

A IMPORTÂNCIA DAS BACTÉRIAS LÁTICAS NA SEGURANÇA E QUALIDADE DOS QUEIJOS MINAS ARTESANAIS

The role of lactic acid bacteria in the safety and quality of Minas artisanal cheeses

Marina Barroso de Antonio^{1}, Beatriz Martins Borelli¹*

RESUMO

O queijo Minas artesanal é um produto que possui aroma, textura e sabor únicos, além de sua produção fazer parte de toda uma tradição e cultura familiar. O leite cru, matéria prima para fabricação desse queijo, possui naturalmente microrganismos benéficos, conhecidos como bactérias ácido-láticas, responsáveis pelas características organolépticas e segurança microbiológica do queijo, uma vez que produzem diversas substâncias durante sua maturação, inclusive antimicrobianas, que podem ser antagonistas de patógenos. A seguinte revisão apresenta informações sobre a atividade antagonista das bactérias láticas e sua capacidade de garantir a segurança e qualidade do queijo artesanal.

Palavras-chave: bacteriocina; maturação; patógeno.

ABSTRACT

Artisanal Minas cheese is a product that has a unique aroma, texture, and flavor, in addition, its production is part of a family tradition and culture. Raw milk, the raw material used for making this cheese, naturally has benefic microorganisms, known as lactic acid bacteria, responsible for the organoleptic characteristics and microbiological safety of the cheese, since they produce many substances during ripening, including antimicrobials, which can be antagonists of pathogens. The following review presents information on the antagonistic activity of lactic acid bacteria and their ability to guarantee the safety and quality of artisanal cheese.

Keywords: bacteriocin; ripening; pathogen.

1 Pontificia Universidade Católica de Minas Gerais, Campus Coração Eucarístico, Av. Dom José Gaspar, 500, Coração Eucarístico, 30535-901, Belo Horizonte, MG, Brasil. E-mail: marinabantonio@gmail.com

* Autor para correspondência

Recebido / Received: 14/01/2020
Aprovado / Approved: 24/08/2020

INTRODUÇÃO

A produção de queijos artesanais baseia-se na tradição e cultura histórica de um povo ou região e são fabricados utilizando técnicas passadas de geração em geração que nem sempre atendem ao padrão sanitário previsto nas legislações ou nas Boas Práticas de Fabricação. Apesar disto, a procura por esses produtos consiste na busca por um alimento de origem conhecida, elaborado de forma artesanal, com utilização de insumos naturais, podendo o consumidor ter contato direto com o produtor, gerando uma relação de confiança, ao contrário do produto industrializado, em que não se conhece o processo de produção (ZUIN; ZUIN, 2008; CRUZ; SCHNEIDER, 2010).

No estado de Minas Gerais, um dos principais produtos tradicionais é o Queijo Minas Artesanal produzido a partir do leite cru, não pasteurizado. Pelo fato desse tipo de queijo ser fabricado com leite não pasteurizado, pode ocorrer a presença ou contaminação por microrganismos patogênicos indesejáveis como coliformes, *Staphylococcus aureus*, *Listeria ssp.*, *Brucella ssp.*, *Salmonella ssp.* e outros, podendo causar intoxicações e/ou infecções alimentares e em alguns casos levar à morte (OLIVEIRA, 2014; MELLO *et al.* 2010).

Porém, entre os surtos de intoxicação alimentar, aqueles causados pela ingestão de queijos artesanais não têm maior prevalência, possivelmente devido a outros fatores de proteção que esses queijos apresentam. Um desses fatores é a presença de bactérias lácticas capazes de produzir diversos metabólitos, dentre eles as bacteriocinas, que apresentam efeitos tóxicos contra bactérias patogênicas (HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017; OLIVEIRA, 2014).

O fermento utilizado na fabricação do queijo Minas artesanal é conhecido como pingo, que corresponde ao soro que escorre

dos queijos cobertos com sal grosso que foram produzidos no dia anterior, rico em bactérias. Essas bactérias são as bactérias lácticas, responsáveis pela fermentação, maturação, sabor e texturas únicos desse queijo. Além disso, essas bactérias são capazes de inibir o crescimento de patógenos no queijo, melhorando a qualidade e segurança microbiológica desse produto (AMORIM, 2013).

Este trabalho de revisão teve como objetivo apresentar informações sobre a atividade antagonista das bactérias lácticas sobre possíveis microrganismos patogênicos presentes no queijo Minas artesanal.

REFERENCIAL TEÓRICO

Os queijos Minas artesanais

No estado de Minas Gerais, o início da produção queijeira ocorreu no século XVIII, trazida pelos portugueses que já fabricavam o queijo na Serra da Estrela, em Portugal, e a partir de então essa cultura se firmou, principalmente neste estado, tornando-se uma herança que foi passada de geração em geração. Atualmente o modo artesanal de fazer o Queijo Minas é reconhecido como Patrimônio Cultural Imaterial Brasileiro pelo IPHAN (BRASIL, 2008; RAFAEL, 2017). Hoje existem sete regiões reconhecidas como produtoras tradicionais do queijo Minas artesanal: Araxá, Campos das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serra do Salitre, Serro e Triângulo Mineiro (EMATER, 2019).

O queijo Minas artesanal é um produto elaborado a partir do leite cru, conforme a tradição histórica e cultural de cada região, não apresentando uma padronização, por ser produzido em diferentes locais com diferentes processos de produção, possuindo uma diversidade de sabores e texturas de acordo com o ambiente, o clima, o tipo de pastagem e o fermento utilizado (OLIVEIRA, 2014; LIMA; LEAL, 2017; RAFAEL, 2017).

É comum a todos os processos de fabricação do queijo Minas artesanal o uso do fermento endógeno, ou pingo. Todo o processo fermentativo é conduzido pela microbiota presente no leite e no ambiente, sendo representada, em sua maior parte, por bactérias ácido-láticas (RAFAEL, 2017; AMORIM, 2013). A microbiota presente em cada produto depende das características do ambiente e do tipo de nutrição dos animais, variando de acordo com o local da produção. Por isto cada queijo apresenta suas próprias peculiaridades, apresentando grande variabilidade entre cada tipo (OLIVEIRA, 2014).

A maturação dos queijos é de suma importância para garantir a qualidade do produto. Depende de diversos fatores, como temperatura e pH adequados para o desenvolvimento das bactérias ácido-láticas, possibilitando obter as características sensoriais desejadas e a segurança microbiológica do produto final (RESENDE, 2014; RAFAEL, 2017; PEHRSON, 2017).

Durante a maturação ocorre o processo de fermentação do açúcar do leite, com a produção de uma grande quantidade de enzimas proteolíticas, glicolíticas e lipolíticas, responsáveis pelo desenvolvimento da textura e *flavor* dos queijos, e, são produzidos, também, ácido lático e outras substâncias antimicrobianas, como as bacteriocinas, controlando e inibindo o crescimento da microbiota patogênica indesejável (RAFAEL, 2017).

Devido a esta variedade de processos de fabricação e por se utilizar o leite cru, sem o tratamento térmico pela pasteurização, o queijo artesanal encontra diversos entraves em sua regulamentação. A primeira regulamentação sobre os queijos artesanais foi a Resolução nº 7, de 2000, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), que estabelecia um período de maturação de 60 dias para os queijos fabricados com leite

cru, período esse considerado muito longo, podendo comprometer as características sensoriais do queijo artesanal (BRASIL, 2000; DINIZ, 2013; RAFAEL, 2017).

Após diversos estudos, foi publicado o Decreto nº 44.864, de 1º de agosto de 2008, permitindo a comercialização, apenas dentro do estado de Minas Gerais, de queijos com menos de 60 dias de maturação, desde que sua segurança fosse comprovada. Porém, como forma de esclarecer diversas questões, esse Decreto foi reformulado através da publicação da Instrução Normativa nº 57, de 2011, pelo MAPA, permitindo a comercialização em outros estados brasileiros, sendo atualizada (revogada) pela Instrução Normativa nº 30 de 07 de agosto de 2013 (MINAS GERAIS, 2008; RAFAEL, 2017; BRASIL, 2011; BRASIL, 2013; DINIZ, 2013).

Em 2012 foi publicada, em Minas Gerais, a Lei nº 20.549, que estabelece como obrigação do estado a fiscalização de todo processo produtivo do queijo Minas artesanal, além de reconhecer outras novas variedades de queijos artesanais (MINAS GERAIS, 2012; DINIZ, 2013).

O período de maturação do queijo Minas artesanal, feito com leite cru, foi determinado através da Portaria nº1305 do IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária), definindo um período de 17 dias de maturação para o queijo do Serro e 22 dias para Canastra, Araxá, Cerrado e Campo das Vertentes (MINAS GERAIS, 2013).

Por fim, em 18 de dezembro de 2018, entrou em vigor a Lei nº 23.157, revogando a lei de 2012, e, juntamente com a Lei Federal nº 13.680/2018, oficializa a produção artesanal de queijo, reconhecendo diferentes variedades e tipos de queijos, que deverão ser identificados, em todo território nacional, pelo selo ARTE, sendo inspecionado e fiscalizado, prioritariamente, de maneira orientadora, a fim de capacitar os produtores (MINAS GERAIS, 2018; BRASIL, 2018).

Segurança microbiológica

Afirmar que um alimento é seguro significa dizer que ele não oferece risco à saúde do consumidor, ou seja, é um produto fabricado com os cuidados higiênicos-sanitários necessários, livre de qualquer perigo físico, químico ou biológico (RESENDE, 2014).

As intoxicações e infecções alimentares, também conhecidas como Doenças Transmitidas por Alimentos, provocadas por microrganismos patogênicos, têm aumentado e são consideradas uma importante causa de morte, já que a contaminação alimentar é bastante comum devido a presença de microrganismos no ambiente, nos animais, plantas e no próprio homem (AMORIM, 2013).

Uma das principais causas de contaminação de alimentos é a manipulação inadequada, tanto da matéria-prima quanto dos utensílios de trabalho, devido a uma higienização deficiente dos equipamentos e pessoal, como higienização incorreta das mãos, conversar ou tossir durante o preparo dos alimentos, e a não utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI), como toucas, aventais, máscaras e luvas (SILVA, 2015).

O leite, utilizado na produção do queijo, se encontra estéril dentro do úbere de um animal saudável. Entretanto, durante o processo da ordenha, o leite passa a ter contato com o meio externo e todos os possíveis microrganismos, sendo necessária uma correta higienização do manipulador, do úbere e dos utensílios utilizados, a fim de minimizar a contaminação do leite. Além disso, o processo de pasteurização, que consiste no tratamento térmico do leite, pode eliminar os microrganismos patogênicos (DINIZ, 2013).

Os queijos artesanais, por serem fabricados utilizando leite cru e técnicas tradicionais de origem familiar e cultural, sem

o uso de procedimentos tecnológicos, como a pasteurização, podem conter patógenos. Porém, mesmo os queijos fabricados com leite pasteurizado podem sofrer contaminação, caso ocorra falhas durante sua manipulação devido à higienização deficiente (CARVALHO, 2015; DINIZ, 2013).

Para que os queijos artesanais sejam considerados seguros é necessário que o leite seja proveniente de um rebanho sadio, que a água destinada à produção do queijo seja de qualidade e o processamento e estocagem sejam feitos de maneira higiênica, a fim de manter parâmetros microbiológicos recomendados (RESENDE, 2014; DINIZ, 2013).

Um leite de qualidade não deve conter bactérias patogênicas, nem corpos estranhos ou produtos químicos como antibióticos, indicando que as vacas eram sadias e o rebanho não apresenta nenhuma doença infectocontagiosa. Além disso, a água utilizada durante todo processamento do leite até o queijo deve estar dentro dos padrões físicos, químicos e microbiológicos, evitando a contaminação do produto por microrganismos indesejáveis veiculados pela água (CARVALHO, 2015).

Existem alguns padrões microbiológicos, exigidos pela Resolução RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001), baseados na contagem máxima aceitável de microrganismos presentes no queijo, para que o Queijo Minas Artesanal apresente segurança alimentar e seja aceito no mercado consumidor. Os parâmetros microbiológicos avaliados são: presença de coliformes a 30 °C e 45 °C, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Listeria* sp. e *Salmonella* sp., sendo que apenas a presença de *Listeria* ou *Salmonella*, independente da contagem, é inaceitável (BRASIL, 2001; RESENDE, 2014).

Os coliformes totais ou a 30 °C são bactérias Gram negativas, em forma de bacilos, encontradas nas fezes, no meio

ambiente e no solo. Fazem parte desse grupo os gêneros *Enterobacter*, *Escherichia*, *Citrobacter* e *Klebsiella*. Apenas a *Escherichia coli* é colonizadora primária do trato intestinal de animais e do homem. São utilizados como indicadores higiênico-sanitários e sua presença nos queijos ou em outros alimentos indica que houve deficiência nos processos de limpeza, produção e estocagem, com contaminação durante ou após o processamento (DINIZ, 2013; CARVALHO, 2015; RESENDE, 2014).

Já os coliformes termotolerantes ou a 45 °C, quando presentes, indicam que possivelmente houve contato do alimento com material de origem fecal e o principal indicador dessa contaminação é a *E. coli*, presente em aproximadamente 90% dos casos. Essa bactéria é patogênica e causadora de gastroenterites agudas e hemorrágicas (CARVALHO, 2015; AMORIM, 2013)

O gênero *Staphylococcus* inclui diversas espécies de bactérias, sendo a mais importante a *Staphylococcus aureus* coagulase positiva, pois é a principal responsável por intoxicações alimentares devido à produção de toxinas, que, mesmo após a destruição da bactéria, pelo tratamento térmico, permanecem ativas nos alimentos (RESENDE, 2014; AMORIM, 2013). A presença de *S.aureus* nos queijos ou outros alimentos está relacionada à manipulação indevida, já que esse microrganismo pode ser encontrado em humanos e animais, colonizando a pele, as narinas e outras cavidades externas do corpo. Pode estar associada também a casos de mastite bovina (DINIZ, 2013; RESENDE, 2014).

A *Salmonella* sp. é um importante patógeno gastrointestinal, responsável por graves intoxicações alimentares. Encontra-se amplamente distribuída no ambiente e pode sobreviver em alimentos por um longo período de tempo, sendo considerada um grave problema de saúde pública. Devido a isto, foi estabelecido pela legislação brasileira a sua ausência em 25 gramas de amostra de

qualquer alimento (DINIZ, 2013; AMORIM, 2013).

Fazem parte do gênero *Listeria* seis espécies principais, a *L.monocytogenes*, *L.ivanovii*, *L.seeligeri*, *L.innocua*, *L.welshimeri* e *L.grayi*, sendo a *L.monocytogenes* considerada a mais patogênica e de alta letalidade. É encontrada principalmente no solo e em vegetais, podendo facilmente contaminar alimentos *in natura*, como o leite cru e o queijo artesanal, e representando uma importante parcela dos casos de infecção alimentar. Por isto, assim como a *Salmonella*, deve estar ausente em 25 gramas de amostra alimentar (AMORIM, 2013; RESENDE, 2014).

As bactérias ácido-láticas

As bactérias ácido-láticas (BAL) são Gram-positivas, catalase negativa, não patogênicas, sendo os principais microrganismos cultiváveis, presentes no leite cru, representando 20% a 30% das espécies (PEHRSON, 2017; RAFAEL, 2017). Os gêneros, na maior parte do leite bovino, são *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e *Pediococcus* (PEHRSON, 2017).

As BAL são responsáveis pela fermentação do leite e podem ser divididas em dois grupos distintos, as homofermentadoras, que produzem, principalmente, ácido lático, ao fermentar a glicose, e as heterofermentadoras, que geram outros produtos como lactato, dióxido de carbono, ácido acético, diacetil e etanol (OLIVEIRA, 2014; BRUNO; CARVALHO, 2009).

A microbiota fermentadora é formada, inicialmente, por bactérias do gênero *Lactococcus*, acidificadoras, convertendo rapidamente a lactose em ácido lático. Por crescerem em pH entre 6,0 e 6,5 e serem sensíveis ao sal, sua presença é reduzida durante o processo de maturação, à medida

que o pH diminui e a concentração do sal aumenta (BRUNO; CARVALHO, 2009; OLIVEIRA, 2014).

Com o avançar do tempo de maturação, as bactérias dominantes passam a ser do gênero *Lactobacillus*, mais resistentes ao sal e tolerantes ao meio ácido (OLIVEIRA, 2014). Essas são divididas em três grupos, de acordo com o produto final da fermentação. O primeiro grupo é formado por bactérias homofermentadoras, como *L. delbrueckii* subespécies *lactis* e *bulgaricus*, e *L. helveticus*. O segundo grupo inclui bactérias heterofermentadoras facultativas, como *L. casei*, *L. paracasei* e *L. plantarum*. No terceiro grupo encontram-se bactérias heterofermentadoras obrigatórias, responsáveis por produzir gás e sabores indesejáveis no queijo, durante a cura, porém, esses lactobacilos ocorrem em menor frequência (BRUNO; CARVALHO, 2009).

O gênero *Streptococcus* possui apenas uma espécie fermentadora, a *S. thermophilus*, muito utilizada na fermentação de queijos de massa cozida, devido sua resistência ao aquecimento e por suportar uma alta concentração de NaCl. Fermenta rapidamente a lactose em ácido lático e seu uso pode ser combinado com *Lactobacillus*, capaz de fermentar também a galactose, que não é utilizada pelo *S. thermophilus* (ANDRADE, 2009; BRUNO; CARVALHO, 2009).

As bactérias ácido-láticas dos gêneros *Enterococcus* e *Leuconostoc* são responsáveis, principalmente, pelas características organolépticas dos queijos, utilizando o citrato para produção de compostos aromáticos voláteis. Fazem parte da microbiota secundária e, por crescerem em uma ampla faixa de temperatura, são encontradas tanto nos queijos de leite cru como nos de massa cozida (BRUNO; CARVALHO, 2009; ANDRADE, 2009).

Os *Enterococcus*, apesar de fazerem parte da microbiota láctica no queijo, produzindo compostos aromáticos e enterocinas capazes

de inibir diversos patógenos, sua presença nos alimentos é bastante contestada, já que são bactérias que estão presentes no trato gastrointestinal de mamíferos, podendo agir como um patógeno oportunista, podendo indicar condição de higiene inadequada e possível contaminação fecal dos alimentos (RESENDE *et al.*, 2011; LUIZ *et al.*, 2016; BRUNO; CARVALHO, 2009; LIMA *et al.* 2009).

O ácido lático produzido pelas BAL, durante a fermentação, acelera o processo de coagulação do leite e contribui para o desenvolvimento das características sensoriais do queijo, como o sabor, aroma e textura. Porém, uma das principais funções do ácido e de outros metabólitos produzidos com a fermentação é a atividade antimicrobiana e a conservação dos alimentos (RAFAEL, 2017; ANDRADE, 2009).

Compostos antagônicos produzidos pelas BAL

Atualmente a atividade antimicrobiana das BAL tem sido bastante estudada. Essa ação é devido à produção de ácidos orgânicos e bacteriocinas, que antagonizam e inibem o crescimento de microrganismos competidores e patogênicos, sendo utilizadas como bioconservadoras dos alimentos (OLIVEIRA, 2014; RAFAEL, 2017).

As bacteriocinas são peptídeos antimicrobianos sintetizados no ribossomo e secretados no meio extracelular, apresentando resíduos de vários aminoácidos, o que lhes confere caráter catiônico, hidrofóbico e anfipático, além de possuir ação bactericida ou bacteriostática, atuando, preferencialmente, contra bactérias Gram positivas (HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017; COSTA, 2016; ANDRADE, 2009).

A classificação das bacteriocinas é feita de acordo com suas características bioquímicas e estrutura, sendo dividida em

cinco classes. A classe I são os lantabióticos, formada por peptídeos de baixo peso molecular, resistentes a altas temperaturas e mudanças de pH, e possuem aminoácidos modificados na sua estrutura, como lantionina e β -lantionina. A nisina, que é a única bacteriocina atualmente aprovada pelo FDA (*Food and Drug Administration*), como sendo segura para uso em alimentos (*Generally Recognized as Safe- GRAS*), faz parte dessa classe (COSTA, 2016; HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017).

A classe II, ou não lantabióticos, é formada por pequenos peptídeos, sem aminoácidos modificados, e resistentes ao calor. É subdividida em cinco subclasses, IIa, IIb, IIc, IId e IIe. Na subclasse IIa encontram-se bacteriocinas com alta capacidade de inibição de *Listeria sp.*, como a enterocina, produzida pelos enterococos, e a pediocina, produzida por *Pediococcus ssp.*, que possui também efeito antagonístico sobre *S. aureus* e *Clostridium perfringens* (ANDRADE, 2009; HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017, COSTA, 2016).

A pediocina é mais efetiva do que a nisina na inibição de patógenos como *S. aureus*, *L. monocytogenes*, e Gram negativos como *Pseudomonas* e *E. coli*. Além disso, é estável em uma ampla faixa de pH e resiste ao aquecimento ou congelamento (SILVA *et al.*, 2018a).

Os peptídeos de alto peso molecular fazem parte da classe III. Já a classe IV é composta por grandes peptídeos, de estrutura complexa, associados a carboidratos ou lipídios. E, por último, a classe V, formada por peptídeos de estrutura circular (HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017).

A maioria das bacteriocinas atua na membrana citoplasmática dos microrganismos, levando à formação de poros. Essa ação se inicia através da atração eletrostática das bactérias, que possuem fosfolipídios de membrana carregados negativamente, com as bacteriocinas, carregadas positivamente,

possibilitando sua ligação. Assim, após a ligação, as bacteriocinas conseguem penetrar na membrana alvo, formando poros ou canais iônicos, permitindo a despolarização com extravasamento de íons de potássio, aminoácidos e componentes de baixo peso molecular, levando à diminuição do gradiente eletroquímico e da síntese de proteínas, DNA e RNA, causando a morte da bactéria (COSTA, 2016; HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017; ANDRADE, 2009).

A utilização das bacteriocinas como bioconservantes apresenta diversas vantagens, como redução das intoxicações alimentares, aumento da vida útil dos produtos e redução de gastos com conservantes. Além disso, não são tóxicas, são biodegradáveis, digestíveis e seguras (ANDRADE, 2009; HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017).

A nisina foi a primeira bacteriocina a ser comercializada, tendo seus efeitos antimicrobianos demonstrados através da capacidade de inibir o crescimento de *S. aureus* no queijo Minas frescal, sem alterar suas características sensoriais e físico-químicas (HEREDIA-CASTRO *et al.*, 2017).

Como as bacteriocinas são termoestáveis e suportam variações de pH, seu uso é viável no processamento de queijos, podendo ser introduzidas através da adição de BAL, que já estão presentes no queijo artesanal, por serem feitos com o leite cru. É possível, também, purificar o antimicrobiano, como, por exemplo, a nisina, e aplicá-lo diretamente no alimento (ANDRADE, 2009; COSTA, 2016). Outra maneira é a aplicação da bacteriocina parcialmente purificada e ligada a um transportador, que permite a liberação contínua de acordo com o gradiente do meio (COSTA, 2016).

As BAL, por serem consideradas microrganismos GRAS, podem ser utilizadas com segurança para produção e conservação de alimentos. Com isto, apesar de apenas a nisina ser aprovada pelo FDA, outras

bacteriocinas têm sido isoladas para serem aplicadas com o mesmo fim (COSTA, 2016, ANDRADE, 2009).

Além das bacteriocinas, as BAL produzem também outras substâncias antimicrobianas, como o diacetil e o peróxido de hidrogênio. O diacetil é produzido a partir da fermentação do citrato. Age bloqueando o sítio de ligação da enzima responsável pela utilização da arginina, inibindo a síntese de proteínas essenciais. É considerado um antimicrobiano de amplo espectro (GUEDES NETO, 2008; RAFAEL, 2017). O peróxido de hidrogênio, produzido na presença de oxigênio, atua como oxidante, desnaturando enzimas de membrana das bactérias, aumentando assim sua permeabilidade. Além disso, na presença de leite cru, que é o usado na produção dos queijos artesanais, o peróxido de hidrogênio oxida o tiocianato, componente natural do leite, gerando diversos compostos antimicrobianos (JERONYMO, 2013; CÂMARA, 2012; RAFAEL, 2017).

Atividade antagonista

As bactérias ácido-láticas com maior potencial de inibição de patógenos presentes nos queijos Minas artesanais, de acordo com estudos realizados por Cunha (2018), Oliveira (2012), Rafael (2017) e Andrade *et al.* (2014), são as do gênero *Lactobacillus*. Também foi demonstrada atividade antagonista de bacilos em queijo coalho artesanal (GUEDES NETO *et al.*, 2005) e queijo Minas frescal (GERIA *et al.*, 2014).

Campagnollo *et al.* (2018) e Seixas (2014) constataram a ação de *Enterococcus* contra bactérias patogênicas, como *Listeria* e *Salmonella*. No artigo de Seixas (2014), *Enterococcus* foi o principal antagonista da *Salmonella*. Resultados semelhantes foram encontrados em outras pesquisas, como a de Dias (2014), em queijo coalho, que verificou maior inibição de *E. coli* e *S. aureus* por

Enterococcus, e Giazzi (2017), que mostrou também a inibição de *Listeria innocua* e *L. monocytogenes* no queijo Minas frescal.

Devido ao fato das bacteriocinas apresentarem melhor espectro de ação contra bactérias Gram positivas, patógenos como *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* são mais resistentes a ação antimicrobiana (CUNHA, 2018; BRUMANO, 2016; SEIXAS, 2014; ANDRADE *et al.*, 2014; ALEXANDRE *et al.*, 2002). Segundo Rafael (2017), a variada composição de ácidos graxos e a menor concentração de fosfolipídios na membrana celular das bactérias Gram negativas dificulta a formação de poros e a ação das bacteriocinas. Porém, a inibição de bactérias Gram negativas pode ser explicada, de acordo com Bordignon-Junior *et al.* (2012), pela concentração de bacteriocinas presentes ou a presença de ácidos capazes de alterar a estabilidade da membrana das bactérias. Outros fatores também podem ser responsáveis, como o diacetil e o peróxido de hidrogênio (GUEDES NETO, 2008; RAFAEL, 2017).

As BAL são capazes de inibir um dos principais agentes de intoxicações alimentares, o *S. aureus*, e também um dos mais letais, a *Listeria*, ambos frequentemente encontrados em produtos *in natura* e bastante manipulados, como os queijos artesanais (RESENDE, 2014; ANDRADE *et al.*, 2014).

O antagonismo entre as BAL pode ocorrer, porém em menor proporção quando comparada à inibição dos patógenos, como foi avaliado nos estudos de Cunha (2018), Andrade *et al.* (2014), Costa *et al.* (2013) e Alexandre *et al.* (2002). Isto foi demonstrado também na pesquisa de Guedes Neto *et al.* (2005), evidenciando que as BAL não competem entre si e sim atuam de maneira conjunta, contribuindo com o antagonismo sobre os microrganismos patogênicos.

Campagnollo *et al.* (2018) coletaram amostras de queijos Minas artesanais de várias regiões, produzidos com leite

cru e pasteurizado inoculados com *L. monocytogenes* e BAL selecionadas, para posterior análise. Nesse estudo foi observado um maior crescimento de *L. monocytogenes* nos queijos feitos com leite pasteurizado do que nos de leite cru, e a inativação da *Listeria* foi mais efetiva nos queijos de leite cru do que nos pasteurizados. Além disso, o tempo de maturação necessário para reduzir a concentração de *Listeria* foi de 15 dias no queijo de leite cru e 22 no pasteurizado. Devido ao fato de a pasteurização eliminar grande parte da microbiota presente no leite, inclusive as BAL, o crescimento de patógenos, quando presentes, é maior, já que houve diminuição na competição entre as bactérias e aumento da disponibilidade de nutrientes.

Conclusão similar foi obtida por Chioda *et al.* (2006), que analisaram queijo frescal, elaborado com leite pasteurizado, inoculado com *L. monocytogenes*, com ou sem a inoculação de cultura lática ou BAL. No queijo feito sem a utilização de cultura lática ou BAL ocorreu maior crescimento de *Listeria*, já que a microbiota presente no queijo não foi suficiente para controlar o crescimento do patógeno, por estar reduzida devido à pasteurização.

Resistência de bactérias patogênicas ao processo de maturação dos queijos

A maturação dos queijos é muito importante para o desenvolvimento dos microrganismos desejáveis. Durante esse processo ocorrem variações na temperatura, concentração de sal, umidade, pH e atividade de água, favorecendo o crescimento da microbiota endógena e sua atividade antagonista frente a bactérias patogênicas (RAFAEL, 2017; DORES; FERREIRA, 2012; PAGTHINATHAN; NAFEEES, 2015).

Porém, para que a maturação seja eficiente na segurança microbiológica,

são necessárias condições satisfatórias de higiene antes, durante e após a fabricação do queijo, evitando uma alta contaminação inicial ou uma recontaminação do produto através de treinamentos e Boas Práticas de Fabricação (BPF) (TEODORO *et al.*, 2013a; FERREIRA *et al.*, 2011; PINTO *et al.*, 2009a). A qualidade da água e do leite utilizados, o controle de pragas e vetores, a limpeza de utensílios e superfícies, a higienização correta das mãos, unhas cortadas e barbas aparadas, o uso de uniformes, e o correto armazenamento e transporte dos produtos são práticas importantes para o controle de qualidade, prevenindo a disseminação de patógenos (MALAGUETA JÚNIOR *et al.*, 2012; MACHADO *et al.*, 2009; MELLO *et al.*, 2010; FERREIRA *et al.*, 2013).

O manejo inadequado durante a ordenha, sem a sanitização dos equipamentos e dos tetos, a não observação de alterações no leite e sinais de inflamação no úbere, pode levar ao aumento da contagem de microrganismos presentes no leite (TEODORO *et al.*, 2013b). Um leite com alta contagem de células somáticas indica presença de mastite nos animais e contaminação por *Staphylococcus* e outras bactérias patogênicas (SOBRAL *et al.*, 2017).

A legislação brasileira permite a comercialização de queijos feitos a partir de leite cru, com menos de 60 dias de maturação, desde que atendam a requisitos mínimos de qualidade, porém, ainda são encontrados produtos comercializados fora do padrão aceitável (BRASIL, 2011).

Uns dos parâmetros utilizados para avaliar o tempo mínimo de maturação dos queijos é a umidade, sendo o limite máximo de 45,9% (MINAS GERAIS, 2008). Estudos realizados por Fernandes *et al.* (2011) e Silva *et al.* (2012) mostraram que a maioria dos queijos analisados apresentavam umidade acima do permitido. O alto teor de água nos queijos torna-os susceptíveis ao crescimento

de microrganismos patogênicos (REZENDE *et al.*, 2010).

Rezende *et al.* (2010) avaliaram amostras de queijo Minas artesanal, frescos e curados, e constatou que 100% das amostras avaliadas apresentavam contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva (SCP) acima do permitido e mais de 50% dos queijos, de alta e média umidade, contagem de coliformes fora dos padrões. Resultado semelhante foi demonstrado por Pinto *et al.* (2016), ao examinar amostras de queijo Minas de Montes Claros e do Serro, encontrando em todas elas resultados de *S. aureus* acima do tolerado e apenas um dos queijos de Montes Claros apresentou-se dentro dos valores máximos para *E. coli*. No estudo de Andretta *et al.* (2019), 75,5% das amostras avaliadas de queijo artesanal do Serro apresentava SCP além dos valores permitidos.

Lima *et al.* (2011) realizaram uma pesquisa a fim de avaliar os parâmetros microbiológicos dos queijos da Serra do Salitre, antes e depois da implementação de um Programa de BPF, e constatou que após uma melhora na qualidade higiênico-sanitária durante a produção, a contaminação dos queijos por coliformes e *S. aureus* reduziu consideravelmente, com apenas uma amostra, dentre as avaliadas, acima do padrão. O contrário foi observado no estudo de Soares *et al.* (2018), no qual foi verificado que apenas o treinamento não foi o suficiente para melhorar a qualidade final dos queijos, e a contagem de SCP permaneceu acima do limite.

A resistência de patógenos durante o período de maturação foi avaliada em diversas pesquisas. Borelli *et al.* (2010) demonstraram que somente após 60 dias de maturação amostras do queijo Minas da Canastra apresentaram contagens de SCP dentro do padrão permitido. O mesmo foi encontrado por Chesca *et al.* (2015), em amostras de queijo Minas curado, e por Cardoso *et al.* (2013) em amostras de queijo Minas do Serro.

Porém, no estudo de Martins *et al.* (2015), o queijo Minas do Serro se encontrava dentro dos parâmetros e apto ao consumo após 17 dias de maturação, em temperatura ambiente.

A resistência do *S. aureus* durante a maturação do queijo pode ser explicada devido a presença de mastite nas vacas, condições higiênico-sanitárias deficientes durante a manipulação da matéria-prima, contaminação excessiva do leite, das mãos e utensílios utilizados na fabricação, além de variações nos valores de pH (BORELLI *et al.*, 2011; ROLA *et al.*, 2013; VASEK *et al.*, 2013; ECKERT; WEBBER, 2016; ARMACHUK *et al.*, 2019). Queijos com pH mais baixo propiciam o crescimento das BAL, que toleram meios mais ácidos, e inibem o desenvolvimento de *Staphylococcus* e outros patógenos (MILANI *et al.*, 2014).

Pesquisas realizadas sobre queijo Minas artesanal de diversas regiões, como Serro, Araxá e Montes Claros, mostraram a presença de *Salmonella* spp. em queijos maturados até 15 dias, na temperatura ambiente, e 22 refrigerados (MARTINS *et al.*, 2015; PINTO *et al.*, 2016). A contaminação inicial dos produtos ocorreu possivelmente devido condições precárias de higiene na manipulação e armazenamento dos queijos, aumentando a contagem inicial de *Salmonella* (ALEMDAR; AGAOGLU, 2010; PINTO *et al.*, 2016).

O período mínimo de maturação de cada queijo varia quando é maturado à temperatura ambiente ou sob refrigeração, sendo maior quando refrigerado, pois a temperatura diminui o teor de umidade dos queijos, aumentando a concentração de sal e reduzindo a atividade de água, reduzindo a multiplicação de microrganismos indesejáveis (DORES *et al.*, 2013; MARTINS *et al.*, 2015).

Mata *et al.* (2016) analisaram a sobrevivência de *Listeria innocua* ao longo do período de maturação em queijo Minas artesanal e constatou que após 60 dias

ainda era possível detectar a presença, em menor quantidade, de *Listeria* no queijo. Em amostras de queijo Minas do Serro, avaliadas por Pinto *et al.* (2009b), também foi obtido o mesmo resultado. A *Listeria* é capaz de resistir a diversas condições adversas, como pH, temperatura e atividade de água, porém, por serem menos competitivas, tendem a diminuir ao longo do tempo, evidenciando a importância de um período de maturação adequado (PEREIRA *et al.*, 2009; MELO *et al.*, 2013). Além disso, é possível que o leite utilizado na fabricação dos queijos seja proveniente de animais portadores desse microrganismo (PEREIRA *et al.*, 2009).

Silva *et al.* (2018b) avaliaram amostras de queijo Minas do Serro, quanto à presença de *Brucella* spp., e constatou que 30,9% delas deram positivo. Na pesquisa de Miyashiro *et al.* (2007), 15,68% dos queijos Minas artesanais curados apresentavam *Brucella*. No estudo de Santiago-Rodriguez *et al.* (2015), *Brucella abortus* foi capaz de sobreviver por mais de 17 dias durante a maturação a 24°C. A *Brucella* é de grande importância na saúde pública, sendo considerada como uma das principais zoonoses transmitidas através do consumo de produtos lácteos crus, como o queijo artesanal (SANTIAGO-RODRIGUEZ *et al.*, 2015). O período de maturação estipulado para alguns queijos produzidos em Minas é menor do que o tempo de sobrevivência da *Brucella* spp., uma vez que os padrões microbiológicos avaliados não incluem esse patógeno (SILVA *et al.*, 2018b).

No trabalho de Moriconi *et al.* (2018) foi constatada a presença de *Mycobacterium* spp. em 12% das amostras de queijo Minas meia cura. Resultado semelhante foi encontrado por Cezar *et al.* (2016), que analisaram queijo coalho artesanal encontrando 2,8% das amostras positivas para *Mycobacterium bovis*. A *M. bovis* causa tuberculose e é uma zoonose transmitida principalmente pelo leite contaminado, apesar de existir poucos estudos

sobre sua presença nos queijos de leite cru (STARIKOFF *et al.*, 2016; MORICONI *et al.*, 2018). Segundo Starikoff *et al.* (2016), *M. bovis* foi detectada em queijos curados com mais de 63 dias de cura, por ser capaz de tolerar ambientes ácidos.

As bacteriocinas produzidas pelas BAL durante a maturação podem ter sua atividade reduzida quando a contaminação inicial é muito alta, propiciando a proliferação de microrganismos indesejáveis. Mutações em bactérias resistentes podem levar a alterações na composição dos fosfolípidios, na espessura e na carga da membrana citoplasmática, afetando a ligação das bacteriocinas e dificultando a formação de poros, inibindo sua atividade antimicrobiana (NISHIE *et al.*, 2012; BALCIUNAS *et al.*, 2013).

É possível perceber que existem diversas falhas na avaliação do tempo mínimo necessário de maturação para que o queijo seja considerado seguro. Algumas bactérias patogênicas não estão incluídas nos parâmetros microbiológicos aceitáveis. Além disso, índices físicos e químicos como a temperatura da maturação, valores de pH e atividade de água também não foram estabelecidos, considerando que diversos patógenos resistem a uma ampla faixa de pH e a água é um fator determinante para o crescimento dos microrganismos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A presença das BAL nos queijos Minas artesanais é muito importante não só no processo de fermentação e transformação do leite no queijo, mas também é essencial para o desenvolvimento das características organolépticas do produto, como o aroma, textura e sabor.

Além disso, a atuação das BAL como bioconservantes tem sido amplamente estudada e comprovada através de pesquisas, demonstrando a produção de substâncias

antimicrobianas e sua ação antagonista sobre patógenos, que possam estar presentes em queijos artesanais, durante o processo de maturação, melhorando a qualidade microbiológica e a segurança alimentar do produto.

Diante dos estudos abordados neste trabalho é possível concluir que, para maior segurança microbiológica, no que se refere ao consumo dos queijos Minas artesanais, é importante ressaltar que um período mínimo de maturação deve ser respeitado, a fim de garantir a ausência ou redução de patógenos causadores de doenças e intoxicações, sendo necessária a avaliação das condições higiênico-sanitárias em que esse queijo foi fabricado e estocado, desde a obtenção da matéria prima até o produto final

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEMDAR, S.; AGAOGLU, S. Survival of *Salmonella typhimurium* during the ripening of herby cheese (Otlu Peynir). **Journal of Food Safety**, v. 30, n. 3, p. 526-536, 2010. DOI: 10.1111/j.1745-4565.2010.00263.x
- ALEXANDRE, D. P. *et al.* Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas isoladas de queijo-de-Minas artesanal do Serro (MG) frente a microrganismos indicadores. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 54, n. 4, p. 424-428, 2002. DOI: 10.1590/S0102-09352002000400014
- AMORIM, A. L. B. C. **Avaliação da qualidade higiênica e sanitária de queijos tipo Minas Padrão de fabricação industrial, artesanal e informal.** Orientador: Márcia de Aguiar Ferreira. 2013. 53 f. Monografia (Curso de Medicina Veterinária) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.
- ANDRADE, C. R. **Diagnóstico da qualidade microbiológica de queijo Serra da Canastra e caracterização de bactérias do gênero *Enterococcus*.** Orientador: Arnaldo Yoshiteru Kuayne. 2009. 112 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- ANDRADE, C. R. G. *et al.* Propriedades probióticas *in vitro* de *Lactobacillus* spp. isolados de queijos Minas artesanais da Serra da Canastra – MG. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1592-1600, 2014. DOI: 10.1590/1678-6781
- ANDRETTA, M. *et al.* Microbial safety status of Serro artisanal cheese produced in Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 12, p. 10790-10798, 2019. DOI: 10.3168/jds.2019-16967
- ARMACHUK, M. A. *et al.* Modificações microbiológicas e físico-químicas durante a maturação de queijo Colonial artesanal produzido com leite cru. **Higiene Alimentar**, v. 33, n. 288/289, p. 1938-1942, 2019.
- BALCIUNAS, E. M. *et al.* Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. **Food Control**, v. 32, n. 1, p. 134-142, 2013. DOI: 10.1016/j.foodcont.2012.11.025
- BORDIGNON-JUNIOR, S. M. *et al.* Inibição do crescimento de bactérias Gram-negativas em microdiluição por tratamento com nisina e EDTA. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, v. 3, n. 4, p. 127-135, 2012. DOI: 10.20873/jbb.uft.cemaf.v3n4.bordignon
- BORELLI, B. M. *et al.* Qualidade microbiológica do queijo Minas artesanal maturado, produzido na região da Serra da Canastra – MG. **Higiene Alimentar**, v. 24, n. 188/189, p. 79-84, 2010.
- BORELLI, B. M. *et al.* Identification of *Staphylococcus* spp. isolated during the ripening process of a traditional Minas cheese. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 2, p. 481-487, 2011. DOI: 10.1590/S0102-09352011000200028
- BRASIL. Lei nº 13.680, de 14 de junho de

2018. Altera a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, para dispor sobre o processo de fiscalização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 114, p. 02, 15 jun. 2018

BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Resolução nº 7, de 28 de novembro de 2000. Oficializa os critérios de funcionamento e de controle da produção de queijarias, para seu relacionamento junto ao Serviço de Inspeção Federal. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, n. 1, p. 22, 2 jan. 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 30, de 7 de agosto de 2013. Estabelece critérios adicionais para elaboração de Queijos Artesanais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**: seção 1, Brasília, DF, n. 152, p. 19, 8 nov. 2013.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 57, de 15 de dezembro de 2011. Permite que os queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru sejam maturados por um período inferior a 60 (sessenta) dias e estabelece critérios. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 241, p. 23, 16 dez 2011.

BRASIL. Ministério da Cultura. Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional. **Titulação**. Confere o Título de Patrimônio Cultural do Brasil ao Modo Artesanal de Fazer Queijo de Minas, nas regiões do Serro, da Serra da Canastra e Salitre/Alto Paranaíba. 2008. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/ckfinder/arquivos/Modo_fazer_queijo_minas_titulacao.pdf.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 7, p. 45, 10 jan. 2001.

BRUMANO, E. C. C. **Impacto do tipo de fermento endógeno na qualidade e tempo de maturação de queijo Minas artesanal produzido em propriedades cadastradas pelo IMA (Instituto Mineiro de Agropecuária) na região do Serro-MG**. Orientador: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira. 2016. 158 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2016.

BRUNO, L. M.; CARVALHO, J. D. G. **Documentos 124**: Microbiota láctica de queijos artesanais. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 30 p.

CÂMARA, S. P. A. **Estudo do potencial bioactivo e tecnológico de bactérias do ácido láctico isoladas de queijo do Pico artesanal**. Orientador: Maria de Lurdes Enes Dapkevicius. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Departamento de Ciências Agrárias, Universidade dos Açores, Angra do Heroísmo, 2012.

CAMPAGNOLLO, F. B. *et al.* Selection of indigenous lactic acid bacteria presenting anti-listerial activity, and their role in reducing the maturation period and assuring the safety of traditional Brazilian cheeses. **Food Microbiology**, v.73, p. 288-297, 2018. DOI: 10.1016/j.fm.2018.02.006

CARDOSO, V. M. *et al.* The influence of ripening period length and season on the microbiological parameters of a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 44, n. 3, p. 743-749, 2013. DOI: 10.1590/S1517-83822013005000059

CARVALHO, M. M. **A agroindústria familiar rural e a produção de queijos artesanais no município de Seara, estado de Santa Catarina – Um estudo de caso**. Orientador: Luciana Oliveira de Fariña. 2015. 53 f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Rural Sustentável) – Centro de Ciências Agrárias,

Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2015.

CEZAR, R. D. S. *et al.* Detection of *Mycobacterium bovis* in artisanal cheese in the state of Pernambuco, Brazil. **International Journal of Mycobacteriology**, v. 5, n. 3, p. 269-272, 2016. DOI: 10.1016/j.ijmyco.2016.04.007

CHESCA, A. C.; GONÇALVES, Y. C.; SANTOS, A. L. S. Patógenos em queijo Minas frescal e curado. **Higiene Alimentar**, v. 29, n. 242/243, p. 90-93, 2015.

CHIODA, T. P. *et al.* Inibição do crescimento de *Listeria monocytogenes* em queijo Minas Frescal elaborado com cultura de *Lactobacillus acidophilus*. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 101, n. 557-558, p. 121-124, 2006.

COSTA, A. C. C. C. **Isolamento de bactérias lácticas produtoras de bacteriocinas e avaliação de sua atividade frente a patógenos alimentares em sistema de bioconservação de produto lácteo.** Orientador: Flávio Alves da Silva. 2016. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2016.

COSTA, H. H. S *et al.* Potencial probiótico *in vitro* de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijo-de-Minas artesanal da Serra da Canastra, MG. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1858-1866, 2013. DOI: 10.1590/S0102-09352013000600038

CRUZ, F. T; SCHNEIDER, S. Qualidade dos alimentos, escalas de produção e valorização de produtos tradicionais. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 5, n. 2, p. 22-38, 2010.

CUNHA, A. L. F. S. **Potencial probiótico *in vitro* de *Lactobacillus* spp. isolados de queijo Minas artesanal da Serra do Salitre – MG.** Orientador: Marcelo Resende de Souza. 2018. 48 f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)

– Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2018.

DIAS, G. M. P. **Potencial tecnológico de bactérias ácido lácticas isoladas de queijo de Coalho artesanal produzido no Município de Venturosa – Pernambuco.** Orientador: Ana Lúcia Figueiredo Porto. 2014. 114 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

DINIZ, M. F. S. **Queijo Canastra: Um estudo envolvendo aspectos culturais e parâmetros de inocuidade do alimento.** Orientador: Gilma Lucazechi Sturion. 2013. 160 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

DORES, M. T.; FERREIRA, C. L. L. F. Queijo Minas artesanal, tradição centenária: Ameaças e desafios. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v. 2, n. 2, p. 26-34, 2012. DOI: 10.21206/rbas.v2i2.163

DORES, M. T. *et al.* Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus aureus* isolated from Artisan Minas cheese from the Serra da Canastra-MG, Brazil. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 2, p. 271-275, 2013. DOI: 10.1590/S0101-20612013005000033

ECKERT, R. G.; WEBBER, M. Controle de qualidade microbiológico de queijos maturados comercializados na feira do pequeno produtor da cidade de Cascavel-PR. **Higiene Alimentar**, v. 30, n. 252/253, p. 80-85, 2016.

EMATER – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural de Minas Gerais. **Queijo Minas Artesanal: Mapa do Queijo.** Disponível em: http://www.emater.mg.gov.br/portal.do?flagweb=site_pgn_downloads_vert&grupo=135&menu=59. Acesso em: 23 maio 2019.

FERNANDES, R. V. B. *et al.* Avaliação físico-

química, microbiológica e microscópica do queijo artesanal comercializado em Rio Paranaíba-MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 66, n. 382, p. 21-26, 2011.

FERREIRA, J. S. *et al.* Conhecimento, atitudes e práticas em segurança alimentar de manipuladores de alimentos em hospitais públicos de Salvador, Bahia. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v. 37, p. 35-55, 2013. Supl. 1.

FERREIRA, R. M. *et al.* Quantificação de coliformes totais e termotolerantes em queijo Minas Frescal artesanal. **PUBVET Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 5, n. 5, ed. 152, art. 1022, 2011.

GERIA, M. *et al.* Antagonistic activity of dairy lactobacilli against gram-foodborne pathogens. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 1, p. 1-6, 2014. DOI: 10.4025/actascitechnol.v36i1.18776

GLAZZI, A. **Caracterização e estudo do perfil tecnológico de bactérias ácido lácticas isoladas de queijos tipo Minas artesanais e leite cru.** Orientador: Marly Sayuri Katsuda. 2017. 75 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2017.

GUEDES NETO, L. G. **Isolamento, identificação e avaliação de características probióticas de bactérias ácido-lácticas isoladas de amostras de queijo de Coalho produzidas em Pernambuco – Brasil.** Orientador: Wagner Luiz Moreira dos Santos. 2008. 190 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

GUEDES NETO, L. G. *et al.* Atividade antimicrobiana de bactérias ácido-lácticas isoladas de queijos de coalho artesanal e industrial frente a microrganismos indicadores. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, supl. 2, p. 245-250, 2005.

HEREDIA-CASTRO, P. Y. *et al.* Bacteriocinas de bactérias ácido lácticas: Mecanismos de

acción y actividad antimicrobiana contra patógenos em queijos. **Interciencia: Revista de Ciencia y Tecnología de América**, v. 42, n. 6, p. 340-346, 2017.

JERONYMO, A. B. O. **Avaliação do potencial probiótico de bactérias ácido lácticas produtoras de substância antimicrobiana isoladas de mussarela de búfala.** Orientador: Ana Lúcia Barretto Penna. 2013. 108 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto, 2013.

LIMA, B. B.; LEAL, M. C. **Parâmetros indicadores de qualidade de queijos artesanais comercializados em Castro-PR.** Orientador: José Mauro Giroto. 2017. 30 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnólogo de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Ponta Grossa, 2017.

LIMA, C. D. L. C. *et al.* Bactérias do ácido láctico e leveduras associadas com o queijo-de-Minas artesanal produzido na região da Serra do Salitre, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 1, p. 266-272, 2009. DOI: 10.1590/S0102-09352009000100037.

LIMA, C. D. L. C.; CERQUEIRA, M. M. O. P.; ROSA, C. A. Boas práticas de fabricação e a qualidade do queijo Minas artesanal da Serra do Salitre. **Higiene Alimentar**, v. 25, n. 2, p. 159-161, 2011.

LUIZ, L. M. P. *et al.* Isolation and identification of lactic acid bacteria from Brazilian Minas artisanal cheese. **CyTA - Journal of Food**, 2016. DOI: 10.1080/19476337.2016.1219392

MACHADO, J. R. *et al.* Avaliação microbiológica das mãos e fossas nasais de manipuladores de alimentos da unidade de alimentação e nutrição de um hospital universitário. **Revista Medicina (Ribeirão Preto)**, v. 42, n. 4, p. 461-465, 2009. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v42i4p461-465

- MALAGUETA-JÚNIOR, F. G.; SILVA, M. E. T.; SOUZA, G. C. S. Avaliação higiênico-sanitário das mãos de manipuladores, equipamentos e utensílios no mercado da carne de Limoeiro do Norte-CE. *In*: CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 7., 2012, Palmas. **Anais [...]**. Palmas: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Tocantins, 2012.
- MARTINS, J. M. *et al.* Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, n. 1, p.219-230, 2015. DOI: 10.1590/S1517-838246120131003
- MATA, G. M. S. C. *et al.* Performance of two alternative methods for *Listeria* detection throughout Serro Minas cheese ripening. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 3, p. 749-756, 2016. DOI: 10.1016/j.bjm.2016.04.006
- MELLO, A. G. *et al.* Conhecimento dos manipuladores de alimentos sobre boas práticas nos restaurantes públicos populares do Estado do Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 1, p. 60-68, 2010. DOI: 10.4260/BJFT2010130100008
- MELO, F. D. *et al.* Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico-químicas e o período de maturação. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 41, n. 1, p. 1-7, 2013.
- MILANI, E. *et al.* Microbiological, biochemical and rheological changes throughout ripening of kurdish cheese. **Journal of Food Safety**, v. 34, n. 2, p.168-175, 2014. DOI: 10.1111/jfs.12110
- MINAS GERAIS. Decreto nº 44.864, de 01 de agosto de 2008. Altera o Regulamento da Lei nº 14.185, de 31 de janeiro de 2002, que dispõe sobre o processo de produção de Queijo Minas Artesanal. **Diário do Executivo**. Belo Horizonte, MG, p. 01, 02 ago 2008.
- MINAS GERAIS. Lei nº 20.549, de 18 de dezembro de 2012. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. **Diário do Executivo do Estado de Minas Gerais: caderno 1**, Belo Horizonte, MG, n. 236, p. 1, 19 dez. 2012.
- MINAS GERAIS. Lei Estadual nº 23.157, de 18 de dezembro de 2018. Dispõe sobre a produção e a comercialização dos queijos artesanais de Minas Gerais. **Minas Gerais Diário do Executivo: col 1**, Belo Horizonte, MG, p. 01, 19 dez 2018.
- MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instituto Mineiro de Agropecuária. **Portaria nº 1305, de 30 de abril de 2013**. Estabelece diretrizes para a produção do queijo Minas artesanal. Belo Horizonte, 2013.
- MIYASHIRO, S. *et al.* Detection of *Brucella abortus* DNA in illegal cheese from São Paulo and Minas Gerais and differentiation of B19 vaccinal strain by means of the Polymerase Chain Reaction (PCR). **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, n. 1, p.17-22, 2007. DOI: 10.1590/S1517-83822007000100005
- MORICONI, P. R. *et al.* Mycobacteria in Minas cheese commercialized in open fairs in São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 55, n. 4, e146525, 2018. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2018.146525
- NISHIE, M.; NAGAO, J.; SONOMOTO, K. Antibacterial peptides “bacteriocins”: An overview of their diverse characteristics and applications. **Biocontrol Science**, v. 17, n. 1, p. 1-16, 2012. DOI: 10.4265/bio.17.1
- OLIVEIRA, D. L. S. **Staphylococcus spp. isolados de queijo artesanal da Serra da Canastra**: Identificação bioquímica e molecular, detecção de genes para produção de toxinas, susceptibilidade a antimicrobianos e atividade

antagonista *in vitro* frente a *Lactobacillus* spp. Orientadora: Mônica Maria Oliveira Pinho Cerqueira. 2012. 47 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2012.

OLIVEIRA, L. G. **Caracterização microbiológica e físico-química durante a maturação em diferentes épocas do ano de queijo Minas artesanal de produtores cadastrados da mesorregião de Campo das Vertentes – MG.** Orientador: Marcelo Resende de Souza. 2014. 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

PAGTHINATHAN, M.; NAFEEES, M. S. M. Biochemistry of cheese ripening. **AGRIEAST Journal of Agricultural Sciences**, v. 10, p. 16-26, 2015. DOI: 10.4038/agrieast.v10i0.25

PEHRSON, M. E. S. F. **Efeito da adição de culturas probióticas sobre aspectos microbiológicos e parâmetros fermentativos de Queijo Artesanal das Terras Altas da Mantiqueira.** Orientador: Ismael Maciel de Mancilha. 2017. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de São Paulo, Lorena, 2017.

PEREIRA, M. L.; RODRIGUES, P. R.; FORTES-DIAS, C. L. *Listeria monocytogenes*: prevalência em queijo tipo Minas e recuperação nos produtos artificialmente contaminados e mantidos a -18°C por 20 meses. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 176/177, p. 102-109, 2009.

PINTO, M. S. *et al.* Segurança alimentar do queijo Minas artesanal do Serro, Minas Gerais, em função da adoção de boas práticas de fabricação. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 39, n. 4, p. 342-347, 2009a.

PINTO, M. S. *et al.* Survival of *Listeria innocua* in Minas Traditional Serro cheese during ripening. **Food Control**, v. 20, p. 1167-1170, 2009b. DOI: 10.1016/j.foodcont.2009.02.007

PINTO, M. S. *et al.* Características físico-químicas e microbiológicas do queijo artesanal produzido na microrregião de Montes Claros – MG. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 71, n. 1, p. 43-52, 2016. DOI: 10.14295/2238-6416.v70i1.514

RAFAEL, V. C. **Fenótipos da microbiota predominante do fermento endógeno (pingo) relevantes para as características e segurança microbiológica do queijo Minas Artesanal da Serra da Canastra.** Orientador: Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira. 2017. 158 f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

RESENDE, E. C. **Aspectos sensoriais e microbiológicos do queijo Minas artesanal da microrregião Campo das Vertentes.** Orientador: Fernando Antônio Resplande Magalhães. 2014. 114 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia do leite) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2014.

RESENDE, M. F. S. *et al.* Queijo de Minas artesanal da Serra da Canastra: Influência da altitude das queijarias nas populações de bactérias acidoláticas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 63, n. 6, p. 1567-1573, 2011. DOI: 10.1590/S0102-09352011000600039

REZENDE, P. H. L. *et al.* Aspectos sanitários do queijo Minas artesanal comercializado em feiras livres. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 65, n. 377, p. 36-42, 2010.

ROLA, J.; KORPYSA-DZIRBA, W.; OSEK, J. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxins at different stages of production of raw milk cheeses - Preliminary results. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 57, p. 341-345, 2013. DOI: 10.2478/bvip-2013-0059

SANTIAGO-RODRÍGUEZ, M. R. *et al.* Survival of *Brucella abortus* aq X mutant

- in fresh and ripened cheeses. **Foodborne pathogens and disease**, v. 12, n. 2, 2015. DOI: 10.1089/fpd.2014.1823
- SEIXAS, F. N. **Identificação filogenética e caracterização tecnológica da microbiota ácido láctico autóctone do queijo artesanal serrano catarinense e seu potencial antagonista a patógenos**. Orientador: Valerni Beloti. 2014. 139 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2014.
- SILVA, C. C. G.; SILVA, S. P. M.; RIBEIRO, S. C. Application of bacteriocins and protective cultures in dairy food preservation. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, art. 594, 2018a. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00594
- SILVA, L. M. **Perfil microbiológico de queijo Minas frescal industrializado e artesanal comercializado em Goiânia, Goiás**. Orientador: Maria Raquel Hidalgo Campos. 2015. 82 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição e Saúde) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015.
- SILVA, M. R. *et al.* Ocorrência de *Brucella* em queijo Minas artesanal da microrregião do Serro: Um importante problema de saúde pública. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 28, supl. 5, p. 79-84, 2018b.
- SILVA, N. C.; TUNES, R. M. M.; CUNHA, M. F. Avaliação química de queijos Minas artesanais frescos e curados em Uberaba, MG. **PUBVET Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 6, n. 16, ed. 203, art. 1358, 2012.
- SOARES, D. B. *et al.* Análise sanitária e físico-química e adequação bacteriológica do queijo Minas artesanal produzido em duas propriedades. **Ciência Animal Brasileira**, v. 19, e36499, p. 1-13, 2018. DOI: 10.1590/1809-6891v19e-36499
- SOBRAL, D. *et al.* Principais defeitos em queijo Minas artesanal: Uma revisão. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 2, p. 108-120, 2017. DOI: 10.14295/2238-6416.v72i2.600
- STARIKOFF, K. R. *et al.* Decline in *Mycobacterium bovis* and *Brucella abortus* populations during the maturation of experimentally contaminated parmesan-type cheese. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 37, n. 5, supl. 2, p. 37-43, 2016. DOI: 10.5433/1679-0359.2016v37n5Supl2p3743
- TEODORO, V. A. M. *et al.* Segurança e Boas Práticas de Fabricação de queijos artesanais mineiros. **EPAMIG Informe Agropecuário**, v. 34, n. 273, p. 30-43, 2013a.
- TEODORO, V. A. M. *et al.* Importância de implementação de boas práticas na produção de leite para a fabricação de queijos artesanais de Minas Gerais. **EPAMIG Informe Agropecuário**, v. 34, n. 273, p.17-29, 2013b.
- VASEK, O. M.; MAZZA, S. M.; GIORI, G. S. Physicochemical and microbiological evaluation of Corrientes artisanal cheese during ripening. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 151-160, 2013. DOI: 10.1590/S0101-20612013005000021
- ZUIN, L. F. S.; ZUIN, P. B. Produção de alimentos tradicionais: Contribuindo para o desenvolvimento local/regional e dos pequenos produtores rurais. **Revista Brasileira de Gestão e Desenvolvimento Regional**, v. 4, n. 1, p. 109-127, 2008.