

## MICROORGANISMOS PATOGENICOS E INDICADORES EM QUEIJO DE COALHO PRODUZIDO NO ESTADO DO CEARÁ, BRASIL

MARIA DE FÁTIMA BORGES\*

TEREZINHA FEITOSA\*

RENATA TIEKO NASSU\*

CELLI RODRIGUES MUNIZ\*\*

ÉRIKA HARDY FRANCO DE AZEVEDO\*\*\*

EVÂNIA ALTINA TEIXEIRA DE FIGUEIREDO\*\*\*\*

Avaliou-se a qualidade higiênico-sanitária de 43 amostras de queijo de coalho produzidas em diferentes microrregiões do estado do Ceará. Bolores e leveduras foram detectados em 100% das amostras de queijos, com contagem variando de  $1,7 \times 10^4$  a  $1,6 \times 10^9$  UFC/g. Todas as amostras apresentaram coliformes totais e fecais, com confirmação de *Escherichia coli* em 93,1% das mesmas. Foi verificada a presença de Estafilococos coagulase positiva em 93,1% das amostras de queijos, com contagens variando de  $1,0 \times 10^1$  a  $2,0 \times 10^9$  UFC/g. Apenas 2,3% das amostras encontravam-se de acordo com os padrões microbiológicos vigentes para essa bactéria. A presença de *Salmonella* foi constatada em 34,9% das amostras de queijos. *Listeria* sp. foi detectada em 6,9% das amostras, com confirmação de *L. monocytogenes* em 2,3% dessas. A elevada população de bolores e leveduras (observada em 100% das amostras de queijos de coalho) indicou deficiência nos procedimentos de higiene e sanitização das amostras, caracterizando-as como produto em condições higiênicas insatisfatórias. A alta concentração de estafilococos coagulase positiva e de coliformes fecais (aproximadamente 90% das amostras) caracterizou os queijos como produto em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Queijos de coalho oriundos das cinco microrregiões do Ceará envolvidas no estudo não apresentaram segurança alimentar, visto que a maioria continha estafilococos coagulase positiva, *L. monocytogenes* e *Salmonella*. A presença dessas duas últimas bactérias permitiu classificar os queijos como produtos impróprios para consumo humano.

**PALAVRAS-CHAVE:** QUEIJO DE COALHO; SEGURANÇA ALIMENTAR; LATICÍNIOS-QUALIDADE; *Listeria monocytogenes*.

\* Pesquisadoras, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, Brasil (e-mail: fatima@cnpat.embrapa.br).

\*\* Bióloga, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, Brasil.

\*\*\* Assistente de Operações, Embrapa Agroindústria Tropical, Fortaleza, CE, Brasil.

\*\*\*\* Professora, Departamento de Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, CE, Brasil.

## 1 INTRODUÇÃO

O queijo destaca-se entre os derivados lácteos pelo alto teor de proteína e outros nutrientes. Com o desenvolvimento tecnológico de sua produção surgiram, em nível nacional, muitas variedades, sendo algumas de expressão regional. O queijo de coalho, produzido no Nordeste, é um dos produtos lácteos mais difundidos no estado do Ceará. Tal atividade, de importância econômica e social, é exercida por inúmeros pequenos produtores estabelecidos principalmente na zona rural.

A qualidade e a segurança alimentar do queijo de coalho limitam sua comercialização. Quase sempre são elaborados de forma artesanal e normalmente a partir de leite cru, sem os devidos cuidados de higiene ou em pequenas indústrias que não adotam Boas Práticas de Fabricação.

BASTOS *et al.* (2001) efetuaram inspeção em indústria produtora de queijo de coalho no Ceará e verificaram falhas em alguns procedimentos de higiene e sanificação (com reflexo na qualidade dos produtos finais). Constataram a necessidade da implantação de Boas Práticas de Fabricação para controle dos pontos críticos do processo de produção.

Vários estudos sobre a qualidade microbiológica de queijo de coalho relataram a ocorrência de microrganismos patogênicos e contagens de microrganismos deterioradores excedendo, às vezes, os limites estabelecidos pela legislação (FEITOSA *et al.*, 2003; BASTOS *et al.*, 2001; NASSU *et al.*, 2000; PAIVA e CARDONHA, 1999; SANTOS *et al.*, 1995). Dentre as bactérias patogênicas detectadas encontravam-se *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Listeria monocytogenes*.

Altos níveis de contaminação ( $10^3$  e  $10^6$  UFC/g) por *S. aureus* têm sido encontrados em queijo de coalho produzido em vários estados do Nordeste (Rio Grande do Norte, Ceará, Paraíba e Pernambuco) (FEITOSA *et al.*, 2003; FLORENTINO e MARTINS, 1999; MENDES *et al.*, 1999; PAIVA e CARDONHA, 1999). Esses níveis são preocupantes por não se enquadrarem nos padrões estabelecidos pelos Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e da Saúde, cujo máximo permitido é  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2001 e 1996).

A presença de *Salmonella* em queijo de coalho tem sido relatada em algumas pesquisas (FEITOSA *et al.*, 2003; FLORENTINO e MARTINS, 1999; PINTO *et al.*, 1996). Sabe-se, também, que a *Salmonella* mantém-se viável em queijo contaminado por longo tempo (MODI *et al.*, 2001;

BORGES, BRANDÃO e PINHEIRO, 1990). Tal fato ressalta a importância do controle de qualidade microbiológica do produto, visto que a legislação brasileira estabelece ausência dessa bactéria em alimentos (BRASIL, 2001 e 1996).

Apesar da importância da ocorrência de *L. monocytogenes* em produtos lácteos (FEITOSA *et al.*, 2003; PARK *et al.*, 2002; RUDOLF e SCHERER, 2001; RYSER, 1999) existem poucos estudos sobre sua incidência em queijos produzidos no Brasil (FEITOSA *et al.*, 2003; SILVA *et al.*, 2003; BRANCO, 2002; SOUZA, 2002; SILVA *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 1998).

Contagens elevadas de bolores e leveduras e de bactérias do grupo coliforme também têm sido constatadas em queijos de coalho (FEITOSA *et al.*, 2003; FLORENTINO e MARTINS, 1999), indicando produção sob condições de higiene insatisfatórias. Esses microrganismos são considerados os principais responsáveis pela deterioração de queijos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência de microrganismos patogênicos e de indicadores higiênico-sanitários em queijo coalho produzido, artesanalmente, em diferentes microrregiões no estado do Ceará (Brasil).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 43 amostras indicativas (n=1) de queijos de coalho, produzidas em 11 municípios das seguintes microrregiões do estado do Ceará: Baixo Jaguaribe, Médio Jaguaribe, Sertão Inhamuns, Sertão de Crateús e Sertão de Quixeramobim. As amostras foram coletadas aleatoriamente no local de produção e transportadas, em caixas isotérmicas contendo gelo, até o Laboratório de Microbiologia de Alimentos da Embrapa Agroindústria Tropical. Em seguida, foram avaliadas quanto ao número mais provável de coliformes totais, coliformes fecais e *Escherichia coli*, contagens de estafilococos coagulase positiva, contagens de bolores e leveduras e pesquisa de *Salmonella* sp., segundo metodologia da American Public Health Association (APHA, 2001) e de SILVA *et al.* (2001). A pesquisa de *Listeria* sp. foi realizada pelo teste ELISA e a configuração “sandwich” pelo método “TECRA *Listeria* Visual Imunoassay”, com enriquecimento prévio em caldo de enriquecimento para *Listeria* e caldo Fraser (KNIGHT *et al.*, 1996). As culturas positivas foram isoladas e avaliadas pelo método convencional para confirmação da presença de *L. monocytogenes* (PAGOTTO *et al.*, 2003).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A população de bolores e leveduras variou de  $1,7 \times 10^4$  a  $1,6 \times 10^9$  UFC/g (Tabela 1), evidenciando que os queijos de coalho foram processados sob condições higiênicas insatisfatórias. Tal fato compromete a qualidade e a vida-de-prateleira dos queijos, uma vez que bolores e leveduras são potenciais deterioradores de produtos lácteos. FEITOSA (1985) relatou contagens de bolores e leveduras em valores que variaram de  $8,6 \times 10^3$  a  $3,2 \times 10^6$  UFC/g em amostras de queijo de coalho produzidos no Ceará. FEITOSA *et al.* (2003) também constataram elevadas contagens desses microrganismos ( $1,9 \times 10^4$  a  $4,8 \times 10^8$  UFC/g) em queijo de coalho produzido em diferentes microrregiões do Rio Grande do Norte.

Todas as amostras de queijos avaliadas apresentaram coliformes totais e coliformes fecais, sendo confirmada a presença de *Escherichia coli* em 93% das amostras (Tabela 1). Em relação a coliformes fecais observou-se que 74,4% das amostras continham níveis superiores aos padrões estabelecidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001, 1996). Número elevado desses microrganismos indica alto nível de contaminação fecal, normalmente decorrente da qualidade da matéria-prima ou do processamento dos queijos sob condições inadequadas de higiene. A ocorrência de coliformes fecais em queijo de coalho em níveis superiores aos permitidos pela legislação tem sido relatada em vários estudos. No Ceará, FEITOSA (1985) constatou a presença de coliformes totais e fecais em 100% das amostras de queijo de coalho artesanal analisadas. No Rio Grande do Norte, FEITOSA *et al.* (2003) observaram coliformes fecais em 36% das amostras de queijo de coalho produzido em diferentes microrregiões do Estado. Na Paraíba, FLORENTINO e MARTINS (1999) detectaram índice elevado de coliformes fecais ( $9,8 \times 10^2$  a  $1,2 \times 10^5$  NMP/g) em queijo artesanal. Em Pernambuco, PAIVA e CARDONHA (1999) também constataram elevadas contagens de coliformes fecais na maioria das amostras de queijo de coalho comercializado em Recife (procedentes de 15 municípios).

A ocorrência de estafilococos coagulase positiva foi observada em 93,1% das amostras de queijo de coalho (Tabela 1), sendo que apenas 2,3% das mesmas enquadraram-se nos padrões microbiológicos vigentes para esta bactéria ( $5,0 \times 10^3$  UFC/g). Assim, 90,8% dos queijos foram classificados como produto em condições higiênico-sanitárias insatisfatórias. Concentrações superiores a  $10^5$  células/g podem propiciar a produção de enterotoxinas (FORSYTHE, 2000) e oferecer risco potencial à saúde do consumidor. A prevalência de *S. aureus* como agente etiológico

da mastite bovina, sua ubiquidade na natureza e o baixo nível socioeconômico dos ordenhadores (muitas vezes portadores assintomáticos e com hábitos higiênicos não-adequados) são fatores que favorecem a contaminação dos queijos (ADAMS e MOSS, 2000; GOMES e GALLO, 1995).

**TABELA 1 - CARACTERIZAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO COALHO PRODUZIDO EM DIFERENTES MICRORREGIÕES DO ESTADO DO CEARÁ**

<b>Microrganismos</b>	<b>Contagens</b>	<b>N de amostras</b>	<b>%</b>
Bolores e leveduras (UFC/g)	1,7 x 10 <sup>4</sup> a 1,6 x 10 <sup>9</sup>	43	100
Coliformes totais (NMP/g)	28 a 450	8	18,6
	451 a ≥ 2400	35	81,4
Coliformes fecais (NMP/g)	11 a 500	11	25,6
	501 a ≥ 2.400	32	74,4
<i>Escherichia coli</i> (NMP/g)	< 3	3	7,0
	3 a 240	36	83,7
	1.100 a ≥ 2.400	4	9,3
	< 10	3	6,9
Estafilococos coagulase positiva (UFC/g)	1,0 x 10 <sup>3</sup>	1	2,3
	3,0 x 10 <sup>4</sup> a 2,0 x 10 <sup>9</sup>	39	90,8
<i>Salmonella</i> sp. (em 25 g)	Ausência	28	65,1
	Presença	15	34,9
<i>Listeria</i> sp.(em 25 g)	Ausência	40	93,1
	Presença	3	6,9
<i>L. monocytogenes</i> (em 25 g)	Ausência	42	97,7
	Presença	1	2,3

FEITOSA (1985) observou a presença de *S. aureus* em 100% das amostras de queijo de coalho produzidos no Ceará. Alto índice de ocorrência desse patógeno em queijo de coalho também foi relatado em queijos produzidos nos estados de Pernambuco (MENDES *et al.*, 1999), da Paraíba (FLORENTINO e MARTINS, 1999) e do Rio Grande do Norte (FEITOSA *et al.*, 2003; PAIVA e CARDONHA, 1999).

*Salmonella* foi detectada em 34,9% das amostras de queijo de coalho (Tabela 1). A ingestão de *Salmonella* causa infecção alimentar e a legislação brasileira não permite sua presença em alimentos. Dessa maneira, os queijos analisados foram classificados como produtos impróprios para consumo. FEITOSA *et al.* (2003) relataram a presença de *Salmonella* em 9% dos queijos analisados, em diferentes microrregiões do estado do Rio Grande do Norte, enquanto que FLORENTINO e MARTINS (1999) observaram a presença dessa bactéria em 30% das amostras de queijo artesanal produzido em várias regiões do estado da Paraíba. Em queijo de coalho comercializado em Recife, MENDES *et al.* (1999) verificaram a presença de *Salmonella* em 73,3% das amostras oriundas de 15 municípios de Pernambuco.

*Listeria* sp. foi detectada em 6,9% das amostras de queijos coalho pelo teste ELISA, com confirmação de *L. monocytogenes* em 2,3% dessas pelo método convencional (Tabela 1). Como a presença desse patógeno não é permitida pela legislação, os queijos foram classificados como impróprios para o consumo. SOUZA (2002) também constatou baixa incidência (1,4%) de *L. monocytogenes* em amostras de queijo coalho artesanal comercializado a temperatura ambiente em Fortaleza-CE. Por outro lado, em queijo de coalho refrigerado, produzido industrialmente no Ceará, BRANCO (2002) detectou *L. monocytogenes* em 19% das amostras de queijo avaliadas.

#### **4 CONCLUSÃO**

Os queijos de coalho oriundos das seis microrregiões do Ceará envolvidos no estudo não apresentam segurança alimentar, visto que em média 74% das amostras apresentaram coliformes fecais, 90% estafilococos coagulase positiva, 35% presença de *Salmonella* e 2% *L. monocytogenes*. Além disso, a elevada população de bolores e leveduras detectada em 100% dos queijos indica deficiência nos procedimentos de higiene durante o processamento. Nessas condições, os queijos foram classificados como impróprios para o consumo humano, conforme padrões microbiológicos da legislação brasileira vigente.

#### **Abstract**

##### ***PATHOGENIC AND INDICATOR MICROORGANISMS ISOLATED FROM "COALHO" CHEESE PRODUCED IN THE CEARÁ STATE, BRAZIL***

The hygienic-sanitary quality of 43 "coalho" cheese samples produced in different regions

of the Ceará state was evaluated. Yeasts and molds were detected in 100% of the samples, varying from  $1.7 \times 10^4$  to  $1.6 \times 10^9$  CFU/g. All of the samples presented total and faecal coliforms with confirmation of *Escherichia coli* in 93.1% of the samples. Positive coagulase staphylococci were observed in 93,1% of the samples with countings ranging from  $1.0 \times 10^1$  to  $2.0 \times 10^9$  CFU/g. Only 2.3% of the samples were in accordance with the actual microbiological patterns for this bacteria. Presence of *Salmonella* was confirmed in 34.9% of the cheese samples. *Listeria* sp. was detected in 6.9% of the samples and posterior confirmation of *L. monocytogenes* in 2.3% of the samples. The elevated population of yeasts and molds (observed in 100% of the samples) indicated deficiency in the hygiene and sanitation proceedings becoming characterized as “product at unsatisfactory hygienic conditions”. The high population of positive coagulase staphylococci characterized the cheeses as “product at unsatisfactory hygienic and sanitary conditions”. “Coalho” cheeses originated from five regions of Ceará state involved in this study did not present food safety, mainly because of the presence of positive coagulase staphylococci, *L. monocytogenes* and *Salmonella*. The presence of the two last bacteria permitted to classify the cheeses as inappropriate to the human consumption.

**KEY-WORDS:** COALHO CHEESE; FOOD SAFETY; DAIRY-PRODUCTS-QUALITY; *Listeria monocytogenes*.

## REFERÊNCIAS

- 1 ADAMS, M.R.; MOSS, Y.M.O. **Food microbiology**. 2<sup>nd</sup> ed. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2000. p. 258-263.
- 2 APHA. American Public Health Association. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>th</sup> ed. Washington, 2001. 676 p.
- 3 BASTOS, M. do S.R.; NASSU, R.T.; BORGES, M. de F.; SILVA, J.B. Inspeção em uma indústria produtora de queijo tipo coalho no Estado do Ceará, visando a implantação das Boas Práticas de Fabricação. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 57, n. 321, p. 130-136, jul./ago. 2001.
- 4 BORGES, M. de F.; BRANDÃO, S.C.C.; PINHEIRO, A.J.R. Sobrevivência de *Salmonella* em queijo minas padronizado durante a maturação. **Revista de Microbiologia**, São Paulo, v. 21, n. 3, p. 276-281, jul./set. 1990.
- 5 BRANCO, M.A. de A.C. **Incidência de *Listeria monocytogenes* em queijo de coalho refrigerado produzido industrialmente**. Fortaleza. 2002. 63 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFC.
- 6 BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria nº 146, de 07/03/1996.

Regulamento técnico de identidade e qualidade de queijos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 11/03/1996. p. 3977-3978.

- 7 BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02/01/2001. Regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 02/01/2001. p. 1-54.
- 8 FEITOSA, T. **Estudos tecnológicos, físico-químicos, microbiológicos e sensoriais do queijo de coalho do estado do Ceará**. Fortaleza. 1985. 96 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFC.
- 9 FEITOSA, T.; BORGES, M. de F.; NASSU, R.T.; AZEVEDO, E.H. de F.; MUNIZ, C.R. Pesquisa de *salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no Estado do Rio Grande do Norte. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, n. 3, set./dez. 2003. (No prelo).
- 10 FLORENTINO, E.S.; MARTINS, R.S. Características microbiológicas do “queijo de coalho” produzido no Estado da Paraíba. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 59, p. 43-48, jan./fev. 1999.
- 11 FORSYTHE, S.J. **The microbiology of safe food**. London: Blackwell Science, 2000. p. 155-201.
- 12 GOMES, H. de A.; GALLO, G. R. Ocorrência de *Staphylococcus aureus* e produção de enterotoxinas por linhagens isoladas a partir de leite cru, leite pasteurizado tipo C e queijo minas frescal comercializados em Piracicaba - SP. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 158-161, jul./dez. 1995.
- 13 KNIGHT, M.T.; NEWMAN, M.C.; BENZINGER Jr, M.J.; AGIN, J.R.; ASH, M.; SIMS, P.; HUCHES, D. Tecra *Listeria* visual immunoassay (TLVIA) for detection of *Listeria* in foods; collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 79, n 5, p. 1083-1094, 1996.
- 14 MENDES, E.S.; LIMA, E.C.; NUMERIANO, A.K.M.; COELHO, M.I.S. *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. e coliformes em queijos de “coalho” comercializados em Recife. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66/67, p. 122-126, nov./dez. 1999.
- 15 MODI, R.; HIRVI, Y.; HILL, A.; GRIFFITHS, M.W. Effect of phage on survival of *Salmonella enteritidis* during manufacture and storage of cheddar



- cheese made from raw and pasteurized milk. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 64, n. 7, p. 927-933, 2001.
- 16 NASSU, R.T.; MOREIRA, C.G.; ROCHA, R.G. de A.; FEITOSA, T.; BORGES, M. de F.; MACEDO, A.A.M. Diagnóstico das condições de processamento e qualidade microbiológica de produtos regionais derivados do leite produzido no Estado do Rio Grande do Norte. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, Juiz de Fora, v. 55, n. 315, p. 21-126, jul./ago. 2000.
  - 17 PAGOTTO, F.; DALEY, E.; FARBER, J.; WARBURTON, D. **Health products and food branch Ottawa**: isolation of *Listeria monocytogenes* from all foods and environmental samples. Government of Canada, Janeiro 2001. Disponível em: <<http://www.hc-sc.ca/food-aliment>>. Acesso em 27 jan. 2003.
  - 18 PAIVA, M.S.D.; CARDONHA, A. M. S. Queijo de coalho artesanal e industrializado produzidos no Rio Grande do Norte: estudo comparativo da qualidade microbiológica. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 61, p. 33-37, jan./fev. 1999.
  - 19 PARK, S.; SPAHR, U.; JEMMI, T.; SALMAN, M.D. Risk factors for *L. monocytogenes* contamination of dairy products in Switzerland, 1990-1999. **Preventive Veterinary Medicine**, Fort Collins, v. 53, n. 1, p. 55-65, jan., 2002.
  - 20 PINTO, P. S. A.; GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L. Queijo minas: problema emergente de Saúde Pública. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 44, p. 22-27, jan./fev. 1996.
  - 21 RUDOLF, M.; SCHERER, S. High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 63, p. 91-98, jan. 2001.
  - 22 RYSER, E.T. Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in cheese and other fermented dairy products. In: RYSER, E. T.; MARTH, E. H. (Ed.) **Listeria, listeriosis and food safety**. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Marcel Dekker, 1999. Cap. 12, p. 411-503.
  - 23 SANTOS, F. A.; NOGUEIRA, N. A. P.; CUNHA, G. M. A. Aspectos microbiológicos do queijo tipo coalho comercializado em Fortaleza – Ceará. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 13, n. 1, p. 31-361, jan./jul. 1995.

- 24 SILVA, M.C.D.; HOFER, E.; TIBANA, A. Incidence of *Listeria monocytogenes* in cheese produced in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 61, n. 3, p. 354-356, mar. 1998.
- 25 SILVA, M.C.D.; DESTRO, M.T.; HOFER, E.; TIBANA, A. Characterization and evaluation of some virulence markers of *Listeria monocytogenes* strains isolated from Brazilian cheeses using molecular, biochemical and serotyping techniques. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 63, p. 275-280, jan. 2001.
- 26 SILVA, I.M.M.; ALMEIDA, R.C.C.; ALVES, M.A.O.; ALMEIDA, P.F. Occurrence of *Listeria* spp. in critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 81, n. 2, p. 241-248, Feb. 2003.
- 27 SILVA, N.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Livraria Varela, 2001. 229 p.
- 28 SOUZA, R.A. **Incidência de *L. monocytogenes* em queijo tipo coalho artesanal comercializado a temperatura ambiente em Fortaleza - CE**. Fortaleza, 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Departamento de Tecnologia de Alimentos, UFC.

## AGRADECIMENTOS

Ao Banco Mundial/PRODETAB pelo financiamento do projeto.