (2001) e 100% obtidos por REIBNITZ e TAVARES (1995) e HOFFMANN e col. (2002); valor aproximado aos obtidos por GOMES e GALLO (1995): 22,2% e CHIAPPINI e col. (1995): 20% e bem acima de ALMEIDA e col. (1996): 8,42%. Embora haja grande variação nas proporções encontradas todos os dados se encontram em desacordo com a legislação vigente.

#### **4.6. Pesquisa de outros organismos indicadores de higiene**

##### **4.6.1. Contagem de mesófilos**

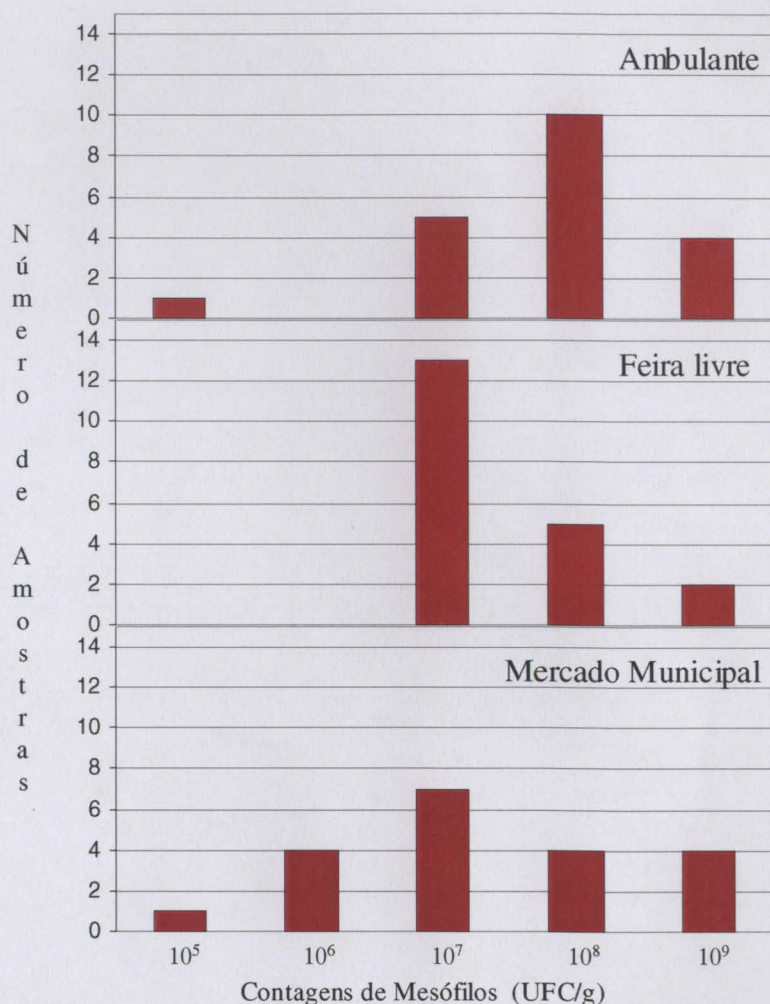
Os resultados da contagem de organismos mesófilos estão representados na **FIGURA 17. Anexo 13.**

A contagem de mesófilos nas amostras totais variaram no intervalo de  $2,3 \times 10^5$  até  $2,4 \times 10^9$  ufc/g, o intervalo que apresentou o maior número de amostras totais



foi o de  $10^8$  ufc/g, semelhante às amostras da feira livre. CHIAPPINI e col. (1995) encontraram valores acima de  $10^6$  ufc/g em 93,3 % de amostras de leite.

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p > 0,05$ , estatisticamente não há diferença significativa entre as médias de contagem de mesófilos nas amostras nos três locais de venda.



**FIGURA 17.** Contagem de ufc de mesófilos /g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo. 2001-2002.

As médias encontradas nas amostras estudadas foram para os ambulantes  $5,80 \times 10^8$  ufc/g, feiras livres  $2,17 \times 10^8$  ufc/g e mercados municipais  $3,96 \times 10^8$  ufc/g.

Pelo teste de múltiplas comparações não há diferença estatística significativa entre as médias dos três locais de venda.

Portanto as médias das contagens de mesófilos foram semelhantes estatisticamente para os três pontos de venda. Os altos valores sugerem falhas na manipulação e conservação dos produtos.

A contagem de mesófilos nos alimentos indica a qualidade de matéria prima, a limpeza e desinfecção de superfícies usadas no processamento e a higiene da conservação (DIAZ e col. 1995; SANTOS e FONSECA 2001).

Contém o grupo de maior número de microrganismos patogênicos (JAY 1997).

A refrigeração do leite e derivados previne o crescimento dos organismos mesófilos (ASSUMPÇÃO e col. 2001), porém não havia amostras refrigeradas, todas se encontravam acima de 8°C.

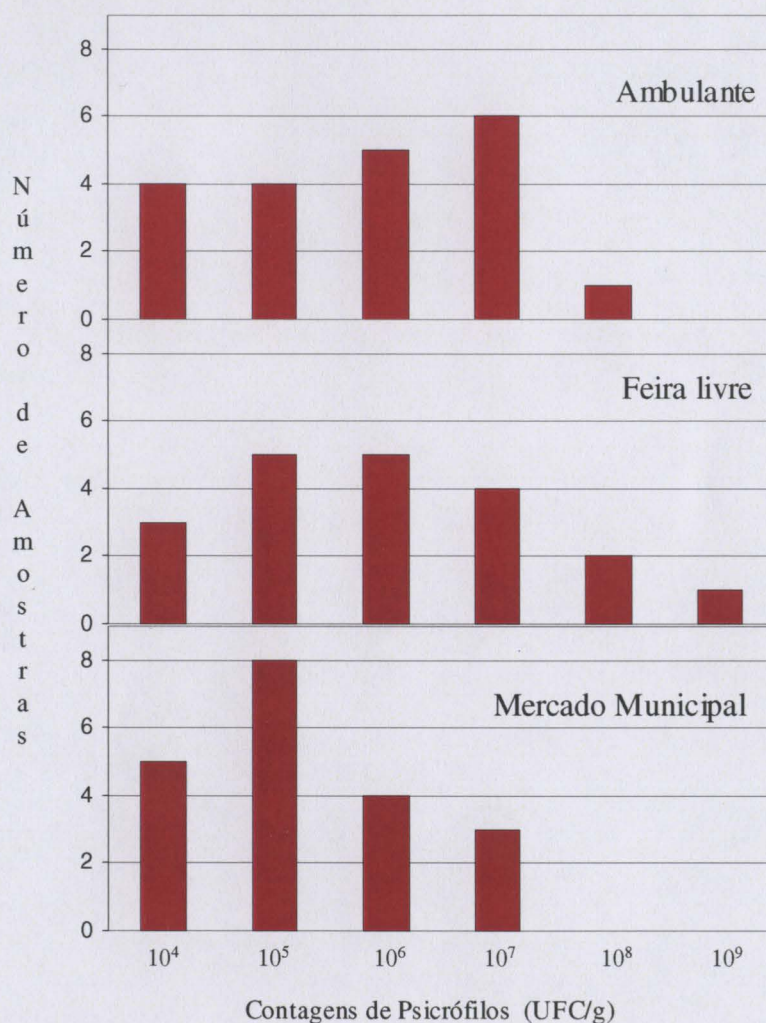
#### **4.6.2. Contagem de psicrófilos**

Os resultados obtidos na contagem de psicrófilos estão expressos na **FIGURA 18. Anexo 14.**

O intervalo de 1,0 a  $8,6 \times 10^5$  ufc/g apresenta o maior número de amostras totais e as amostras das feiras livres apresentaram o maior intervalo de variação, ou seja de  $1,0 \times 10^4$  até  $1,1 \times 10^9$  ufc/g . CHIAPPINI e col. (1995), encontraram valores acima de  $10^6$  ufc/g em 96,7% das amostras de leite.

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p < 0,05$ . Estatisticamente as médias das colônias dos psicrófilos das amostras são diferentes.

As médias encontradas nas amostras foram para os ambulantes  $1,9 \times 10^6$  ufc/g, feiras livres  $1,2 \times 10^8$  ufc/g e mercados municipais  $3,5 \times 10^7$  ufc/g. Segundo o teste de múltiplas comparações a diferença estatística encontra-se entre as médias dos mercados municipais e ambulantes com as feiras livres.

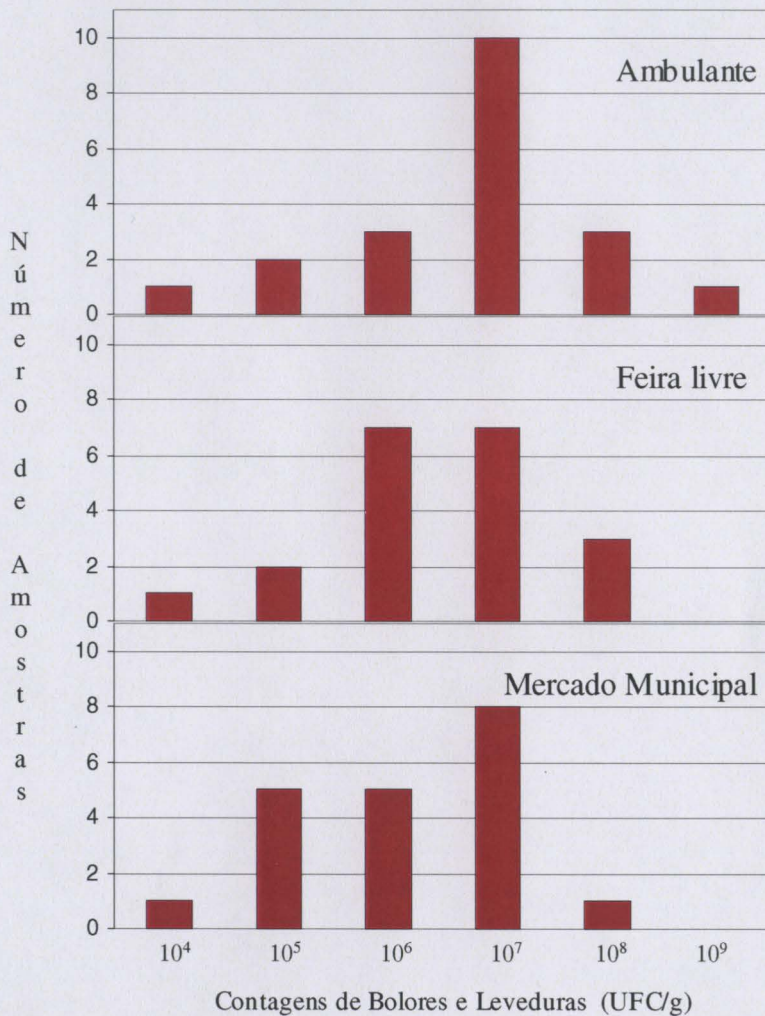


**FIGURA 18.** Contagem de ufc de psicrófilos /g de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.

As amostras de feiras livres apresentaram as maiores contagens de colônias de psicrófilos, demonstrando maior contaminação dos produtos, falhas na manipulação e conservação (SANTANA 2001).

#### 4.6.3. Contagem de bolores e leveduras

Os resultados obtidos na contagem de bolores e leveduras estão descritos na **FIGURA 19. Anexo 15.**



**FIGURA 19.** Contagem de ufc de bolores e leveduras /g de queijo meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001-2002.

O resultado da contagem de bolores e leveduras que vai de 1,0 até  $9,3 \times 10^7$  ufc/g é o que apresenta maior número de amostras totais. As amostras dos ambulantes apresentaram o maior intervalo de variação de  $2,7 \times 10^4$  até  $3,0 \times 10^9$ .

Por meio da análise do teste do Kruskal Wallis foi encontrado o resultado de  $p > 0,05$ , estatisticamente não há diferença significativa entre as médias da contagem de bolores e leveduras para as amostras dos três locais de venda.

As médias dos resultados das contagens de bolores e leveduras foram para as amostras dos ambulantes  $1,9 \times 10^8$  ufc/g, para as amostras das feiras livres  $4,5 \times 10^7$  ufc/g e para as amostras dos mercados municipais  $2,0 \times 10^7$  ufc/g. Pelo teste de múltiplas comparações não há diferença estatística significativa entre as médias das amostras.

A contagem de bolores e leveduras foi semelhante estatisticamente nas amostras dos três pontos de venda, indicando falta de higiene na manipulação e conservação dos alimentos. As temperaturas das amostras estavam favoráveis ao crescimento destes organismos.

A presença de bolores e leveduras indica a utilização de matéria prima contaminada e deficiências no processamento, pode sugerir a presença de micotoxinas (DIAZ e col. 1995; KONEMAN e col. 1997).

As alterações de pH em um determinado alimento podem refletir sua biota microbiana, um alimento pode apresentar um pH inicial que impeça o crescimento bacteriano, mas como resultado do metabolismo de outros organismos contaminantes, como por exemplo bolores e leveduras, as alterações de pH podem ocorrer favorecendo o crescimento de bactérias (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION 2001).

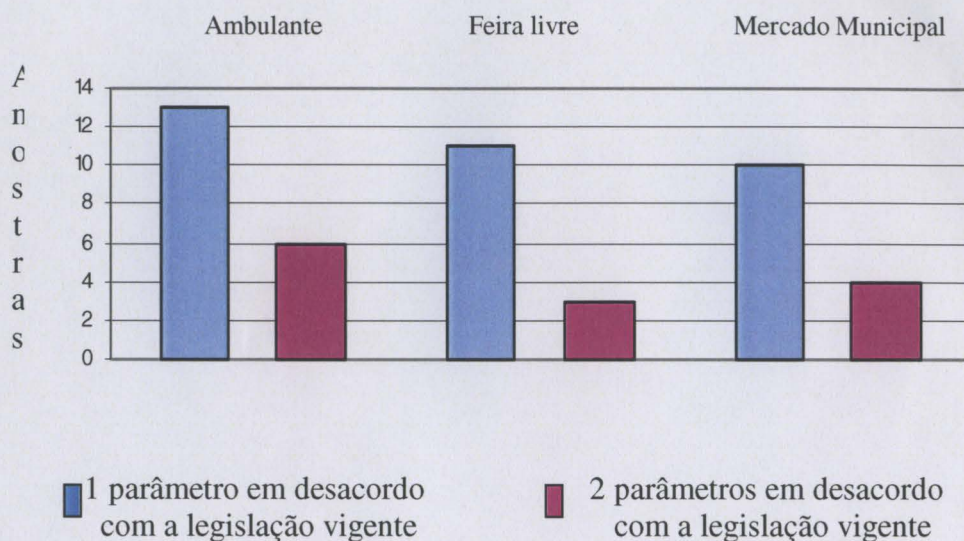
Comparando-se os três pontos de venda, verificam-se inúmeras deficiências, tanto durante o processo de manipulação como também dos equipamentos, sobretudo entre os ambulantes e feirantes. Os mercados municipais que poderiam usar de forma mais apropriada seus recursos, mantêm os produtos fora de refrigeração, misturados com outros alimentos, perecíveis ou não. Nota-se também a total falta de manutenção, conservação e limpeza do espaço físico, utensílios e equipamentos.

Conforme demonstrado na **FIGURA 20**, os ambulantes apresentaram mais amostras em desacordo com a legislação vigente, evidenciando comercializarem um produto insatisfatório para o consumo. As amostras das feiras livres apresentaram pequena diferença com as dos ambulantes, também oferecendo um alimento insatisfatório. Os mercados municipais, possuindo a melhor infra-estrutura dos três locais de venda, não a aproveita de forma satisfatória, visto as inúmeras amostras em desacordo com a legislação. O local de venda, que apresentou mais amostras com dois parâmetros em desacordo com a legislação foi o dos ambulantes, seguido pelo dos mercados municipais. Relativo a um parâmetro em desacordo, os ambulantes apresentaram maior número de amostras seguidos pela feira livre.

Os produtos de origem desconhecida são amplamente comercializados pelos ambulantes e nas feiras livres, percebe-se que o consumidor não tem noção do perigo que estes alimentos representam pois são bem aceitos pelo público.

Contrariando as normas os ambulantes utilizam papel reciclado para embrulhar o produto o que já não ocorre nos outros pontos de venda.

Os organismos indicadores de higiene estavam presentes em todos os locais de venda indicando falhas na manipulação e conservação deste tipo de alimento.



**FIGURA 20.** Locais de venda das amostras de queijo Minas meia cura, segundo os parâmetros em desacordo com a legislação vigente (RDC 12/2001). São Paulo 2001-2002.

Destacam-se os psicrófilos nas amostras das feiras livres e o *S. aureus* coagulase positiva nas dos ambulantes.

Seria benéfico se os órgãos responsáveis realizassem um trabalho educativo, para que se possa promover a saúde.

Os ambulantes são uma realidade nos países em desenvolvimento, indicam um grave problema de pobreza e desemprego.

Do total de amostras, 73,3% e 26,7% encontravam-se acima do tolerado pela RDC 12/ 2001, respectivamente para coliformes a 45°C e para *S. aureus* coagulase positiva.

## 5. CONCLUSÕES

### •Mercado municipal:

- melhores condições físicas e equipamentos;
- práticas inadequadas (fracionamento, produtos acima de 10<sup>0</sup>C);
- apresentaram amostras com qualidade higiênico sanitária insatisfatória;

### •Feira livre:

- se igualam aos ambulantes em deficiência de equipamentos (amostras acima de 10<sup>0</sup>C);
- comercializam produtos com origem desconhecida;
- praticam os maiores preços para o produto;
- alta prevalência de psicrófilos;
- apresentaram amostras com qualidade higiênico sanitária insatisfatória;

### •Ambulantes:

- produtos com a maior contaminação por *S. aureus* coagulase positiva, sugerindo utilização de matéria prima contaminada; falhas na manipulação, exposição ao meio ambiente e deficiência na higiene dos equipamentos;
- Muitas amostras eram de origem desconhecida, estavam acima de 10<sup>0</sup>C e embrulhadas em papel;
- apresentaram amostras com qualidade higiênico sanitária insatisfatória;

•Foram encontrados os sorogrupos patogênicos de *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) e enteropatogênica (EPEC), comuns em áreas sem saneamento de países em desenvolvimento.



•Os resultados evidenciam a necessidade de um trabalho educacional junto aos profissionais dos três locais de venda, visando melhorar a manipulação do produto, também junto aos consumidores destes locais e principalmente alertar sobre o consumo de produtos de origem desconhecida.

## 6. REFERÊNCIAS

1. Adams MR, Moss MO. **Microbiologia de los alimentos**. Zaragoza, Acribia. 1997.
2. Almeida CR, Schuch DMT, Gelli DS, Cuellar S, Juan A, Diez RAV, Escamilla JA. **Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la vía pública**. OPAS–OMS. 1996.
3. Almeida Filho ES, Nader Filho A. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijo tipo "frescal". **Revista de Saúde Pública**. 2000. 34, (6): 578-80.
4. Almeida Filho ES, Lindner AL, Almeida DS, Sigarini CO, Ferreira MB. Perfil microbiológico de queijos Minas frescal, de produção artesanal e inspecionada, comercializado no Município de Cuiabá- MT. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (80-81): 145.
5. Altekruise SF, Timbo BB, Mowbray JC, Bean NH, Potter ME. Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: sanitary manufacturing practices protect consumers. **Journal Food Protection**. 1998. 61, (10): 1405-7.

6. Assumpção EG, Hirsch D, Piccoli Valle RH. Psicotróficos: potenciais causadores de toxinfecções alimentares humanas, veiculadas por leite e queijo. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (80-81): 137.
7. Audi SG. **Avaliação das condições higiênico sanitárias das feiras livres do município de São Paulo- SP**. 2002. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].
8. Bell RA, Hillers VN, Thomas TA. The Abuela Project: safe cheese workshops to reduce the incidence of *Salmonella* Typhimurium from consumption of raw-milk fresh cheese. **American Journal Public Health**. 1999. 89, (9): 1421-4.
9. Benevides SD, Telles FJS. Características microbiológicas, de armazenamento e de embalagem de queijos tipo “coalho” comercializados na cidade de Fortaleza, CE. **Revista Higiene Alimentar**. 2002. 16 (95): 44-47.
10. Beresford TPA, Fitzsimons NAA, Brennsn NLA, Cogan TMA. Recent advances in cheese microbiology. **International Dairy Journal**. Ireland. 2001. 11, (4-7):259-274.
11. Brasil. Decreto nº 30.691, de 29 de março de 1952, alterado pelos Decretos nº 1255, de 25 de junho de 1962, nº 1236 de 02 de setembro de 1994, nº 1812 de 08 de fevereiro de 1996 e nº 2244 de 04 de junho de 1997. **Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal. RIISPOA**. Brasília/ DF. 1997.
12. Brasil. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o

- funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, 20 de setembro de 1990.
13. Brasil. Portaria nº 146/96 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Queijos. **Diário Oficial da União**. Brasília. 07 de março de 1996.
14. Brasil. Resolução nº 7/00 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Oficializa e normatiza os critérios de funcionamento e controle da Produção de Queijarias. **Diário Oficial da União**. Brasília. 28 de novembro de 2000.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução 12 de 02/01/2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília. 10 de janeiro de 2001. Seção I. p: 45-53.
16. Castro M. **Características microscópicas de queijos prato, mussarela e mineiro comercializados em Feiras Livres da Cidade de São Paulo**. São Paulo. 1995. [Dissertação de Mestrado. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].
17. Chiappini CCJ, Franco RM, Oliveira LAT. Avaliação de queijos com respeito aos mesófilos, psicrófilos coliformes totais e fecais. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**. 1995. 50, (292): 10-16, 17-21, 22-27, 25-36.
18. Coia JE, Johnston Y, Steers NJ, Hanson MF. A survey of the prevalence of *Escherichia coli* O157 in raw meats, raw cow's milk acid raw-milk cheeses in south-east Scotland. **International Journal of Food Microbiology**. 2001. 66, (1-2): 63-69.

19. Davis BD, Dilbecco R, Eisen HN, Ginsberg, HS. **Tratado de microbiologia**. Barcelona. Masson. 1996.
20. Dawson B, Trapp RG. **Basic & Clinical Biostatistics**. Third edition. McGraw Hill. 2001.
21. De Valk H, Delarocque AE, Colomb G; Ple S, Godard E, Vaillant V, Haeghebaert S, Bouvet PH, Grimont P, Desenclos JC. A community-eruption releases of *Salmonella* enterica serotype typhimurium infection associated with eating a milk raw soft cheese in France. **Epidemiology Infect.** 2000. 124, (1): 1-7.
22. Diaz R, Gamazo C, Goni Lopez I. **Manual práctico de microbiologia**. Barcelona. Masson. 1995.
23. Dólar. Disponível: <http://taxa.dolar.diario.vilabol.uol.com.br/index.html>, 2003.
24. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Whashington. Asmpres. 1997.
25. Ellis A, Preston BA, Miller B, Stone P, Hatton B, Chagla A, Hockin J. A community outbreak of *Salmonella* berta associated with a soft cheese product. **Epidemiology Infect.** 1998. 120, (1): 29-35.
26. Epi info 6 version 6.04 b. **Center for disease control & prevention**. (C.D.C.) USA. World Health Organization. Geneva. Switzerland. 1997 (2000 compliant).
27. Fehlhaber K, Janetschke P. **Higiene veterinaria de los alimentos**. Acribia. 1995.

28. Forbes BA, Sahm DF, Wessfekld AS. **Diagnostic microbiology**. Bailey & Scott's. Tenth edition. Mosby. 1998.
29. Germano MIS, Germano PML, Castro AP, Andrighetto C, Babadopulos P, Koshio, S, Pedro SCM, Colombari V. Comida de rua: Prós e contras. **Revista Higiene Alimentar**. 2000. 44, (77): 27-33.
30. Germano PML, Germano MIS. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo. Varela. 2001.
31. Gomes H, Gallo CR. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e produção de enterotoxinas por isolado de leite cru, pasteurizado tipo C e queijo Minas Frescal, comercializado em Piracicaba-SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1995. 15, (2): 158-161.
32. Hennekens CH, Buring JE. **Epidemiology in medicine**. Boston Toronto. Little, Brown and Company. 1987. 32-33.
33. Hobbs BC, Roberts D. **Higiene e toxicologia de los alimentos**. Espanha. Acribia. 1996.
34. Hoffmann FL, Silva JV, Vinturim TM. Qualidade microbiológica de queijos "Minas Frescal", vendidos em feiras livres na Região de São José do Rio Preto, SP. **Revista Higiene Alimentar**. 2002. 16 (96): 69-76.
35. Jay JM. **Modern Food Microbiology**. USA. Chapman & Hall. 1997.
36. Jurkiewicz CH. **Avaliação das características microbiológicas, físico-químicas e sensoriais de queijo Minas Frescal elaborado com culturas probióticas de *Lactobacillus acidophilus***. São Paulo. 1999. [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo].

37. Kerr-Pontes LRS, Rouquayrol MZ. A medida da saúde coletiva. In: Rouquayrol MZ, Almeida Filho N. **Epidemiologia e saúde**. 5ª ed. Medsi. Rio de Janeiro. 1999. p.68.
38. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn JR WC. **Color atlas and textbook of diagnostic microbiology**. Fifth edition. Lippincott. Whashington. 1997.
39. Macedo AC, Costa ML, Malcata F, Xavier A. Changes in the microflora of Serra cheese: evolution throughout ripening time, lactation period and axial location. **International Dairy Journal**. 1996. 6, (1): 79-94.
40. Mendonça SC, Correia RTP, Albino E. Condições higiênicas sanitárias de Mercados e Feiras Livres da Cidade de Recife- PE. **Revista Higiene Alimentar**. 2002. 16, (94): 20-25.
41. Miró A, Selgrad MR. Calidad microbiológica de los quesos blancos venezolanos analizados en el Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel": período enero 1988 a junio 1998. **Revista do Instituto Nacional de Higiene**. 1999. 30: 14-2.
42. Moura RAA, Purchio A, Rossi ALR, Strufaldi B, Nogueira DM, Hoxter G, Coutinho JO, Almeida TV. **Técnicas de laboratório**. Atheneu. 1992.
43. Nascimento D, Sabione JG, Pimenta N. Frequência de *Escherichia coli* enteropatogênica clássica (EPEC) e enteroinvasora (EIEC) em queijo tipo Minas-frescal da Cidade de Ouro Preto, MG. **Revista de Microbiologia** 1988. 19, (3): 258-62.
44. Oliveira CAF, Moreno JFG, Mestiere L, Germano PML. Características físico-químicas e microbiológicas de Queijos Minas Frescal e Mussarela

- produzidos em algumas fábricas de laticínios do Estado de São Paulo. In: **Anais V Congresso Latino Americano de Microbiologia e Higiene de Alimentos, VI Simpósio Brasileiro de Microbiologia de alimentos**. 1998. Águas de Lindóia, São Paulo. 113.
45. Pereira ML, Carmo LS, Santos EJ, Pereira JL, Bergdoll MS. Enterotoxin H in *staphylococcal* food poisoning. **Journal of Food Protection**. 1996. 59, (5): 559-561.
46. Pereira ML, Gastelois MCA, Bastos EMAF, Caiaffa WT, Faleiro ESCE. Enumeração de coliformes fecais e presença de *Salmonella* em queijo Minas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. 1999. 51, (5): 427-431.
47. Peresi JTM, Graciano RAS, Almeida IAZC, Lima SI, Ribeiro AK, Carvalho IS, Lima M. Queijo Minas tipo Frescal artesanal e industrial: qualidade microscópica, microbiológica e teste de sensibilidade aos agentes antimicrobianos. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (83): 63-70.
48. Perri LAC, Golovaty MG. **Análise dos riscos de contaminação microbiológica em alimentos comercializados por ambulantes**. São Caetano do Sul. 1998. [Monografia de graduação, Escola de Engenharia de Mauá].
49. Pinto PSA, Germano MIS, Germano PML. Queijo Minas: problema emergente de Saúde Pública. **Revista Higiene Alimentar**. 1996; 10 (44): 22-7.
50. Pinto RG, Barros CMV, Tomich TR, Ornelas EA, Junqueira RG, Pereira AJG. Perfil microbiológico do queijo Minas utilizado como matéria prima na

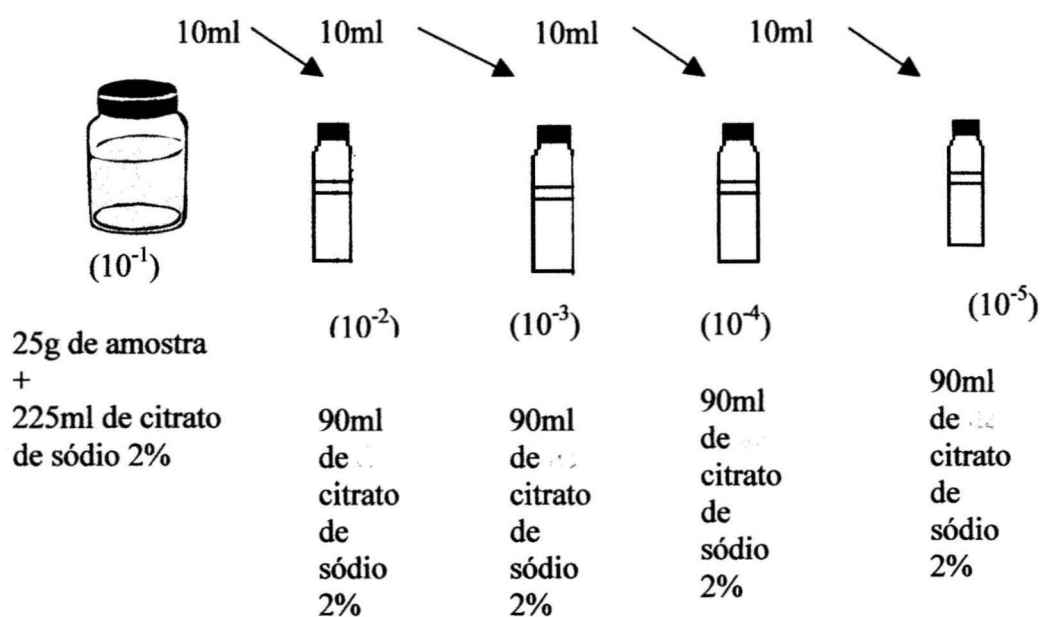
- fabricação de pão de queijo. In: **Anais do IV Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos**. 2001. Campinas, São Paulo. 331.
51. Pourshafie MR, Ssifie M, Shafiee A, Vahdani P, Aslani M, Salemian J. An outbreak of food-borne botulism associated with contaminated locally made cheese in Iran. **Scandinavian Journal Infect Disease**. 1998. 30, (1): 92-4.
52. Rabelo JA, Moulin MRI, Squilassi KMBS, Sousa WM, Vieira MCM, Souza CM. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (80-81): 119.
53. Reibnitz MGR, Tavares LBB. Isolamento de *Staphylococcus aureus* coagulase e DNase positivos a partir de queijo colonial comercializado em Blumenau. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**. 1995. 13, (1): 1-6.
54. Sabioni JG, Maia ARP. Correlação entre a população de *Staphylococcus aureus* e a atividade de termonuclease, em queijos Minas-frescal. **Revista Higiene Alimentar**. 1998. 12, (54): 48-50.
55. Santana EHW, Beloti V, Barros MAF. Microrganismos psicotróficos em leite. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (88): 27-33.
56. Santos MV, Fonseca LFL. Importância e efeito de bactérias psicotróficas sobre a qualidade do leite. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (82): 13-19.
57. São Paulo. Resolução SS 142, de 03 de maio de 1993. Norma Técnica relativa ao comércio ambulante de gêneros alimentícios. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**. São Paulo. 04 de maio de 1993.



58. São Paulo. Decreto n° 25.544, de 14 de março de 1988. Código Sanitário Municipal. **Diário Oficial do Município de São Paulo**. 15 de março de 1988.
59. São Paulo. Decreto n° 25.545, de 14 de março de 1988. Dispõe sobre o funcionamento das feiras livres no município de São Paulo. **Diário Oficial do Município de São Paulo**. São Paulo. 15 de março de 1988.
60. São Paulo. Centro de Vigilância Sanitária. Portaria CVS 6/ 99 de 10/03/1999. Regulamento Técnico sobre os parâmetros e critérios para o controle higiênico sanitário em estabelecimentos de alimentos e institui a obrigatoriedade da responsabilidade técnica. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo. 13 de março de 1999, Seção I. p.24.
61. Schuller L. As moscas domésticas e sua importância na transmissão de intoxicações e infecções alimentares. **Revista Higiene Alimentar**. 2000. 73(14):28-38.
62. Shamanova GP. Methods of infection of milk products with pathogenic microorganisms. **Molochnaya Promyshlennost**. 1998. 4: 16.
63. Silva Jr EA. **Manual de controle higiênico sanitário em alimentos**. São Paulo. Varela. 3ª ed. 1999.
64. Silva N, Junqueira VCA, Silveira NFA. **Manual de métodos e análise microbiológica de alimentos**. São Paulo. Varela. 1997.
65. Silva JV, Hoffmann FL, Mansor AP, Coelho ARV, Maria T. Estudo higiênico sanitário de queijos tipo Minas Frescal fabricados artesanalmente. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15 (80-81): 97.

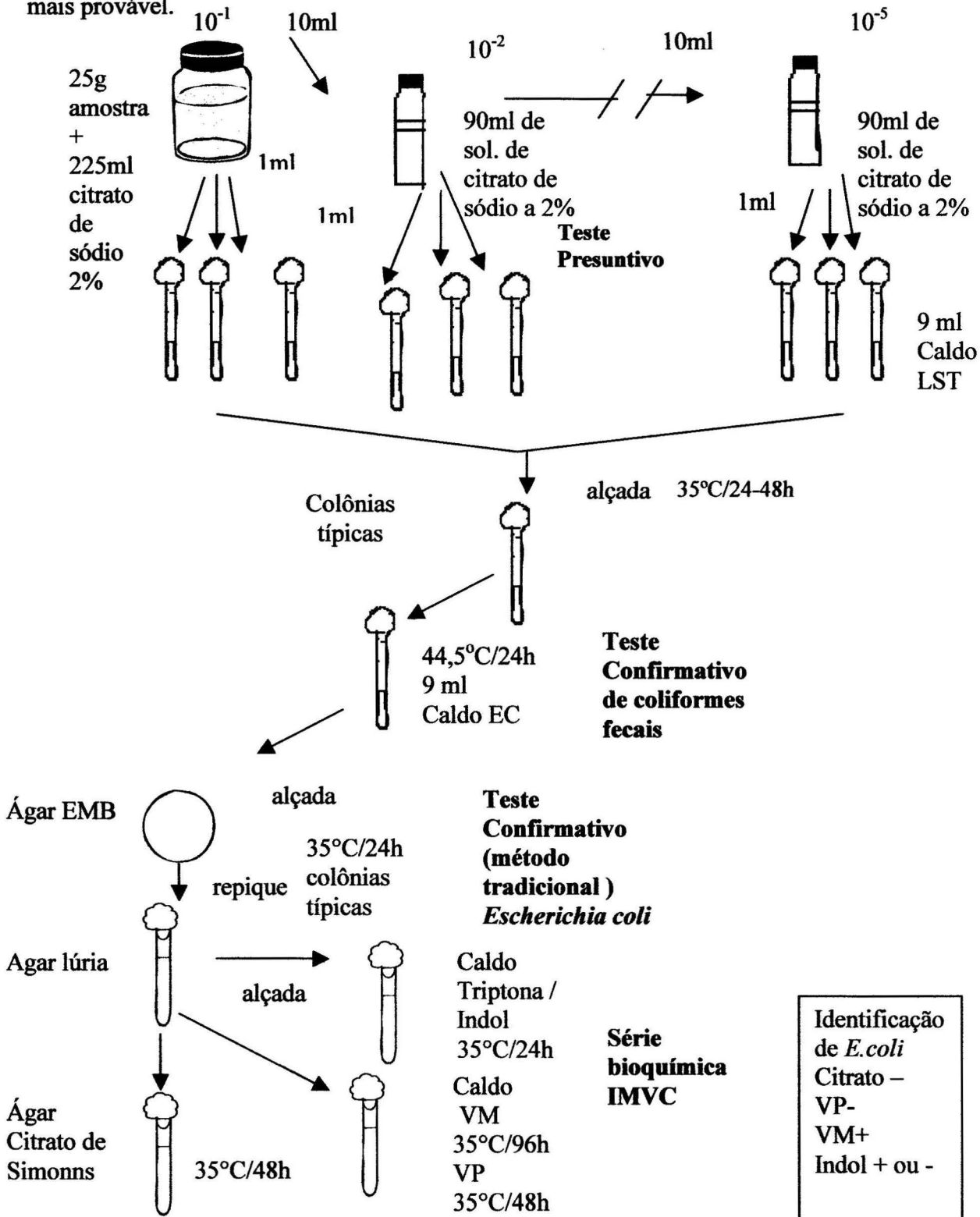
66. Siqueira, RS. **Manual de microbiologia de alimentos**. Ministério da Agricultura e do Abastecimento e Reforma Agrário EMBRAPA. Brasília. 1995.
67. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. **Microbiologia**. Artmed. 2002.
68. U.S. food & drug administration. Center for food safety & applied nutrition. **Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook** [on line] 2001. Available from: <http://www.fda.gov>.
69. Valente DA. Vigilância Sanitária e as políticas de saúde. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (87): 15-18.
70. Vanderzant C, Splittstoesser DF. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Whashington. American Public Health Association, 1992.
71. Vieira MCM, Mesquita AJ, André MCDPB, Rabelo JA, Lima SV, Silva EV. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo Minas Frescal produzida no Estado de Goiás. **Revista Higiene Alimentar**. 2001. 15, (80-81): 113.

**Anexo 1.** Esquema geral de preparação das diluições da amostra de queijo para análise microbiológica .



Fonte: SIQUEIRA 1995; DIAZ e col. 1995; KONEMAN e col. 1997; SILVA e col. 1997.

**Anexo 2.** Esquema de análise de coliformes a 45°C e *E. coli* pelo método do número mais provável.



Fonte: SIQUEIRA 1995; DIAZ e col. 1995; KONEMAN e col. 1997; SILVA e col. 1997.

### Anexo 3. Provas da série bioquímica para *E. coli*

#### 1. Reagente de Indol (Kovacs)

Incubar a colônia bacteriana semeada em caldo Triptona, por 24 horas a 35°C, adicionar 5 gotas do reagente de Kovacs. Resultado positivo: anel vermelho.

Reagente de Kovacs:

Paradimetilaminobenzaldeído-----5 g

Álcool isoamílico-----75ml

Ácido clorídrico-----25ml

(*Escherichia coli* pode ser negativa ou positiva).

#### 2. Caldo VM VP

Peptona-----7,0g

Glicose-----5,0g

Fosfato dipotássico-----5,0g

Água destilada-----1000ml

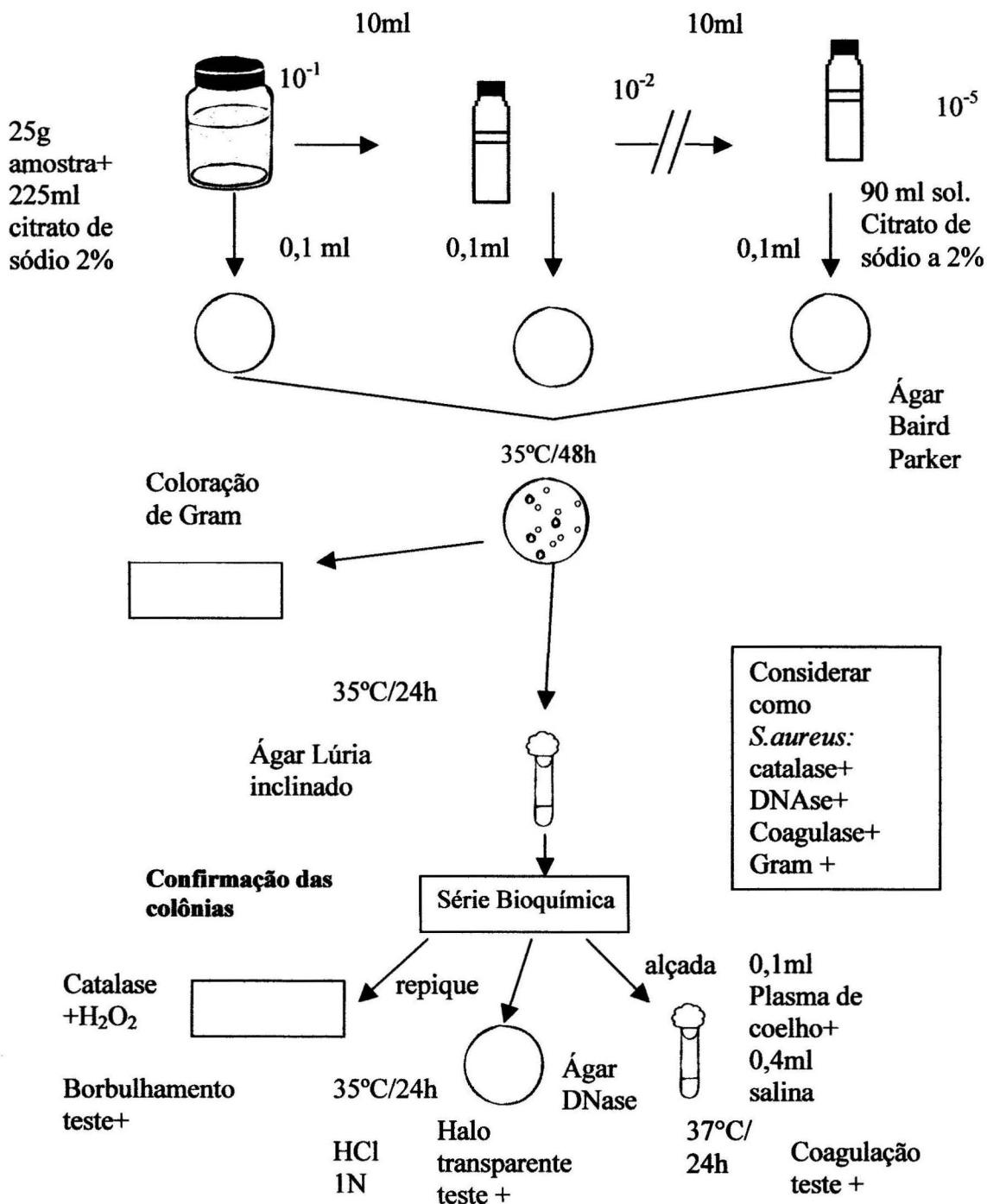
Corrigir o pH para 6,9, autoclavar a 121°C por 15 minutos, semear a cultura bacteriana e incubar a 35°C por 48 horas. Transferir 1 ml da cultura bacteriana e adicionar 0,6 ml de solução de alfa naftol a 5%, em seguida 0,2 ml de solução de hidróxido de potássio a 4 %, resultado vermelho: positivo. O restante do caldo é incubado por mais 48 horas, adicionar 5 gotas da solução de vermelho de metila, resultado positivo: vermelho (*E. coli* é positiva para VM e negativa para VP).

#### 3. Citrato de Simmons

Incubar a cultura semeada a 35°C por 48 horas, se houver crescimento é positivo, ocorrendo mudança da cor verde para o azul (*Escherichia coli* é negativa).

Fonte: SILVA e col. 1997.

**Anexo 4.** Esquema de análise para contagem de *S. aureus* em alimentos por plaqueamento direto.



Fonte: SIQUEIRA 1995; DIAZ e col. 1995; KONEMAN e col. 1997; SILVA e col. 1997.

**Anexo 5. Provas da série bioquímica para o *S. aureus*.**

## 1. Prova da catalase:

Colônia bacteriana + 2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  $\longrightarrow$  H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> Borbulhamento

## 2. Prova da DNase:

Semear a colônia, incubar por 24 horas a 35°C, adicionar ácido clorídrico, para o resultado positivo há a formação de halo transparente.

## 3. Prova da Coagulase:

Plasma de coelho-----0,1 ml

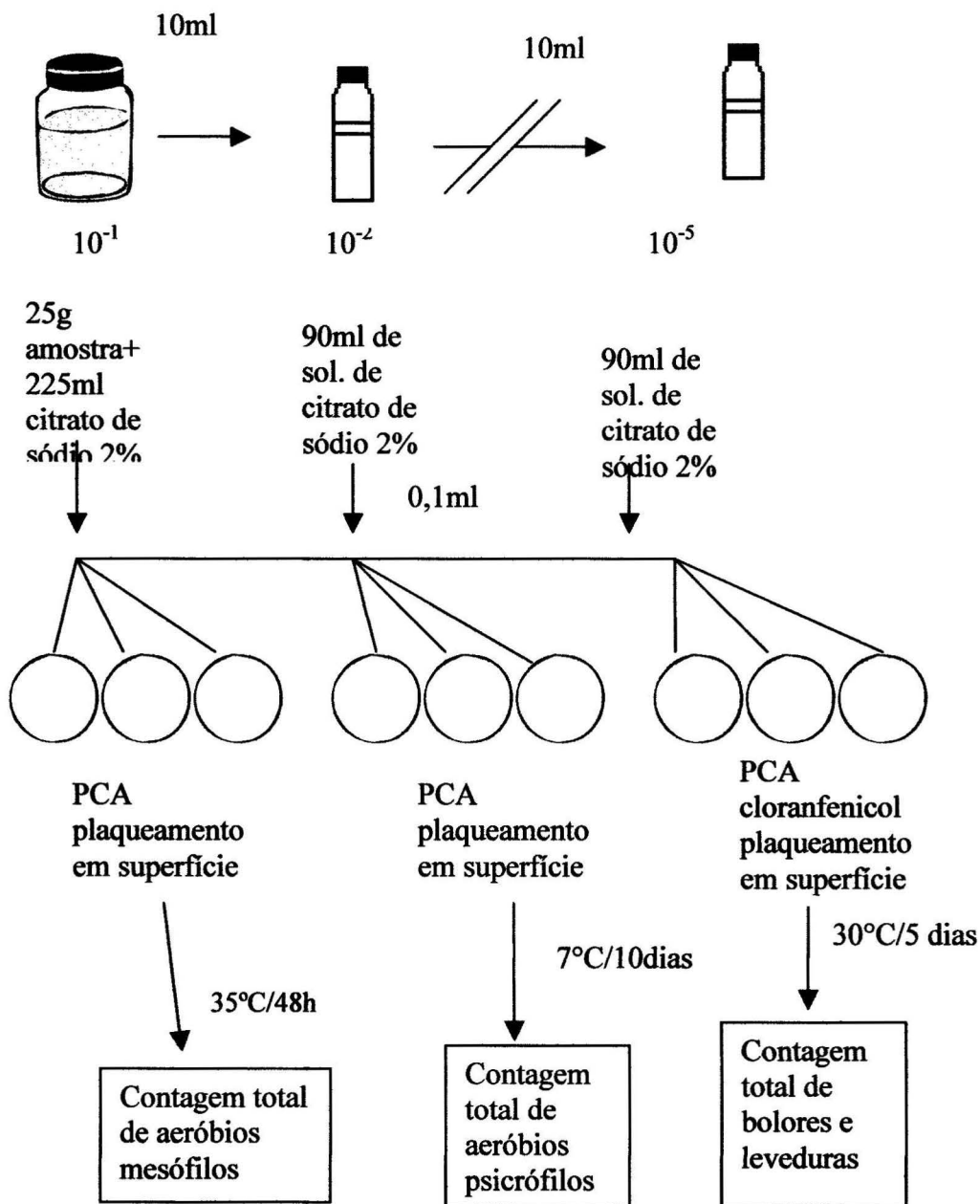
Solução fisiológica estéril-----0,4ml

Colônia bacteriana-----qsp.

Leitura em 3 – 24 horas. Formação de coágulo: positivo.

Fonte: SILVA e col. 1997.

**Anexo 6.** Esquema de análise para contagem de microrganismos mesófilos, psicrófilos e bolores / leveduras.



Fonte: SIQUEIRA 1995; DIAZ e col. 1995; KONEMAN e col. 1997; SILVA e col. 1997.



**Anexo 7. TABELA 1.** Pontuação dos locais de venda das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Ambulante</b> |                   | <b>Feira livre</b> |                  | <b>Mercado Municipal</b> |                  |
|------------------|-------------------|--------------------|------------------|--------------------------|------------------|
| <b>amostra</b>   | <b>pontuação*</b> | <b>amostra</b>     | <b>pontuação</b> | <b>amostra</b>           | <b>pontuação</b> |
| <b>1</b>         | <b>1</b>          | <b>21</b>          | <b>6</b>         | <b>41</b>                | <b>7</b>         |
| <b>2</b>         | <b>6</b>          | <b>22</b>          | <b>3</b>         | <b>42</b>                | <b>8</b>         |
| <b>3</b>         | <b>1</b>          | <b>23</b>          | <b>4</b>         | <b>43</b>                | <b>8</b>         |
| <b>4</b>         | <b>3</b>          | <b>24</b>          | <b>1</b>         | <b>44</b>                | <b>8</b>         |
| <b>5</b>         | <b>6</b>          | <b>25</b>          | <b>4</b>         | <b>45</b>                | <b>8</b>         |
| <b>6</b>         | <b>1</b>          | <b>26</b>          | <b>3</b>         | <b>46</b>                | <b>8</b>         |
| <b>7</b>         | <b>1</b>          | <b>27</b>          | <b>2</b>         | <b>47</b>                | <b>8</b>         |
| <b>8</b>         | <b>3</b>          | <b>28</b>          | <b>3</b>         | <b>48</b>                | <b>8</b>         |
| <b>9</b>         | <b>3</b>          | <b>29</b>          | <b>3</b>         | <b>49</b>                | <b>8</b>         |
| <b>10</b>        | <b>3</b>          | <b>30</b>          | <b>2</b>         | <b>50</b>                | <b>8</b>         |
| <b>11</b>        | <b>2</b>          | <b>31</b>          | <b>3</b>         | <b>51</b>                | <b>5</b>         |
| <b>12</b>        | <b>2</b>          | <b>32</b>          | <b>3</b>         | <b>52</b>                | <b>5</b>         |
| <b>13</b>        | <b>2</b>          | <b>33</b>          | <b>3</b>         | <b>53</b>                | <b>5</b>         |
| <b>14</b>        | <b>2</b>          | <b>34</b>          | <b>3</b>         | <b>54</b>                | <b>5</b>         |
| <b>15</b>        | <b>2</b>          | <b>35</b>          | <b>3</b>         | <b>55</b>                | <b>5</b>         |
| <b>16</b>        | <b>2</b>          | <b>36</b>          | <b>4</b>         | <b>56</b>                | <b>5</b>         |
| <b>17</b>        | <b>2</b>          | <b>37</b>          | <b>2</b>         | <b>57</b>                | <b>5</b>         |
| <b>18</b>        | <b>2</b>          | <b>38</b>          | <b>2</b>         | <b>58</b>                | <b>5</b>         |
| <b>19</b>        | <b>2</b>          | <b>39</b>          | <b>2</b>         | <b>59</b>                | <b>5</b>         |
| <b>20</b>        | <b>2</b>          | <b>40</b>          | <b>6</b>         | <b>60</b>                | <b>5</b>         |

\*Nota: Os itens foram pontuados:

1 para adequado e

0 para inadequado.

**Anexo 8. TABELA 2.** Temperatura das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Ambulante</b> |           | <b>Feira livre</b> |           | <b>Mercado Municipal</b> |           |
|------------------|-----------|--------------------|-----------|--------------------------|-----------|
| <b>amostra</b>   | <b>°C</b> | <b>amostra</b>     | <b>°C</b> | <b>amostra</b>           | <b>°C</b> |
| 1                | 24,2      | 21                 | 14,8      | 41                       | 33,2      |
| 2                | 22,6      | 22                 | 20,6      | 42                       | 21,9      |
| 3                | 27,4      | 23                 | 17,7      | 43                       | 22,1      |
| 4                | 27,7      | 24                 | 24,1      | 44                       | 25,8      |
| 5                | 22,4      | 25                 | 24,0      | 45                       | 23,4      |
| 6                | 29,4      | 26                 | 22,9      | 46                       | 27,1      |
| 7                | 29,4      | 27                 | 22,5      | 47                       | 27,2      |
| 8                | 23,5      | 28                 | 21,6      | 48                       | 28,7      |
| 9                | 24,0      | 29                 | 26,8      | 49                       | 26,7      |
| 10               | 25,5      | 30                 | 25,0      | 50                       | 28,1      |
| 11               | 18,0      | 31                 | 24,5      | 51                       | 21,1      |
| 12               | 17,0      | 32                 | 29,9      | 52                       | 21,2      |
| 13               | 25,6      | 33                 | 28,3      | 53                       | 21,0      |
| 14               | 20,7      | 34                 | 27,6      | 54                       | 21,0      |
| 15               | 18,9      | 35                 | 28,6      | 55                       | 18,8      |
| 16               | 23,1      | 36                 | 16,5      | 56                       | 17,3      |
| 17               | 25,7      | 37                 | 20,8      | 57                       | 16,6      |
| 18               | 22,8      | 38                 | 19,6      | 58                       | 20,3      |
| 19               | 11,6      | 39                 | 20,2      | 59                       | 13,4      |
| 20               | 14,8      | 40                 | 19,7      | 60                       | 11,8      |

**Anexo 9. TABELA 3. Preço/ kg das amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.**

| <b>Ambulante</b> |                  | <b>Feira Livre</b> |                 | <b>Mercado Municipal</b> |                 |
|------------------|------------------|--------------------|-----------------|--------------------------|-----------------|
| <b>amostra</b>   | <b>Preço*/kg</b> | <b>amostra</b>     | <b>preço/kg</b> | <b>amostra</b>           | <b>preço/kg</b> |
| <b>1</b>         | 8,0              | <b>21</b>          | 8,0             | <b>41</b>                | 6,0             |
| <b>2</b>         | 3,0              | <b>22</b>          | 7,0             | <b>42</b>                | 6,5             |
| <b>3</b>         | 6,0              | <b>23</b>          | 8,5             | <b>43</b>                | 6,5             |
| <b>4</b>         | 8,5              | <b>24</b>          | 7,0             | <b>44</b>                | 7,0             |
| <b>5</b>         | 8,0              | <b>25</b>          | 11,0            | <b>45</b>                | 3,5             |
| <b>6</b>         | 8,0              | <b>26</b>          | 9,0             | <b>46</b>                | 5,0             |
| <b>7</b>         | 7,0              | <b>27</b>          | 6,5             | <b>47</b>                | 7,0             |
| <b>8</b>         | 6,0              | <b>28</b>          | 7,0             | <b>48</b>                | 8,5             |
| <b>9</b>         | 6,5              | <b>29</b>          | 7,5             | <b>49</b>                | 5,5             |
| <b>10</b>        | 6,0              | <b>30</b>          | 11,0            | <b>50</b>                | 5,5             |
| <b>11</b>        | 6,5              | <b>31</b>          | 8,0             | <b>51</b>                | 7,5             |
| <b>12</b>        | 7,0              | <b>32</b>          | 7,0             | <b>52</b>                | 7,0             |
| <b>13</b>        | 4,0              | <b>33</b>          | 9,0             | <b>53</b>                | 7,0             |
| <b>14</b>        | 8,0              | <b>34</b>          | 8,5             | <b>54</b>                | 8,5             |
| <b>15</b>        | 8,0              | <b>35</b>          | 8,5             | <b>55</b>                | 7,5             |
| <b>16</b>        | 8,5              | <b>36</b>          | 8,5             | <b>56</b>                | 7,0             |
| <b>17</b>        | 7,0              | <b>37</b>          | 9,0             | <b>57</b>                | 7,0             |
| <b>18</b>        | 9,0              | <b>38</b>          | 7,0             | <b>58</b>                | 6,0             |
| <b>19</b>        | 4,0              | <b>39</b>          | 10,0            | <b>59</b>                | 7,0             |
| <b>20</b>        | 6,0              | <b>40</b>          | 8,5             | <b>60</b>                | 6,5             |

\*Nota: No período da pesquisa, ou seja, de 2001-2002: 1 dólar americano variou de 1,91 (jan/ 2001) até 3,53 reais (dez/ 2002) dados obtidos por meio do endereço eletrônico: <http://taxa.dolar.diario.vilabol.uol.com.br/index.html>, 2003.

**Anexo 10. TABELA 4.** NMP de coliformes a 45°C/ g de queijo nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Ambulante</b> |                      | <b>Feira Livre</b> |                      | <b>Mercado Municipal</b> |                      |
|------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|
| <b>amostra</b>   | <b>colif. fecal</b>  | <b>amostra</b>     | <b>colif. fecal</b>  | <b>amostra</b>           | <b>colif. fecal</b>  |
| 1                | < 3                  | 21                 | 2,8x10 <sup>3</sup>  | 41                       | 7,0x10               |
| 2                | < 3                  | 22                 | 1,1x10 <sup>2</sup>  | 42                       | 2,0x10 <sup>3</sup>  |
| 3                | < 3                  | 23                 | 1,1x10 <sup>2</sup>  | 43                       | 3,0x10               |
| 4                | 1,5x10 <sup>3</sup>  | 24                 | 1,1x10 <sup>7</sup>  | 44                       | < 3                  |
| 5                | < 3                  | 25                 | < 3                  | 45                       | < 3                  |
| 6                | 2,1x10 <sup>7</sup>  | 26                 | 3,0x10               | 46                       | 3,0x10               |
| 7                | 7,0x10 <sup>3</sup>  | 27                 | 7,5x10 <sup>4</sup>  | 47                       | 2,1x10 <sup>7</sup>  |
| 8                | 2,1x10 <sup>6</sup>  | 28                 | < 3                  | 48                       | 1,5x10 <sup>4</sup>  |
| 9                | 9,0x10 <sup>5</sup>  | 29                 | 2,4x10 <sup>6</sup>  | 49                       | < 3                  |
| 10               | 2,8x10 <sup>7</sup>  | 30                 | 3,0x10               | 50                       | 2,8x10 <sup>3</sup>  |
| 11               | 2,1x10 <sup>7</sup>  | 31                 | 2,1x10 <sup>6</sup>  | 51                       | 1,1x10 <sup>6</sup>  |
| 12               | >2,4x10 <sup>8</sup> | 32                 | >2,4x10 <sup>8</sup> | 52                       | 1,5x10 <sup>7</sup>  |
| 13               | 2,4x10 <sup>7</sup>  | 33                 | 1,1x10 <sup>6</sup>  | 53                       | 1,1x10 <sup>6</sup>  |
| 14               | >2,4x10 <sup>8</sup> | 34                 | 2,1x10 <sup>3</sup>  | 54                       | >2,4x10 <sup>8</sup> |
| 15               | 1,1x10 <sup>8</sup>  | 35                 | 2,4x10 <sup>7</sup>  | 55                       | 1,1x10 <sup>8</sup>  |
| 16               | 2,4x10 <sup>7</sup>  | 36                 | 2,1x10 <sup>5</sup>  | 56                       | 2,4x10 <sup>7</sup>  |
| 17               | >2,4x10 <sup>8</sup> | 37                 | 1,5x10 <sup>6</sup>  | 57                       | 1,1x10 <sup>8</sup>  |
| 18               | 2,4x10 <sup>7</sup>  | 38                 | 2,4x10 <sup>7</sup>  | 58                       | 2,1x10 <sup>7</sup>  |
| 19               | 2,4x10 <sup>6</sup>  | 39                 | 2,4x10 <sup>5</sup>  | 59                       | >2,4x10 <sup>8</sup> |
| 20               | 2,4x10 <sup>6</sup>  | 40                 | 1,1x10 <sup>8</sup>  | 60                       | 9,3x10 <sup>6</sup>  |

**Anexo 11. TABELA 5.** Pesquisa de *E. coli* detectada nos testes bioquímicos IMVC (Indol, Vermelho de Metila – Voges Proskauer, Citrato de Simmons) nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Ambulante</b> |               | <b>Feira Livre</b> |               | <b>Mercado municipal</b> |               |
|------------------|---------------|--------------------|---------------|--------------------------|---------------|
| <b>amostra</b>   | <i>E.coli</i> | <b>amostra</b>     | <i>E.coli</i> | <b>amostra</b>           | <i>E.coli</i> |
| <b>1</b>         | 0*            | <b>21</b>          | 0             | <b>41</b>                | 0             |
| <b>2</b>         | 0             | <b>22</b>          | 0             | <b>42</b>                | 1             |
| <b>3</b>         | 0             | <b>23</b>          | 0             | <b>43</b>                | 0             |
| <b>4</b>         | 0             | <b>24</b>          | 0             | <b>44</b>                | 0             |
| <b>5</b>         | 0             | <b>25</b>          | 0             | <b>45</b>                | 0             |
| <b>6</b>         | 0             | <b>26</b>          | 0             | <b>46</b>                | 0             |
| <b>7</b>         | 0             | <b>27</b>          | 0             | <b>47</b>                | 1             |
| <b>8</b>         | 0             | <b>28</b>          | 0             | <b>48</b>                | 1             |
| <b>9</b>         | 1             | <b>29</b>          | 0             | <b>49</b>                | 0             |
| <b>10</b>        | 0             | <b>30</b>          | 0             | <b>50</b>                | 0             |
| <b>11</b>        | 0             | <b>31</b>          | 0             | <b>51</b>                | 0             |
| <b>12</b>        | 0             | <b>32</b>          | 0             | <b>52</b>                | 1             |
| <b>13</b>        | 0             | <b>33</b>          | 0             | <b>53</b>                | 0             |
| <b>14</b>        | 0             | <b>34</b>          | 0             | <b>54</b>                | 0             |
| <b>15</b>        | 0             | <b>35</b>          | 1             | <b>55</b>                | 0             |
| <b>16</b>        | 0             | <b>36</b>          | 0             | <b>56</b>                | 0             |
| <b>17</b>        | 1             | <b>37</b>          | 0             | <b>57</b>                | 0             |
| <b>18</b>        | 0             | <b>38</b>          | 0             | <b>58</b>                | 0             |
| <b>19</b>        | 1             | <b>39</b>          | 0             | <b>59</b>                | 0             |
| <b>20</b>        | 1             | <b>40</b>          | 0             | <b>60</b>                | 0             |

\*Nota: 0 significa ausência e

1 significa presença.

**Anexo 12. TABELA 6.** Contagem de ufc de *S. aureus* coagulase positiva/ g de queijo, nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Ambulante</b> |                     | <b>Feira livre</b> |                     | <b>Mercado municipal</b> |                     |
|------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------------|---------------------|
| <b>amostra</b>   | <i>S.aureus</i>     | <b>amostra</b>     | <i>S.aureus</i>     | <b>amostra</b>           | <i>S.aureus</i>     |
| <b>1</b>         | 7,5x10 <sup>4</sup> | <b>21</b>          | 0                   | <b>41</b>                | 0                   |
| <b>2</b>         | 1,0x10 <sup>6</sup> | <b>22</b>          | 0                   | <b>42</b>                | 0                   |
| <b>3</b>         | 1,1x10 <sup>4</sup> | <b>23</b>          | 0                   | <b>43</b>                | 0                   |
| <b>4</b>         | 10 <sup>2</sup>     | <b>24</b>          | 0                   | <b>44</b>                | 0                   |
| <b>5</b>         | 0                   | <b>25</b>          | 0                   | <b>45</b>                | 0                   |
| <b>6</b>         | 3,4x10 <sup>3</sup> | <b>26</b>          | 0                   | <b>46</b>                | 0                   |
| <b>7</b>         | 2,6x10 <sup>6</sup> | <b>27</b>          | 0                   | <b>47</b>                | 0                   |
| <b>8</b>         | 1,6x10 <sup>5</sup> | <b>28</b>          | 0                   | <b>48</b>                | 0                   |
| <b>9</b>         | 10 <sup>2</sup>     | <b>29</b>          | 0                   | <b>49</b>                | 0                   |
| <b>10</b>        | 5,2x10 <sup>6</sup> | <b>30</b>          | 0                   | <b>50</b>                | 0                   |
| <b>11</b>        | 0                   | <b>31</b>          | 10 <sup>2</sup>     | <b>51</b>                | 0                   |
| <b>12</b>        | 0                   | <b>32</b>          | 1,0x10 <sup>6</sup> | <b>52</b>                | 2,0x10 <sup>3</sup> |
| <b>13</b>        | 1,0x10 <sup>3</sup> | <b>33</b>          | 0                   | <b>53</b>                | 6,0x10 <sup>3</sup> |
| <b>14</b>        | 1,0x10 <sup>5</sup> | <b>34</b>          | 1,0x10 <sup>3</sup> | <b>54</b>                | 0                   |
| <b>15</b>        | 0                   | <b>35</b>          | 2,0x10 <sup>3</sup> | <b>55</b>                | 0                   |
| <b>16</b>        | 1,0x10 <sup>3</sup> | <b>36</b>          | 0                   | <b>56</b>                | 1,0x10 <sup>4</sup> |
| <b>17</b>        | 1,1x10 <sup>4</sup> | <b>37</b>          | 0                   | <b>57</b>                | 0                   |
| <b>18</b>        | 0                   | <b>38</b>          | 1,0x10 <sup>3</sup> | <b>58</b>                | 1,0x10 <sup>4</sup> |
| <b>19</b>        | 0                   | <b>39</b>          | 1,0x10 <sup>5</sup> | <b>59</b>                | 0                   |
| <b>20</b>        | 0                   | <b>40</b>          | 0                   | <b>60</b>                | 0                   |

**Anexo 13. TABELA 7. Contagem de mesófilos nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.**

| Ambulante |                   | Feira livre |                   | Mercado municipal |                   |
|-----------|-------------------|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| amostra   | mesófilos         | amostra     | mesófilos         | amostra           | mesófilos         |
| 1         | $9,7 \times 10^7$ | 21          | $8,9 \times 10^7$ | 41                | $3,4 \times 10^6$ |
| 2         | $5,7 \times 10^7$ | 22          | $3,7 \times 10^7$ | 42                | $1,8 \times 10^7$ |
| 3         | $1,4 \times 10^8$ | 23          | $2,6 \times 10^7$ | 43                | $2,3 \times 10^7$ |
| 4         | $7,6 \times 10^7$ | 24          | $2,3 \times 10^7$ | 44                | $3,0 \times 10^6$ |
| 5         | $2,3 \times 10^5$ | 25          | $3,0 \times 10^8$ | 45                | $2,2 \times 10^6$ |
| 6         | $1,6 \times 10^8$ | 26          | $1,3 \times 10^7$ | 46                | $4,2 \times 10^6$ |
| 7         | $5,4 \times 10^7$ | 27          | $4,9 \times 10^7$ | 47                | $2,3 \times 10^7$ |
| 8         | $2,0 \times 10^8$ | 28          | $2,2 \times 10^7$ | 48                | $1,1 \times 10^7$ |
| 9         | $3,0 \times 10^8$ | 29          | $1,4 \times 10^7$ | 49                | $3,6 \times 10^5$ |
| 10        | $7,8 \times 10^7$ | 30          | $3,4 \times 10^7$ | 50                | $1,0 \times 10^7$ |
| 11        | $1,8 \times 10^8$ | 31          | $1,6 \times 10^8$ | 51                | $7,1 \times 10^7$ |
| 12        | $2,2 \times 10^8$ | 32          | $2,4 \times 10^9$ | 52                | $2,4 \times 10^9$ |
| 13        | $2,0 \times 10^8$ | 33          | $2,4 \times 10^9$ | 53                | $2,4 \times 10^9$ |
| 14        | $2,4 \times 10^9$ | 34          | $1,0 \times 10^8$ | 54                | $2,4 \times 10^9$ |
| 15        | $1,2 \times 10^8$ | 35          | $7,5 \times 10^7$ | 55                | $2,4 \times 10^9$ |
| 16        | $1,0 \times 10^8$ | 36          | $7,8 \times 10^7$ | 56                | $2,0 \times 10^8$ |
| 17        | $2,4 \times 10^9$ | 37          | $3,5 \times 10^7$ | 57                | $5,0 \times 10^7$ |
| 18        | $2,4 \times 10^9$ | 38          | $1,4 \times 10^8$ | 58                | $2,4 \times 10^8$ |
| 19        | $2,4 \times 10^9$ | 39          | $4,5 \times 10^7$ | 59                | $2,0 \times 10^8$ |
| 20        | $1,5 \times 10^8$ | 40          | $1,7 \times 10^8$ | 60                | $2,7 \times 10^8$ |

**Anexo 14. TABELA 8.** Contagem de psicrófilos nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Amostra</b> |                    | <b>Feira livre</b> |                    | <b>Mercado municipal</b> |                    |
|----------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------|--------------------|
| <b>amostra</b> | <b>psicrófilos</b> | <b>amostra</b>     | <b>psicrófilos</b> | <b>amostra</b>           | <b>psicrófilos</b> |
| <b>1</b>       | $1,1 \times 10^4$  | <b>21</b>          | $1,6 \times 10^6$  | <b>41</b>                | $8,9 \times 10^4$  |
| <b>2</b>       | $3,3 \times 10^5$  | <b>22</b>          | $3,9 \times 10^6$  | <b>42</b>                | $4,3 \times 10^6$  |
| <b>3</b>       | $2,1 \times 10^4$  | <b>23</b>          | $4,2 \times 10^5$  | <b>43</b>                | $8,6 \times 10^5$  |
| <b>4</b>       | $9,6 \times 10^7$  | <b>24</b>          | $4,9 \times 10^5$  | <b>44</b>                | $1,0 \times 10^5$  |
| <b>5</b>       | $5,6 \times 10^6$  | <b>25</b>          | $5,9 \times 10^4$  | <b>45</b>                | $2,1 \times 10^5$  |
| <b>6</b>       | $2,4 \times 10^7$  | <b>26</b>          | $1,7 \times 10^4$  | <b>46</b>                | $8,0 \times 10^4$  |
| <b>7</b>       | $1,1 \times 10^6$  | <b>27</b>          | $3,2 \times 10^5$  | <b>47</b>                | $1,6 \times 10^4$  |
| <b>8</b>       | $1,9 \times 10^7$  | <b>28</b>          | $4,6 \times 10^5$  | <b>48</b>                | $1,5 \times 10^6$  |
| <b>9</b>       | $1,7 \times 10^7$  | <b>29</b>          | $4,5 \times 10^5$  | <b>49</b>                | $7,3 \times 10^5$  |
| <b>10</b>      | $1,4 \times 10^7$  | <b>30</b>          | $6,1 \times 10^6$  | <b>50</b>                | $2,5 \times 10^5$  |
| <b>11</b>      | $3,5 \times 10^6$  | <b>31</b>          | $6,2 \times 10^7$  | <b>51</b>                | $8,0 \times 10^5$  |
| <b>12</b>      | $2,0 \times 10^5$  | <b>32</b>          | $3,4 \times 10^6$  | <b>52</b>                | $4,0 \times 10^4$  |
| <b>13</b>      | $2,0 \times 10^6$  | <b>33</b>          | $6,0 \times 10^6$  | <b>53</b>                | $7,0 \times 10^4$  |
| <b>14</b>      | $4,0 \times 10^5$  | <b>34</b>          | $8,4 \times 10^8$  | <b>54</b>                | $1,7 \times 10^6$  |
| <b>15</b>      | $3,0 \times 10^5$  | <b>35</b>          | $1,1 \times 10^9$  | <b>55</b>                | $1,4 \times 10^6$  |
| <b>16</b>      | $1,0 \times 10^4$  | <b>36</b>          | $9,6 \times 10^7$  | <b>56</b>                | $2,4 \times 10^7$  |
| <b>17</b>      | $1,0 \times 10^6$  | <b>37</b>          | $1,6 \times 10^4$  | <b>57</b>                | $2,1 \times 10^7$  |
| <b>18</b>      | $5,0 \times 10^4$  | <b>38</b>          | $5,0 \times 10^7$  | <b>58</b>                | $1,4 \times 10^7$  |
| <b>19</b>      | $6,0 \times 10^7$  | <b>39</b>          | $4,5 \times 10^7$  | <b>59</b>                | $3,5 \times 10^5$  |
| <b>20</b>      | $1,3 \times 10^8$  | <b>40</b>          | $1,2 \times 10^8$  | <b>60</b>                | $1,5 \times 10^5$  |



**Anexo 15. TABELA 9.** Contagem de bolores e leveduras nas amostras de queijo Minas meia cura comercializado na cidade de São Paulo, 2001 – 2002.

| <b>Ambulante</b> |                   | <b>Feira livre</b> |                   | <b>Mercado municipal</b> |                   |
|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
| <b>amostra</b>   | <b>bol/lev</b>    | <b>amostra</b>     | <b>bol/lev</b>    | <b>amostra</b>           | <b>bol/lev</b>    |
| 1                | $5,6 \times 10^6$ | 21                 | $2,5 \times 10^6$ | 41                       | $3,3 \times 10^4$ |
| 2                | $2,7 \times 10^4$ | 22                 | $1,9 \times 10^6$ | 42                       | $2,0 \times 10^5$ |
| 3                | $1,4 \times 10^8$ | 23                 | $3,2 \times 10^6$ | 43                       | $1,1 \times 10^6$ |
| 4                | $1,6 \times 10^8$ | 24                 | $8,6 \times 10^5$ | 44                       | $4,2 \times 10^6$ |
| 5                | $1,1 \times 10^7$ | 25                 | $9,3 \times 10^4$ | 45                       | $5,2 \times 10^5$ |
| 6                | $3,8 \times 10^5$ | 26                 | $1,1 \times 10^6$ | 46                       | $1,1 \times 10^5$ |
| 7                | $5,5 \times 10^5$ | 27                 | $1,6 \times 10^6$ | 47                       | $2,3 \times 10^5$ |
| 8                | $1,9 \times 10^7$ | 28                 | $2,0 \times 10^5$ | 48                       | $3,7 \times 10^6$ |
| 9                | $3,0 \times 10^9$ | 29                 | $1,1 \times 10^6$ | 49                       | $1,6 \times 10^6$ |
| 10               | $1,5 \times 10^8$ | 30                 | $3,1 \times 10^7$ | 50                       | $1,3 \times 10^7$ |
| 11               | $6,5 \times 10^7$ | 31                 | $1,2 \times 10^8$ | 51                       | $2,5 \times 10^7$ |
| 12               | $8,7 \times 10^7$ | 32                 | $2,3 \times 10^8$ | 52                       | $9,0 \times 10^7$ |
| 13               | $9,0 \times 10^7$ | 33                 | $1,2 \times 10^8$ | 53                       | $1,5 \times 10^6$ |
| 14               | $4,6 \times 10^7$ | 34                 | $7,0 \times 10^7$ | 54                       | $2,1 \times 10^7$ |
| 15               | $1,8 \times 10^7$ | 35                 | $3,8 \times 10^7$ | 55                       | $2,4 \times 10^7$ |
| 16               | $5,5 \times 10^6$ | 36                 | $5,7 \times 10^7$ | 56                       | $2,7 \times 10^5$ |
| 17               | $4,6 \times 10^7$ | 37                 | $6,0 \times 10^7$ | 57                       | $1,0 \times 10^8$ |
| 18               | $1,0 \times 10^6$ | 38                 | $8,6 \times 10^7$ | 58                       | $9,3 \times 10^7$ |
| 19               | $2,7 \times 10^7$ | 39                 | $4,2 \times 10^6$ | 59                       | $2,0 \times 10^7$ |
| 20               | $5,4 \times 10^7$ | 40                 | $7,5 \times 10^7$ | 60                       | $1,0 \times 10^7$ |