



UNIVERSIDADE FEDERAL DO NORTE DO TOCANTINS
CAMPUS DE ARAGUAÍNA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS- CCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SANIDADE ANIMAL E SAÚDE PÚBLICA
NOS TRÓPICOS - PPGSaspt

DENISE AMORIM DOS SANTOS

EFEITO DO FATIAMENTO NA QUALIDADE E SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA
DE QUEIJO MUÇARELA E APRESUNTADO

ARAGUAÍNA, TO

2023

Denise Amorim dos Santos

**Efeito do fatiamento na qualidade e segurança microbiológicas de queijo muçarela e
apresentado**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSaspt) da Universidade Federal do Norte do Tocantins como requisito para obtenção do título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública.

Orientador: Prof^o Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

Araguaína, TO

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins



A524e Amorim dos Santos, Denise.
EFEITO DO FATIAMENTO NA QUALIDADE E SEGURANÇA
MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MUÇARELA E APRESUNTADO. / Denise
Amorim dos Santos. – Araguaína, TO, 2023.

54 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins
– Câmpus Universitário de Araguaína - Curso de Pós-Graduação (Mestrado)
em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos, 2023.

Orientador: José Carlos Ribeiro Júnior Ribeiro Júnior

1. Microbiologia de Alimentos. 2. Controle de qualidade. 3. Micro-
organismos Indicadores. 4. Patógenos. I. Título

CDD 636.089

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer
forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte.
A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184
do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da
UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

DENISE AMORIM DOS SANTOS

EFEITO DO FATIAMENTO NA QUALIDADE E SEGURANÇA MICROBIOLÓGICAS DE
QUEIJO MUÇARELA E APRESUNTADO

Dissertação apresentada à UFNT - Universidade Federal do Norte do Tocantins, Campus Universitário de Araguaína, curso de Pós-Graduação em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos (PPGSaspt), foi avaliada para obtenção do título de Mestre em Sanidade Animal e Saúde Pública nos Trópicos e aprovada em sua forma final pelo Orientador e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 01 de novembro de 2023.

Banca Examinadora:



Documento assinado digitalmente
JOSE CARLOS RIBEIRO JUNIOR
Data: 22/12/2023 06:29:27-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. José Carlos Ribeiro Júnior

(Orientador)



Documento assinado digitalmente
FELIPE NAEL SEIXAS
Data: 30/01/2024 13:26:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Felipe Nael Seixas

(Examinador externo - UFPB)

Cátia Maria de Oliveira Lobo

Assinado de forma digital por Cátia Maria de Oliveira Lobo
DN: cn=Cátia Maria de Oliveira Lobo, o=UFNT, ou=Universidade
Federal do Norte do Tocantins, email=cmolobo@gmail.com, c=BR
Dados: 2024.01.01 13:36:47 -03'00'

Prof. Dra. Cátia Maria de Oliveira Lôbo

(Examinador externo - UFNT)

ARAGUAÍNA, TO
2023

AGRADECIMENTOS

“Pois dele, por ele e para ele são todas as coisas. A ele seja a glória para sempre! Amém” (Rm 11:36). Gratidão a Deus, em primeiro lugar, pois reconheço que sem ele nada sou.

Agradeço ao meu esposo Odizam e meus filhos Samuel e Davi por todo apoio que me ofereceram. Aos meus pais e meus irmãos pelo incentivo. Aos meus avós.

Ao meu orientador que com toda a sua paciência e dedicação ao ensino, me conduziu nesse processo tão importante em minha vida, corrigindo incansavelmente meu trabalho, sempre otimista com os resultados.

Ao Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia para Cadeia Produtiva do Leite (INCT-Leite) pelo apoio à minha pesquisa.

À toda equipe do Labma, pela parceria na pesquisa, pois sozinha seria impossível.

Aos meus amigos que me deram forças, estiveram ao meu lado quando precisei, sempre torcendo pelas minhas conquistas, nos momentos tristes ou alegres.

Aos integrantes da banca de qualificação, pelas correções que só melhoraram o meu trabalho.

Aos docentes do PPGSaspt pelo conhecimento compartilhado durante o curso.

Enfim, finalizo esse trabalho com a sensação de dever cumprido e gratidão no coração.

RESUMO

A qualidade e segurança dos produtos de origem animal deve ser continuamente monitorada durante o processamento industrial, já que se sabe que toda operação, etapa ou manipulação dos produtos já finalizados pode comprometer sua qualidade, sendo um potencial risco à saúde dos consumidores pela ingestão de patógenos. Este trabalho teve por objetivo, verificar o impacto microbiológico da operação de fatiamento em queijo muçarela e apresuntado. Para tanto, no período de junho a setembro de 2022 foram coletadas 20 amostras de queijo muçarela e 20 amostras de apresuntado antes e após a etapa de fatiamento automatizado em um entreposto inspecionado e regularmente em operação na região norte do Tocantins. Foram quantificados micro-organismos indicadores de qualidade (aeróbios mesófilos, psicrotóxicos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*) e verificada a presença ou ausência de patógenos (*Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*), utilizando metodologias microbiológicas internacionais e protocolos biomoleculares estabelecidos e validados intralaboratorialmente. Os resultados demonstraram que não houve aumento significativo dos micro-organismos indicadores de qualidade durante a etapa de fatiamento para ambas as amostras, integras ou fatiadas, exceto os resultados de mesófilos em muçarela apresentando diferença significativa ($p < 0,05$). Para os micro-organismos coliformes totais e *Staphylococcus aureus* houve um aumento após o fatiamento para muçarela e apresuntado. Um total de 844 análises de PCR foram realizadas e observou-se a presença de *Salmonella* spp. em 40% dos queijos muçarela íntegros e em 20% dos queijos muçarela fatiados, como também em 30% dos apresuntados íntegros e em 50% dos apresuntados fatiados, estando em desacordo com a legislação vigente. Em 20% dos queijos muçarela fatiados foram encontrados a presença de *S. aureus* com capacidade produtora de toxinas C e D. Não foram encontrados genes para *E. coli* e *L. monocytogenes*. O resultado desse estudo aponta para a necessidade de implementação das condições higiênico-sanitárias para a garantia da segurança dos alimentos durante a etapa de fatiamento.

PALAVRAS-CHAVE: Alimentos prontos para consumo. Microbiologia de alimentos. Micro-organismos indicadores. Patógenos. Saúde Pública

ABSTRACT

The quality and safety of products of animal origin must be continuously monitored during industrial processing, as it is known that every operation, step or manipulation of finished products can compromise their quality, posing a potential risk to consumer health through the ingestion of pathogens. . This work aimed to verify the microbiological impact of the slicing operation on mozzarella and ham cheese. To this end, from June to September 2022, 20 samples of mozzarella cheese and 20 samples of ham were collected before and after an automated slicing stage in a warehouse operated and regularly in operation in the northern region of Tocantins. Quality indicator microorganisms (mesophilic aerobes, psychrotrophs, total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*) were quantified and the presence or absence of pathogens (*Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*) was verified, using international microbiological methodologies and established and validated biomolecular protocols. intralaboratory. The results demonstrated that there was no significant increase in quality indicator microorganisms during the slicing stage for both samples, whole or sliced, except for the results of mesophiles in mozzarella showing a significant difference ($p < 0.05$). For total coliform microorganisms and *Staphylococcus aureus* there was an increase after slicing for mozzarella and ham. A total of 844 PCR analyzes were performed and the presence of *Salmonella* spp. in 40% of whole mozzarella cheeses and in 20% of sliced mozzarella cheeses, as well as in 30% of whole mozzarella cheeses and in 50% of sliced mozzarella cheeses, being in disagreement with current legislation. In 20% of the sliced mozzarella cheeses, the presence of *Staphylococcus aureus* with the capacity to produce toxins C and D was found. No genes were found for *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. The result of this study points to the need to implement hygienic-sanitary conditions to guarantee food safety during the slicing stage.

KEYWORDS: Food microbiology. Microorganism indicators. Pathogens. Public health. Ready-to-eat foods.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Genes, oligonucleotídeos indicadores (<i>primers</i>) e referência dos protocolos seguidos na pesquisa molecular dos micro-organismos sugestivos de patógenos nas amostras de queijo muçarela e apresuntado pré e pós fatiamento em uma fatiadora automática no norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022.....	30
Tabela 2 Contagens médias (desvio padrão) de grupos de micro-organismos indicadores da qualidade em peças íntegras e fatiadas de muçarela e apresuntado em uma indústria do norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022.	32
Tabela 3 Pesquisa dos patógenos <i>Salmonella spp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> por análise biomolecular de isolados sugestivos de amostras de queijos muçarela antes e após o fatiamento automatizado em uma fatiadora do norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022.	35
Tabela 4 Resultados das análises microbiológicas de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em queijo muçarela, em UFC/g.	45
Tabela 5 Resultados das análises microbiológicas de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> em apresuntados, em UFC/g.	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APPCC – Análise de Pontos e Perigos Críticos de Controle

BPFs – Boas Práticas de Fabricação

CDC – *Center of Disease Control and Prevotion*

DTAs – Doenças transmitidas por alimentos

FDA – *Food and Drug Administration*

EAEC – *Escherichia coli* enteroagregativa

EIEC – *Escherichia coli* enteroinvasiva

EHEC – *Escherichia coli* enterohemorrágica

EPEC – *Escherichia coli* eteropatogênica

ETEC – *Escherichia coli* enterotoxigênica

MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

PCR – Reação em cadeia da Polimerase

PNCP – Programa Nacional de Controle de Patógenos

PPHO – procedimento padrão de higiene operacional

SE – enterotoxinas estafilocócicas

SIF – Serviço de Inspeção Federal

SISBI-POA – Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal

SILEMG - Sindicato da Indústrias de Laticínios de Minas Gerais

STEC – *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga

TSST-1 – Toxina do choque tóxico

UFC – Unidade formadora de colônias

WHO – *World Health Organization*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Método ISO 6579:2002/Amd 1:2007 modificado para análise qualitativa de Salmonella spp. em alimentos	47
Figura 2 Método ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004 modificado para análise qualitativa de Listeria spp. em alimentos	48

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 OBJETIVOS.....	11
2.1 Geral.....	11
2.2 Específico.....	11
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1 Queijo muçarela.....	12
3.2 Apresuntado.....	12
3.3 Aspectos microbiológicos na etapa de fatiamento.....	13
3.4 Micro-organismos indicadores de qualidade.....	14
3.4.1 Aeróbios mesófilos.....	14
3.4.2 Psicrotróficos.....	15
3.4.3 Coliformes totais e termotolerantes.....	16
3.5 Micro-organismos patogênicos.....	16
3.5.1 <i>Salmonella</i> spp.....	16
3.5.2 <i>Escherichia coli</i>	17
3.5.3 <i>Staphylococcus aureus</i>	18
3.5.4 <i>Listeria monocytogenes</i>	19
REFERÊNCIAS.....	20
CAPÍTULO II.....	28
4 ARTIGO CIENTÍFICO - EFEITO DO FATIAMENTO INDUSTRIAL NA QUALIDADE E SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MUÇARELA E APRESUNTADO.....	28
Resumo.....	28
Introdução.....	28
Material e Métodos.....	30
Conclusão.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO III.....	45
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
6 ANEXOS.....	45

CAPÍTULO I

1 INTRODUÇÃO

Os produtos de origem animal são aqueles nos quais as matérias-primas empregadas no processo de fabricação estão, direta ou indiretamente, relacionados aos animais. Produtos cárneos e derivados de leite constituem fontes importantes de nutrientes fundamentais para a manutenção da saúde humana, como vitaminas, sais minerais e proteínas (BOAS *et al.*, 2020; SIQUEIRA *et al.*, 2021). Porém, tais constituintes podem se tornar fontes de substratos para o desenvolvimento de micro-organismos deteriorantes como os proteolíticos e lipolíticos, afetando a qualidade final, além de patógenos que podem comprometer a sua segurança para o consumo, comprometendo o potencial econômico do produto e trazer riscos à saúde pública (KASNOWSKI *et al.*, 2010).

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) ocorrem quando há ingestão de alimentos contaminados por patógenos ou seus metabólitos, podendo evoluir a casos graves, como septicemia e meningoencefalites, quando os indivíduos afetados são mais vulneráveis (NAKAMURA; NASU, 2020). A contaminação dos alimentos por patógenos pode ocorrer desde a obtenção das matérias-primas até a manipulação e armazenamento inadequados, podendo ser potencializada por outros fatores, demonstrando a necessidade de constantes treinamentos e atualizações em programas como Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), que trarão ao produto final qualidade higiênico-sanitária satisfatória (SIRTOLI; COMARELLA, 2018).

No Brasil há legislações específicas que estabelecem padrões microbiológicos para o controle de qualidade e segurança dos alimentos destinados ao consumo humano. Patógenos como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, se presentes nos alimentos, podem causar infecções, intoxicações ou toxinfecções nos consumidores (BRASIL, 2022).

Mesmo em estabelecimentos regularmente inspecionados, a produção em grande escala e a intensa manipulação dos produtos podem levar a ocorrência de perigos para a saúde pública. Dessa forma, é fundamental que todas as etapas, processos, equipamentos e métodos de produção dos alimentos estejam alinhados para garantir a qualidade dos produtos regularmente produzidos e comercializados (CHEN; ZHAO; DOYLE, 2014).

O fatiamento dos produtos de origem animal, como os presuntos, apresuntados e queijos, pode ser um dos pontos de contaminação dos produtos processados (CHEN; ZHAO; DOYLE, 2014). Sabe-se que no fluxograma de produção desses alimentos existem etapas que

minimizam ou eliminam patógenos, como o cozimento e pasteurização, respectivamente (VESELÁ *et al.*, 2022). No entanto, o fatiamento é realizado após esses processos que contribuem para a segurança microbiológica. Dessa forma, se a integridade dos alimentos não for mantida durante o fatiamento, é possível que esses produtos ofereçam risco ao consumidor, e apresentem menor qualidade e durabilidade.

A partir do momento da abertura das embalagens originais dos alimentos, medidas sanitárias devem ser aplicadas para garantia da sua vida útil e segurança. A fim de manter a qualidade, no Estado do Paraná, qualquer manipulação, como o fatiamento de produtos de origem animal, exige que seja realizada em estabelecimentos sob inspeção sanitária, com o monitoramento do processo, minimizando o risco do comprometimento da qualidade do produto, mesmo em estabelecimentos varejistas (SESA-PR, 2016).

De forma geral, as ações como fracionar, embalar e reembalar alimentos devem ser realizadas em condições higiênico-sanitárias adequadas, como medida preventiva para garantir a inocuidade dos produtos.

Considerando que os produtos de origem animal podem veicular micro-organismos causadores de doenças no homem e que alteram a sua qualidade microbiológica, destaca-se a necessidade de conhecer os impactos da operação de fatiamento, os micro-organismos que podem ser transferidos durante o processo, bem como os problemas que podem gerar à saúde coletiva. Espera-se, com os dados obtidos nesta pesquisa, implementar estratégias, a fim de intervir e minimizar a contaminação do produto final e, conseqüentemente, diminuição do risco à ocorrência de DTAs.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a qualidade microbiológica de queijo muçarela e apresuntado antes e após a etapa de fatiamento, identificando e caracterizando os micro-organismos causadores de doenças transmitidas ao homem, em indústria localizada no norte do estado do Tocantins, fundamentando estratégias de mitigação de risco e prejuízos à saúde pública.

2.2 Específico

1. Quantificar micro-organismos indicadores da qualidade microbiológica em amostras de apresuntado e queijo muçarela: aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*;
2. Pesquisar micro-organismos patogênicos à saúde humana, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em queijo muçarela e apresuntado antes e após a etapa do fatiamento;
3. Caracterizar os fatores de virulência de patógenos de importância em saúde pública nesses alimentos;
4. Verificar o efeito do fatiamento das peças de queijo muçarela e apresuntado na qualidade e segurança microbiológica;

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Queijo muçarela

De acordo com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), o Brasil encontra-se em terceiro lugar no ranking mundial em produção de leite (BRASIL, 2023). Devido à sua grande extensão territorial, diversidade cultural e oferta de matéria-prima são produzidas diversas variedades de queijos (ABIQ, 2023)

Estima-se, segundo o Sindicato das Indústrias de Laticínios de Minas Gerais (SILEMG), que em 2020 foram processados no Brasil, 1,2 milhão de toneladas de queijos (SEAPA, 2023), sendo o queijo muçarela o mais produzido e consumido (ABIQ, 2023).

O queijo muçarela é um produto resultante da filagem de uma massa acidificada a partir da coagulação do leite, através de enzimas ou coalho, com a ação ou não de bactérias lácticas específicas (BRASIL, 1997).

De acordo com a Portaria nº 146, de 7 de março de 1996 (BRASIL, 1996), os queijos podem variar quanto ao teor de umidade e matéria gorda. Em relação ao teor de umidade os queijos podem ser de baixa (até 35,9%), média (entre 36,0% e 45,9%), alta umidade (entre 46,0 e 54,9%) e, de muito alta umidade (não inferior a 55,0%). Quanto a concentração de gordura no extrato seco (GES) podem ser extra gordo (contendo mínimo de 60%), gordos (entre 45 e 59,9%), semigordo (45 e 44,9%), magros (entre 10 e 24,9%) e desnatados (menos de 10%). Segundo Silva e Cortez (2021), o queijo muçarela enquadra-se em queijos de alta umidade e semigordo.

O processamento de queijo muçarela engloba algumas etapas como recepção do leite, filtração, pasteurização, adição de ingredientes, coagulação, corte, fermentação, filagem, salga, dentre outros. É muito apreciado na culinária brasileira, sendo utilizado no preparo de pizzas, principalmente por sua capacidade de derretimento quando submetido ao aquecimento (SILVA *et al.*, 2019)

3.2 Apresuntado

Apresuntado é o produto cárneo industrializado, obtido a partir de recortes ou cortes de massas musculares dos membros anteriores e/ou posteriores de suínos, adicionados de ingredientes e submetido ao processo adequado. Tem como ingredientes obrigatórios a carne de pernil e/ou paleta de suíno, sal, nitrito e/ou nitrato de sódio e/ou potássio em forma de salmoura (BRASIL, 2022).

De acordo com o MAPA, apresuntados devem conter no máximo 75% de água, 5% de carboidratos e 12 % de gordura, dentre outros parâmetros (BRASIL, 2022), o que torna esse

alimento um rico substrato para multiplicação de micro-organismos (CHAILLOU *et al.*, 2015; FEENEY *et al.*, 2016).

Tecnologicamente, os apresuntados diferem-se dos presuntos basicamente em relação à sua composição. Presuntos são derivados fabricados exclusivamente com as porções musculares do pernil suíno, enquanto nos apresuntados podem ser utilizados parcial ou integralmente cortes do dianteiro (paleta) (BRASIL, 1996). O processo tecnológico de produção, no entanto, é o mesmo. As massas musculares são preparadas com adição de alguns aditivos, sal e açúcar, submetidos ao embutimento, enformagem e cozimento (BESERRA *et al.*, 2003).

3.3 Aspectos microbiológicos na etapa de fatiamento

A comercialização de frios fatiados é comum em estabelecimentos varejistas como supermercados e padarias. Há uma predileção por esses alimentos, por parte dos consumidores, devido a praticidade e por serem prontos para o consumo. Com o objetivo de atender a essa demanda, os estabelecimentos fatiam grandes quantidades de frios e armazenam em balcão refrigerado, o que pode favorecer a proliferação de micro-organismos patogênicos. A indústria também realiza o fatiamento de frios, porém em ambientes controlados e sob fiscalização. No entanto, no que diz respeito a segurança dos alimentos, independente do ambiente onde se realiza o processo de fatiamento, o consumidor pode estar exposto a DTAs, visto que tais alimentos podem ser consumido sem preparos adicionais (MARINHEIRO *et al.*, 2015; HA, LEE, KANG, 2017).

É sabido que processamentos térmicos realizados para controle de patógenos em alimentos, como pasteurização e cozimento, são eficazes para torná-los seguros para o consumo (LOBACZ; KOWALIK; ZULEWSKA, 2020). Entretanto, existe um risco potencial de contaminação pós-processamento por meio de utensílios, equipamentos e manipuladores, visto que patógenos podem ser transferidos durante a etapa de fatiamento, além da possibilidade de serem recuperados em superfícies secas desses equipamentos (CHEN, ZHAO, DOYLE, 2014).

O estudo realizado por Sirsat *et al.*, (2014) mostra que diversas regiões do fatiador apresentam risco para contaminação cruzada. Desse modo a higienização desses equipamentos é um fator importante para a segurança dos alimentos. Mesmo com a utilização de sanitizantes adequados, a falta de periodicidade e de uma higienização mais completa, incluindo a desmontagem do equipamento, pode ocasionar acúmulo de resíduos (TORRES *et al.*, 2021), formação de biofilmes e contaminação cruzada (CHEN, ZHAO, DOYLE, 2014).

A *Food and Drug Administration* (FDA) preconiza que a limpeza e desinfecção de superfícies e utensílios que entram em contato com alimentos que necessitam de um controle de temperatura para manutenção da segurança microbiológica, deve ser realizada a cada 4 horas ou quando houver suspeita da ocorrência de contaminação (FDA, 2022).

Outro fator importante para manutenção da qualidade higiênico-sanitária dos alimentos é o treinamento dos manipuladores. As Boas Práticas de Fabricação (BPF) é uma importante ferramenta de capacitação que pode trazer resultados positivos para a segurança dos alimentos (LIPCSEI *et al.*, 2018).

Alguns micro-organismos são importantes como indicadores de qualidade e segurança ao consumo. O fato de estarem presentes no alimento é um alerta para a indústria, pois definem se estão impróprios para o consumo, como o caso da presença de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Outros micro-organismos são avaliados pela quantidade presente no alimento, indicando as condições em que ocorreu o processamento, como *Staphylococcus* coagulase positiva, psicrotróficos, aeróbios mesófilos e coliformes (TORTORELLO, 2003; SOARES, *et al.*, 2021).

Entre os anos de 2009 e 2019, foram registrados 7.674 surtos de DTAs no Brasil, causando 109 óbitos (AMARAL *et al.*, 2021). Destes óbitos, o estado do Tocantins registrou 12 casos, ficando em segundo lugar da região norte. Quanto ao agente etiológico, os três micro-organismos com maior envolvimento nos surtos são a *E. coli* com 29% dos casos, *Salmonella* spp. com 17% e *S. aureus* com 16% (AMARAL *et al.*, 2021). Apesar dos altos números de casos, estima-se que esses valores sejam maiores, pois muitos consumidores não procuram atendimento médico, portanto não são registrados (SOUSA *et al.*, 2021).

3.4 Micro-organismos indicadores de qualidade

São micro-organismos utilizados para avaliação da qualidade dos alimentos e de forma geral podem estar associados a presença de patógenos. Dentre os vários micro-organismos que podem ser utilizados como indicadores, pode-se citar os aeróbios mesófilos, psicrotróficos e coliformes totais e termotolerantes (MOTLAGH; YANG, 2019).

3.4.1 Aeróbios mesófilos

As bactérias aeróbias mesófilas têm sua temperatura ótima para multiplicação em torno de 30 a 45° C (FORSYTHE, 2013). Durante a produção dos alimentos é esperado que ocorra um aumento na contagem bacteriana, porém as etapas de aquecimento asseguram a inocuidade

dos alimentos, causando a destruição da maior parte da microbiota presente (VESELÁ *et al.*, 2022).

A contagem total de mesófilos é utilizada na indústria de alimentos como indicadores de qualidade, avaliando a eficácia de etapas de sanitização (SILVA *et al.*, 2017), de produção de alimentos ou tempo de prateleira (SOUZA *et al.*, 2020).

Este grupo de bactérias foi utilizado em um estudo realizado por Souza *et al.* (2020) demonstrando que a contagem total diminuiu estatisticamente após treinamento realizado com manipuladores de alimentos, evidenciando a importância dessa ferramenta.

3.4.2 Psicrotróficos

A refrigeração é utilizada para manutenção da qualidade físico-química e microbiológica dos alimentos (NARVHUS *et al.*, 2021). Ao serem armazenados em baixas temperaturas (0 e 7°C), são fornecidas condições favoráveis para o desenvolvimento de bactérias psicrotróficas, através de mecanismos de adaptação ao frio (SILVA *et al.*, 2017; XIN *et al.*, 2017; SANTOS *et al.*, 2019).

Os micro-organismos psicrotróficos desempenham um papel significativo dentro da cadeia de alimentos refrigerados. São responsáveis pela deterioração desses produtos, causando impactos negativos na saúde humana e na segurança dos alimentos, resultando em prejuízos econômicos (WEI *et al.*, 2019). Segundo Ribeiro Júnior *et al.* (2019), para que haja melhor qualidade nos derivados de leite, como o queijo, é necessário que a contagem de bactérias psicrotróficas na matéria-prima sejam reduzidas.

Ainda que os processos térmicos sejam eficientes para o controle desse grupo de bactéria, as enzimas secretadas, proteases e lipases, são resistentes ao calor e não podem ser totalmente inativadas (YUAN *et al.*, 2018; NARVHUS *et al.*, 2021). A atividade enzimática psicrotrófica tanto é influenciada pela temperatura e tempo de armazenamento quanto pelo potencial de cada bactéria na produção de enzimas (NARVHUS *et al.*, 2021), gerando efeitos adversos aos alimentos.

No queijo muçarela, mesmo quando armazenado a temperaturas de congelamento, -18 °C, as enzimas podem causar alterações sensoriais, como o sabor amargo (ALINOVI *et al.*, 2020). Sua capacidade de derretimento é aumentada com o tempo de armazenamento, devido a hidrólise de proteínas causando a sua desestruturação durante o aquecimento (SILVA *et al.*, 2017).

Em produtos cárneos, os micro-organismos psicrotróficos podem ser os responsáveis pelo desenvolvimento de sabor e odor pútrido, descoloração e limo (COELHO; BRITO, 2021).

Diante da relevante importância desse grupo de bactérias, as indústrias de alimentos necessitam investir em métodos de controle eficazes e tecnologias rápidas de detecção, a fim de garantir a oferta de alimentos seguros.

3.4.3 Coliformes totais e termotolerantes

Os coliformes totais são um grupo de bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas e são micro-organismos indicadores de qualidade higiênico-sanitária, pois devido a facilidade de inativação por sanitizantes, esse grupo expressa as condições higiênicas ambientais em que o processo foi realizado (SILVA *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2020).

Coliformes termotolerantes são um subgrupo dos coliformes totais, fermentadores de lactose em temperaturas de 44,5 a 45,5°C, com produção de gases. Várias espécies compõem este grupo, no entanto a *Escherichia coli* está associada a contaminação fecal (FORSYTHE, 2013; SILVA *et al.*, 2017).

A contagem de coliformes totais na indústria de alimentos é realizada com frequência. A portaria do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento, nº 837 de 18 de junho de 2018, determina que o queijo muçarela deve conter no máximo 5.000 UFC/g.

Os coliformes totais são facilmente eliminados no processo de pasteurização, sendo assim Martin *et al.* (2021), apontam para a recontaminação pós pasteurização a causa de altas contagens de coliformes em queijos feitos com leite pasteurizado.

Outra característica da presença em grandes quantidades do grupo coliformes em queijos é a presença de olhaduras que são resultados da multiplicação de micro-organismos, que ao fermentar a lactose produzem o gás CO₂ (GUEDES *et al.*, 2023).

3.5 Micro-organismos patogênicos

3.5.1 *Salmonella* spp.

A *Salmonella* spp. é uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, Gram-negativa e não fermentadora de lactose (LOBACZ; KOWALIK; ZULEWSKA, 2019). Atualmente são conhecidas duas espécies: *S. bongori* e *S. enterica*, sendo incluído nessa última patótipos patogênicos aos seres humanos, como *S. typhi* (LELIÈVRE *et al.*, 2019).

É considerado um dos micro-organismos de maior relevância quando se trata de doenças de origem alimentar (MORASI *et al.*, 2022), podendo colonizar os humanos a partir da ingestão de alimentos de origem animal ou água contaminados com o patógeno (RUKAMBILE *et al.*,

2019). É uma bactéria oportunista quando, em especial, pessoas imunocomprometidas são infectadas (MUTZ *et al.*, 2020).

Possui uma capacidade de adaptação a ambientes de estresse, evidenciando fator de virulência como adesão a superfícies de ambiente industrial, formando biofilmes a baixas temperaturas (OLIVEIRA *et al.*, 2019; WEBBER *et al.*, 2019; MORASSI *et al.*, 2022).

Quando o alimento é contaminado durante o processo de fabricação e após as etapas que podem conferir segurança microbiológica, não há como assegurar que o patógeno será eliminado no produto final. Diante disso, é necessário que a *Salmonella* spp. seja controlada dentro da cadeia produtiva de alimentos com a finalidade de diminuir surtos (LELIÈVRE *et al.*, 2019; MUTZ *et al.*, 2020).

A principal forma de eliminação dessa bactéria são os processos térmicos (WEBER *et al.*, 2019). Outros métodos de controle desse patógeno também podem ser empregado, como secagem e alta concentração de sal em produtos lácteos e cárneos (FORSYTHE, 2013), embora a *Salmonella* spp. possa sobreviver e se multiplicar em alimentos com baixo teor de umidade (MORASSI *et al.*, 2022).

3.5.2 *Escherichia coli*

É uma bactéria da família *Enterobacteriaceae*, colonizadora do trato intestinal de animais de sangue quente (SILVA *et al.*, 2017), comumente utilizada para avaliação de contaminação fecal em água e alimentos (JANG *et al.*, 2017). Pode ser encontrada naturalmente no solo, desde que as condições ambientais como umidade, temperatura e nutrientes sejam favoráveis (ISHII *et al.*, 2010).

As cepas de *E. coli* não são apenas comensais, mas podem também ser patogênicas com capacidade de expressar vários fatores de virulência, como a produção de toxinas e habilidade de se adaptar a outros ambientes (KAPER; NATARO; MOBLEY, 2004) tornando-se relevantes para a segurança dos alimentos.

São bem conhecidas seis cepas de *E. coli* diarreiogênicas: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), produtora de toxina shiga (STEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC) e enterotoxigênica (ETEC) (ARANDA; FAGUNDES-NETO; SCALETSKY, 2004).

Dentre as estirpes diarreiogênicas, as toxinas produzidas pelas cepas patogênicas de *E. coli* produtora de toxina *shiga* (STEC) geram um risco em potencial para a saúde pública devido a severas manifestações clínicas da infecção de origem alimentar, provocando desde uma

diarreia sanguinolenta a um quadro grave chamado de Síndrome Hemolítico-Urêmica (SHU) (JOSEPH *et al.*, 2021).

Sendo então o gado leiteiro e de corte o principal reservatório de STEC (RYU *et al.*, 2020), os alimentos derivados do leite e da carne tornam-se ameaça a saúde coletiva, quando não observadas as práticas adequadas de fabricação (CALDORIN *et al.*, 2013).

A exposição dos consumidores a alimentos contaminados por STEC pôde ser comprovada através do isolamento dessa cepa em derivados lácteos pasteurizados e derivados cárneos prontos para o consumo, evidenciando a habilidade de resistência dessa bactéria a tratamentos térmicos (ASSIS *et al.*, 2021; ROSARIO *et al.*, 2021).

3.5.3 *Staphylococcus aureus*

São bactérias Gram-positivas da família *Staphylococcaceae*, não formadoras de esporos e esféricas, que se arranjam de forma semelhante a cachos de uvas. A temperatura ideal para a multiplicação pode variar entre 30 e 40°C (SILVA *et al.*, 2017).

São relevantes entre as bactérias que causam DTAs, pois estão presentes na microbiota natural dos humanos, ocasionando possíveis contaminações a partir de práticas inadequadas como ausência de luvas e má higienização das mãos durante a manipulação de alimentos (ANDRADE JÚNIOR *et al.*, 2019; PAL *et al.*, 2022).

Algumas cepas de *S. aureus* possuem vários fatores de virulência, dentre eles a produção de enterotoxinas, capazes de causar infecções e intoxicações. Dentre as infecções estafilocócicas pode-se citar a síndrome da pele escaldada atingindo principalmente crianças, causando descamação na pele e a síndrome do choque tóxico levando a falência múltipla de órgãos (FERRY *et al.*, 2005; PINCHUK; BESWICK; REYES, 2010).

Os surtos de intoxicação alimentar por toxinas estafilocócicas (SEs) são, na maioria, causados por *S. aureus* (LV *et al.*, 2021). Devido ao aumento do consumo de alimentos prontos associados a estabilidade térmica das SEs e diante da ampla distribuição desse patógeno tornam as intoxicações alimentares causadas por *S. aureus* uma grande preocupação para a saúde pública (GRISPOLDI *et al.*, 2021).

De uma forma geral, há uma correlação entre a presença do patógeno e as toxinas produzidas por ele, ou seja, quanto maior a quantidade de *S. aureus* em um alimento, maior poderá ser a quantidade de SEs presentes. No entanto, percebe-se que vários fatores atuam na produção das toxinas, como as características do alimento e a capacidade de sobrevivência das cepas (GRISPOLDI *et al.*, 2021).

A reação coagulase positiva é considerada um indicativo de patogenicidade, associando algumas espécies a DTAs (SILVA *et al.*, 2017), no entanto, há estudos que apontam a capacidade de síntese das SEs por micro-organismos coagulase negativa, evidenciando a importância do controle não só do *S. aureus*, mas de todos os micro-organismos do gênero (CHAJĘCKA-WIŚNIEWSKI; GAJEWSKA; ZADERNOWSKA, 2020).

A observação do estudo de Lim *et al.* (2023) demonstra que as superfícies de contato dentro da cadeia produtiva dos alimentos é um ponto importante para o controle da proliferação desse micro-organismo.

No estudo realizado por Lv *et al.* (2021) foram detectados um total de oito toxinas envolvidas em surtos de origem alimentar na China, sendo a toxina E a mais comum dentre todas.

Em um levantamento realizado por Bencardino, Amagliani e Brandi (2021), nas últimas duas décadas, vários surtos de intoxicação alimentar por enterotoxinas estafilocócicas tiveram como origem de contaminação manipuladores assintomáticos, confirmando o manuseio dos alimentos de forma inadequada como fonte de contaminação cruzada na cadeia produtiva.

3.5.4 *Listeria monocytogenes*

É uma bactéria Gram-positiva da família *Listeriaceae*, não produtora de endósporos, movimentando-se por meio de flagelo, com capacidade de sobrevivência em temperaturas que podem variar entre 0 e 42°C. A pasteurização é um método eficaz de controle dessa bactéria, pois é bastante sensível ao calor (FORSYTHE, 2013).

L. monocytogenes é encontrada em ambientes úmidos, solo, água e pode estar presente em todas as áreas da cadeia produtiva de alimentos refrigerados. Tem a capacidade de sobreviver e se multiplicar em temperaturas de *refrigeração*, além de ser formadora de biofilmes, permitindo a sua persistência em ambientes industriais, incluindo de produtos cárneos e lácteos (SANTOS, *et al.*, 2019; TADIELO *et al.*, 2022). A presença dessa bactéria nos alimentos demonstra que o processamento e as condições ambientais podem contribuir para a ocorrência de contaminação cruzada (BARRÍA *et al.*, 2020).

Geralmente, os surtos de listeriose, doença causada pela *L. monocytogenes*, tem como origem os alimentos prontos para o consumo, que são armazenados sob refrigeração por longos períodos, permitindo a multiplicação desse patógeno. A associação de surtos a *L. monocytogenes* é difícil, tendo em vista o tempo o surgimento dos primeiros sintomas, que podem variar entre dias e até meses após a ingestão de alimentos contaminados (BUCHANAN *et al.*, 2017; KAPTCHOUANG TCHATCHOUANG *et al.*, 2020).

Para o controle desse micro-organismo dentro da cadeia produtiva é necessário um gerenciamento da sanitização de todas as etapas onde o alimento está suscetível, incluindo a desmontagem de equipamentos (BUCHANAN *et al.*, 2017).

O padrão microbiológico para *L. monocytogenes* é estabelecido pela Instrução Normativa 161, de 1 de julho de 2022, determinando que em alimentos prontos para o consumo, não são aceitas amostras com contagem superior a 100 UFC/g ou mL, em um plano amostral de três classes, em cinco unidades coletadas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente (BRASIL, 2022).

Diante dessas condições, a indústria de alimentos precisa validar prazos e temperaturas seguras para a manutenção da segurança dos alimentos fatiados (RIVAS *et al.*, 2022), pois a concentração de micro-organismos pode aumentar se os alimentos forem armazenados por longos períodos.

Embora a legislação vigente aceite o limite de 100 UFC/g ou mL (BRASIL, 2022), o Programa Nacional de Controle de Patógenos (PNCP), levando em consideração os riscos inerentes a *L. monocytogenes*, determina a ausência desse patógeno em alimentos prontos para o consumo produzidos em ambientes que industrializam alimentos de origem animal, garantindo a inocuidade e segurança em relação à *L. monocytogenes* (BRASIL, 2009).

REFERÊNCIAS

ABIQ -Associação Brasileira das Indústrias de Queijo Disponível em:

https://www.abiq.com.br/queijos_ler.asp?codigo=1910&codigo_categoria=6&codigo_subcategoria=30 Acesso dia 24 mai 2023

ALINOVI, M.; WIKING, L.; CORREDIG, M.; MUCCHETTI, G. Effect of frozen and refrigerated storage on proteolysis and physicochemical properties of high-moisture citric mozzarella cheese. *Journal of dairy Science*. v. 103, n. 9, p. 7775-7790, 2020.

AMARAL, S. M. B.; ALMEIDA, A. P. F.; DA SILVA, F. S.; SILVA, Y. Y. V.; DAMACENO, M. N. Panorama dos surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil no período de 2009 a 2019. **RECIMA21-Revista Científica Multidisciplinar**. v. 2, n. 11, p. e211935-e211935, 2021.

ANDRADE JÚNIOR, F. P.; DE MEDEIROS LIMA, B. T.; ALVES, T. W. B.; DA SILVA MENEZES, M. E. Fatores que propiciam o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em alimentos e riscos atrelados a contaminação: uma breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 18, n. 1, p. 89-93, 2019.

ARANDA, K. R. S.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, I. C. A. Evaluation of multiplex PCRs for diagnosis of infection with diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. **Journal of clinical microbiology**, v. 42, n. 12, p. 5849-5853, 2004

- ASSIS, D. C. S.; SILVA, T. M. L.; BRITO, R. F.; SILVA, L. C. G.; LIMA, W. G.; BRITO, J. C. M. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine meat and meat products over the last 15 years in Brazil: A systematic review and meta-analysis. **Meat Science**, v. 173, p. 108394, 2021
- BARRÍA, C.; SINGER, R. S.; BUENO, I.; ESTRADA, E.; RIVERA, D.; ULLOA, S.; MORENO-SWITT, A. I. Tracing *Listeria monocytogenes* contamination in artisanal cheese to the processing environments in cheese producers in southern Chile. **Food microbiology**, v. 90, p. 103499, 2020.
- BENCARDINO, D.; AMAGLIANI, G.; BRANDI, G. Carriage of *Staphylococcus aureus* among food handlers: An ongoing challenge in public health. **Food control**, v. 130, p. 108362, 2021.
- BESERRA, F. J.; MELO, L. R. R.; RODRIGUES, M. D. C. P.; SILVA, E. M. C. D.; NASSU, R. T. Desenvolvimento e caracterização físico-química e sensorial de embutido cozido tipo apresuntado de carne de caprino. **Ciência Rural**, v. 33, p. 1141-1147, 2003.
- BRASIL, MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/mapa-do-leite>
Acesso em 24 mai 2023
- BRASIL. Instrução Normativa nº 9, de 8 de abril de 2009. Procedimentos de controle da *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para o consumo, 2009.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 161 de 1º de julho de 2022. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. 2022.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Secretaria da Defesa Agropecuária. Portaria DAS nº 701, de 17 de novembro de 2022. Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do apresuntado. 2022
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Portaria nº 366 de 4 de setembro de 1997. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Massa para elaborar Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela). 1997
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Portaria nº 146 de março de 1996. Aprovar os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos. 1996
- BOAS, A. F. V.; BELPIEDE, E. L. S.; DA SILVA, N. R. F.; DA SILVA, M. F.; VEIGA, S. M. O. M. Qualidade microbiológica de queijos minas frescal artesanais e industrializados. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n. 10, 83536-83552, 2020.
- BUCHANAN, R. L.; GORRIS, L. G.; HAYMAN, M. M.; JACKSON, T. C.; & WHITING, R. C. A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. **Food control**, v. 75, p. 1-13, 2017.

CALDORIN, M.; ALMEIDA, I. A. Z. C.; PERESI, J. T. M.; ALVES, E. C. Ocorrência de *Escherichia coli* produtora de toxina Shiga (STEC) no Brasil e sua importância em saúde pública. **BEPA. Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 10. n. 110. p. 4-20. 2013.

CHAILLOU, S.; CHAULOT-TALMON, A.; CAEKEBEKE, H.; CARDINAL, M.; CHRISTIEANS, S.; DENIS, C.; CHAMPOMIER-VERGES, M. C. Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. **The ISME Journal**. v. 9, n. 5, p. 1105-1118, 2015.

CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, W.; GAJEWSKA, J.; WIŚNIEWSKI, P.; ZADERNOWSKA, A. Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci from ready-to-eat food. **Pathogens**, v. 9, n. 9, p. 734, 2020.

CHEN, D.; ZHAO, T.; DOYLE, M. P. Transfer of foodborne pathogens during mechanical slicing and their inactivation by levulinic acid-based sanitizer on slicers. **Food Microbiology**. v. 28, 2014.

COELHO, R.; BRITO, J. Características microbiológicas da carne de frango: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**, 2021.

FEENEY, E. L.; NUGENT, A. P.; MC NULTY, B., WALTON, J.; FLYNN, A.; GIBNEY, E. R. An overview of the contribution of dairy and cheese intakes to nutrient intakes in the Irish diet: results from the National Adult Nutrition Survey. **British Journal of Nutrition**. v. 115. n. 4. 2016

FERRY, T.; PERPOINT, T.; VANDENESCH, F.; ETIENNE, J. Virulence determinants in *Staphylococcus aureus* and their involvement in clinical syndromes. **Current infectious disease reports**, v. 7, n. 6, p. 420-428, 2005.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. U. S. Equipment, utensils, and linens, chap. 4. In Food Code 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/ucm374275.htm>. Acesso em 28 de maio de 2023.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 620 p., 2013.

GUEDES, G. G.; OLIVEIRA, A. V. D.; DANTAS FILHO, J. V.; GASPAROTTO, P. H. G.; SANTOS, B. L. T.; SCHONS, S. V.; CAVALI, J.; PONTUSCHKA, R. B. Segurança microbiológica de derivados lácteos de feiras públicas em Presidente Médici, RO, Amazônia Ocidental. **Revista Brasileira de Ciências da Amazônia/Brazilian Journal of Science of the Amazon**, v. 12, n. 3, 2023.

GRISPOLDI, L.; KARAMA, M.; ARMANI, A.; HADJICHARALAMBOUS, C.; CENCI-GOGA, B. T. *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food of animal origin and staphylococcal food poisoning risk assessment from farm to table. **Italian Journal of Animal Science**, v. 20, n. 1, p. 677-690, 2021.

HA, J. W.; LEE, J. I.; KANG, D. H. Application of a 222-nm krypton-chlorine excilamp to control foodborne pathogens on sliced cheese surfaces and characterization of the bactericidal mechanisms. **International journal of food microbiology**, v. 243, p. 96-102, 2017.

ISHII, S.; YAN, T.; VU, H.; HANSEN, D. L.; HICKS, R. E.; SADOWSKY, M. J. Factors controlling long-term survival and growth of naturalized *Escherichia coli* populations in temperate field soils. **Microbes and environments**, v. 25, n. 1, p. 8-14, 2010.

JANG, J.; HUR, H. G.; SADOWSKY, M. J.; BYAPPANAHALLI, M. N.; YAN, T.; ISHII, S. Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review. **Journal of applied microbiology**, v. 123, n. 3, p. 570-581, 2017.

JOSEPH, A.; COINTE, A.; MARIANI KURKDJIAN, P.; RAFAT, C.; HERTIG, A. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from pasteurized dairy products from Bahia, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 6535-6547, 2021.

KAPER, J.B.; NATARO, J.P.; MOBLEY, H.L.T. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiol** 2, 123–140, 2004.

KAPTCHOUANG TCHATCHOUANG, C. D.; FRI, J.; DE SANTI, M.; BRANDI, G.; SCHIAVANO, G. F.; AMAGLIANI, G.; ATEBA, C. N. Listeriosis outbreak in South Africa: a comparative analysis with previously reported cases worldwide. **Microorganisms**, v. 8, n. 1, p. 135, 2020.

KASNOWSKI, M. C.; MANTILLA, S. P. S.; OLIVEIRA, L. A. T.; FRANCO, R. M. Formação de biofilme na indústria de alimentos e métodos de validação de superfícies. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 8, n. 15, p. 1-23, 2010.

LELIÈVRE, V.; BESNARD, A.; SCHLUSSELHUBER, M.; DESMASURES, N.; DALMASSO, M. Phages for biocontrol in foods: What opportunities for *Salmonella* sp. control along the dairy food chain?. **Food microbiology**, v. 78, p. 89-98, 2019.

LIM, K. L.; KHOR, W. C.; ONG, K. H.; TIMOTHY, L.; AUNG, K. T. Occurrence and Patterns of Enterotoxin Genes, *spa* Types and Antimicrobial Resistance Patterns in *Staphylococcus aureus* in Food and Food Contact Surfaces in Singapore. **Microorganisms**, v. 11, n. 7, p. 1785, 2023.

LIPCSEI, L. E.; BROWN, L. G.; HOOVER, E. R.; FAW, B. V.; HEDEEN, N.; MATIS, B.; RIPLEY, D. Retail deli slicer inspection practices: an EHS-Net study. **Journal of food protection**, v. 81, n. 5, p. 799-805, 2018.

LOBACZ, A.; KOWALIK, J.; ZULEWSKA, J. Determination of the survival kinetics of *Salmonella* spp. on the surface of ripened raw milk cheese during storage at different temperatures. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55, n. 2, p. 610-618, 2020.

LV, G.; JIANG, R.; ZHANG, H.; WANG, L.; LI, L.; GAO, W.; ZANG, H.; PEI, Y.; WEI, X.; DONG, H.; QIN, L. Molecular characteristics of *Staphylococcus aureus* from food samples

and food poisoning outbreaks in Shijiazhuang, China. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 652276, 2021.

MARINHEIRO, M. F.; GHIZZI, L. G.; CERESER, N. D.; DE LIMA, H. G.; TIMM, C. D. Qualidade microbiológica de queijo mussarela em peça e fatiado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1329-1334, 2015.

MARTIN, N. H.; TRMČIĆ, A.; HSIEH, T. H.; BOOR, K. J.; WIEDMANN, M. The evolving role of coliforms as indicators of unhygienic processing conditions in dairy foods. *Front Microbiol* 2016; 7: 1549. 2021.

MORASI, R. M.; RALL, V. L. M.; DANTAS, S. T. A.; ALONSO, V. P. P.; SILVA, N. C. C. Salmonella spp. in low water activity food: Occurrence, survival mechanisms, and thermoresistance. **Journal of Food Science**, v. 87, n. 6, p. 2310-2323, 2022

MOTLAGH, A. M.; YANG, Z. Detection and occurrence of indicator organisms and pathogens. **Water Environment Research**, v. 91, n. 10, p. 1402-1408, 2019.

MUTZ, Y. D. S.; ROSARIO, D. K. A.; PASCHOALIN, V. M. F.; CONTE-JUNIOR, C. A. Salmonella enterica: A hidden risk for dry-cured meat consumption?. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 60, n. 6, p. 976-990, 2020

NAKAMURA, F.; NASU, R. Listeria monocytogenes septicemia and meningoencephalitis associated with relapsed and refractory follicular lymphoma. **Journal of Infection and Chemotherapy**, v. 26, n. 6, p. 619-621, 2020

NARVHUS, J. A.; BÆKKELUND, O. N.; TIDEMANN, E. M.; ØSTLIE, H. M.; ABRAHAMSEN, R. K. Isolates of Pseudomonas spp. from cold-stored raw milk show variation in proteolytic and lipolytic properties. **International Dairy Journal**, v. 123, p. 105049, 2021.

OLIVEIRA, A. P.; WEBBER, B.; POTTKER, E. S.; DAROIT, L.; SANTOS, L. R.; RODRIGUES, L. B. Adesão de Salmonella Enteritidis envolvida em surtos alimentares sob diferentes superfícies e condições ambientais. **Scientia Plena**, v. 15, n. 11, 2019

PAL, M.; KETCHAKMADZE, D.; DURGLISHVILI, N.; KETCHAKMADZE, K. Staphylococcus aureus: A major pathogen of food poisoning: A rare research report. **Nutr. Food Process**, v. 5, n. 1, p. 1-3, 2022.

PINCHUK, I. V.; BESWICK, E. J.; REYES, V. E. Staphylococcal enterotoxins. **Toxins**, v. 2, n. 8, p. 2177-2197, 2010.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; PERUZI, G. A.; BRUZAROSKI, S. R.; TAMANINI, R.; LOBO C M; ALEXANDRINO, B.; CONTI, A. C. M.; ALFIERI, A. A.; BELOTI, V. Effect of bacto-fugation of raw milk on counts and microbial diversity of psychrotrophs. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 9, p. 7794-7799, 2019.

RIVAS, P. M.; SILVA, D. C.; LOPES, S. M.; RIBOLDI, C. I.; TONDO, E. C. Assessing the Listeria monocytogenes transference during mechanical slicing of mozzarella cheese. **Food Microbiology**, v. 105, p. 104022, 2022.

ROSARIO, A. I.; CASTRO, V. S.; SANTOS, L. F.; LISBOA, R. C.; VALLIM, D. C.; SILVA, M. C.; COSTA, M. P. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from pasteurized dairy products from Bahia, Brazil. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 6, p. 6535-6547, 2021.

RUKAMBILE, E.; SINTCHENKO, V.; MUSCATELLO, G.; KOCK, R.; ALDERS, R. Infection, colonization and shedding of *Campylobacter* and *Salmonella* in animals and their contribution to human disease: A review. **Zoonoses and public health**, v. 66, n. 6, p. 562-578, 2019.

RYU, J. H.; KIM, S.; PARK, J.; CHOI, K. S. Characterization of virulence genes in *Escherichia coli* strains isolated from pre-weaned calves in the Republic of Korea. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 62, n. 1, p. 1-7, 2020.

SANTOS, T.; VIALA, D., CHAMBON, C., ESBELIN, J.; HÉBRAUD, M. *Listeria monocytogenes* biofilm adaptation to different temperatures seen through shotgun proteomics. **Frontiers in nutrition**, v. 6, 2019.

SEAPA. Secretaria de Agricultura, Pecuária e Abastecimento

<https://www.silemg.com.br/post/dia-mundial-do-queijo-e-celebrado-dia-20-de-janeiro> . Acesso em 27 de mai de 2023.

SESA-PR. Governo do Estado do Paraná. Secretaria de Saúde. Resolução SESA 469 de 23 de novembro de 2016. Regulamento Técnico para o fracionamento de produtos derivados de origem animal em estabelecimentos varejistas com atividade de autosserviço. 2016.

Disponível em:

https://www.saude.pr.gov.br/sites/default/arquivos_restritos/files/documento/2020-04/469_16.pdf Acesso em 03 set 2023

SILVA, T. E.; SILVA, T. E.; GARCIA, L. G. C.; DOS SANTOS, P. A. Estudo do comportamento de queijo Mussarela durante armazenamento refrigerado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 2, p. 135-148, 2019.

SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A.; TANIWAKI, M. H.; GOMES, R. A. R.; OKAZAKI, M. M. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. Editora Blucher. P 535. 2017

SILVA, A. C. D. O.; CORTEZ, M. A. S. Tecnologia de leite e derivados lácteos. 2021

SIRSAT, S. A.; KIM, K.; GIBSON, K. E.; CRANDALL, P. G.; RICKE, S. C.; NEAL, J. A. Tracking microbial contamination in retail environments using fluorescent powder-a retail delicatessen environment example. **JoVE (Journal of Visualized Experiments)**. n. 85. p. e51402. 2014.

SIRTOLI, D. B.; COMARELLA, L. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**. v. 12, n.10, 2018.

SIQUEIRA, K. B.; DA ROCHA, D. T.; DINIZ, F. H.; CARVALHO, G. R.; CHAVES, D. O. Consumo de lácteos na pandemia: Principais mudanças no comportamento do consumidor brasileiro de leite e derivados durante a pandemia de Covid-19. 2021.

- SOARES, V. M.; PADILHA, M. B.; GUERRA, M. E. D. M.; SCHNEIDER, F. A.; GASPARETTO, R.; SANTOS, E. A. R. D.; PEREIRA, J. G. Identification of *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and indicator microorganisms in commercialized raw meats and fresh sausages from Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 51, 2021.
- SOUZA, A. P.; LAGO, N. C. M. R.; MARCHI, P. G. F.; ARAÚJO, D. S. S.; MESSIAS, C. T.; SILVA, L. A.; QUEIROZ, A. M. Influência da capacitação de manipuladores de alimentos na qualidade microbiológica de produtos fracionados em um hipermercado de Ribeirão Preto/SP/Influence of the training of food handlers on the microbiological quality of fractional products in a hypermarket in Ribeirão Preto/SP. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78757-78770, 2020.
- SOUSA, F. D. C. A.; COSTA, C. E. O.; RODRIGUES, A. C. E.; SIQUEIRA, H. D. A. S.; SIQUEIRA, F. F. F. S.; DA SILVA, W. C.; MACEDO REIS, L. C. Análise epidemiológica dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) no estado do Piauí entre os anos de 2015 a 2019. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 7, p. e42610716756-e42610716756, 2021.
- TADIELO, L. E.; BELL'E, T. H.; SANTOS, E. A. R.; SCHMIEDT, J. A.; CERQUEIRA-C'EZAR, C. K.; NERO, L. A.; YAMATOOGI, R. S.; PEREIRA, J. G.; BERSOT, L. S. Pure and mixed biofilms formation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* Typhimurium on polypropylene surfaces. **Food Science and Technology**. v. 162, p. 113469, 2022.
- TORRES, F.; HARTMANN, I. F.; CALEGARI-SANTOS, R.; JAVOROUSKI, E. B.; LOPES, M. O.; GALVÃO, J. A. Análise microbiológica de fatiadores de frios como ferramenta para capacitação em boas práticas de higiene de equipamentos para manipuladores de alimentos. **Ars Veterinaria**, v. 37, n. 4, p. 258-263, 2021
- TORTORELLO, M. L. Indicator organisms for safety and quality uses and methods for detection: minireview. **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 6, p. 1208-1217, 2003.
- VESELÁ, H.; DOROTÍKOVÁ, K.; DUŠKOVÁ, M.; FURMANČÍKOVÁ, P.; ŠEDO, O.; KAMENÍK, J. The Pork Meat or the Environment of the Production Facility? The Effect of Individual Technological Steps on the Bacterial Contamination in Cooked Hams. **Microorganisms**, v. 10, n. 6, p. 1106, 2022.
- WEBBER B; OLIVEIRA A.P.; POTTKER, E.S.; DAROIT L.; LEVANDOWSKI R.; SANTOS L.R.; NASCIMENTO V. P.; RODRIGUES L. B. Salmonella Enteritidis forms biofilm under low temperatures on different food industry surfaces. **Ciência Rural**. v. 49. 2019.
- WEI, Q.; WANG, X.; SUN, D. W.; PU, H. Rapid detection and control of psychrotrophic microorganisms in cold storage foods: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86. p. 453-464. 2019.
- XIN, L.; MENG, Z.; ZHANG, L.; CUI, Y.; HAN, X.; YI, H. The diversity and proteolytic properties of psychrotrophic bacteria in raw cows' milk from North China. **International Dairy Journal**, v. 66, p. 34-41, 2017.

YUAN, L.; SADIQ, F. A.; LIU, T. J.; LI, Y.; GU, J. S.; YANG, H. Y.; HE, G. Q. Spoilage potential of psychrotrophic bacteria isolated from raw milk and the thermo-stability of their enzymes. **Journal of Zhejiang University. Science. B**, v. 19, n. 8, p. 630, 2018

CAPÍTULO II

4 ARTIGO CIENTÍFICO - EFEITO DO FATIAMENTO INDUSTRIAL NA QUALIDADE E SEGURANÇA MICROBIOLÓGICA DE QUEIJO MUÇARELA E APRESUNTADO

Resumo

A etapa de fatiamento de alimentos de origem animal pode impactar a qualidade final dos produtos e transferir micro-organismos patogênicos, principalmente porque esse processo ocorre após etapas de controle e eliminação de micro-organismo, como cozimento e pasteurização. Neste sentido, com a intenção de diminuir as ocorrências de DTAs, as indústrias de alimentos precisam assegurar a inocuidade dos produtos alimentícios oferecidos aos consumidores. Para isso, é necessário conhecer os perigos envolvendo cada etapa de sua cadeia produtiva, além dos micro-organismos que podem ser transferidos durante o processamento. O objetivo desse estudo foi conhecer o impacto causado em queijos muçarela e apresuntado durante o processo de fatiamento, através da pesquisa de micro-organismos indicadores de qualidade aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Staphylococcus aureus*, e da pesquisa de patógenos *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes*. Foram coletadas 20 amostras, em peça e fatiado, de queijo muçarela e 20 amostras, em peça e fatiado de apresuntado. A comparação da quantificação dos aeróbios mesófilos antes e após o fatiamento foram significativamente diferentes ($p < 0,05$). Na contagem de micro-organismos psicrotróficos não houve diferença durante a etapa de fatiamento. Quanto aos valores de coliformes totais e *Staphylococcus aureus* apresentaram aumento após fatiamento. No total, 844 isolados foram analisados quanto aos genes do patógenos e foram identificados *Salmonella* spp. em 40% das amostras em peça e 20% fatiadas de queijo muçarela, e em 30% amostras em peça e em 50% fatiadas de apresuntado. Além disso, também foram identificados em duas amostras de queijo muçarela fatiados genes de *Staphylococcus aureus* com potencial produtores de enterotoxinas C e D. O fatiamento de alimentos prontos para o consumo é uma etapa importante, e os resultados demonstram a relevância da manutenção das boas práticas de higiene durante o processamento e que a qualidade microbiológica da peça a ser fatiada é fundamental para a qualidade e segurança do produto fatiado.

Palavras-chave: Doenças de origem alimentar. Fatiador. Micro-organismos indicadores. Patógenos Segurança dos alimentos.

Introdução

Produtos de origem animal, como queijos muçarela, presuntos e apresuntados, são considerados alimentos prontos para consumo, não necessitando de tratamento térmico para ser consumido (BRASIL, 2022). Estão presentes com maior frequência na rotina dos brasileiros,

não apenas pela praticidade ou por suas características sensoriais, mas também por conter nutrientes necessários à saúde humana (COSTA *et al.*, 2007; BOAS *et al.*, 2020).

A rica composição proteica e lipídica presente nesses alimentos, associado a um teor de umidade alta, oferecem condições para o desenvolvimento de micro-organismos (CHAILLOU *et al.*, 2015; FEENEY *et al.*, 2016), incluindo patogênicos causadores de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) (REN *et al.*, 2022).

Os grupos de micro-organismos indicadores de qualidade em alimentos são uma importante ferramenta para avaliar, direta e indiretamente, a segurança ao consumo. Dentre esses micro-organismos pode-se citar aeróbios mesófilos, coliformes totais, coliformes a 45°C, *Escherichia coli* (MOTLAGH; YANG, 2019), *Staphylococcus* coagulase positiva (MORAR, *et al.*, 2021) e psicrotróficos (SILVA *et al.*, 2019).

Patógenos como *Salmonella* spp., *Escherichia coli* diarreiogênica, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, se presentes em alimentos prontos para consumo, podem causar infecções ou intoxicações graves, principalmente em grupos de risco, como idosos, crianças, gestantes e imunocomprometidos (NAZIR *et al.*, 2023). Tais micro-organismos também produzem substâncias capazes de causar intoxicações, como enterotoxinas produzidas por *S. aureus*, que podem provocar a síndrome do choque tóxico (GRISPOLDI *et al.*, 2021) ou ainda a cepa *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), conhecida como a diarreia dos viajantes (YANG *et al.*, 2017).

Há etapas, na cadeia produtiva dos alimentos de origem animal, que podem minimizar ou eliminar patógenos humanos, como pasteurização e cozimento, porém, outras contaminações podem ocorrer durante etapas posteriores, como a de fatiamento (FLORES; MELO, 2015). Segundo Fai *et al.* (2011), a etapa de fatiamento pode carrear patógenos aos produtos fatiados, o que sugere um maior rigor higiênico-sanitário durante a etapa de processamento. Produtos fatiados passam por intensa manipulação e maior contato com superfícies do ambiente, predispondo a contaminação desses produtos e conseqüentemente prejuízo à sua vida útil e segurança para o consumo, caso não seja processado sob condições de higiene operacionais (BRESSAN *et al.*, 2007).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo avaliar a qualidade e segurança microbiológica de queijo muçarela e apresuntado antes e após a etapa de fatiamento através de métodos microbiológicos e biomoleculares, visando determinar o efeito do fatiamento sobre a contaminação e ocorrência de patógenos nesses alimentos para fundamentar programas de autocontrole da indústria durante o fracionamento.

Material e Métodos

Foram avaliadas 40 amostras, de aproximadamente 250g cada, sendo 20 de queijo muçarela (10 em peças e 10 fatiadas) e 20 de apresuntado (10 em peças e 10 fatiadas). As amostras foram coletadas em uma indústria localizada em Augustinópolis, norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022. Foi observada na amostragem a correspondência entre a peça íntegra e a mesma fatiada para efeito de comparação, além da aleatoriedade das peças a serem amostradas. O queijo muçarela era produzido no próprio estabelecimento e o apresuntado era fornecido por uma indústria localizada em Goiânia, Goiás, registrada no Serviço de Inspeção Federal (SIF). A indústria produtora e fatiadora era inspecionada pelo serviço de inspeção estadual do Tocantins com habilitação no Sistema Brasileiro de Inspeção de Produtos de Origem Animal (SISBI-POA), distribuindo seus produtos para vários estados do Brasil.

A etapa de fatiamento ocorreu em uma sala específica na indústria, com controle de temperatura ambiental em torno de 16°C, utilizando uma fatiadora e interfolhadora industrial (FTI-250, Equimatec Indústria de Máquinas, Rio do Sul, SC, Brasil) com capacidade de 250 fatias/min. Durante o fatiamento das peças, as instalações, processos e os manipuladores seguiam boas práticas de fabricação (BPF) e realizavam o procedimento padrão de higiene operacional (PPHO) do equipamento de fatiamento a cada 4 horas.

De forma asséptica, foi retirada alíquota de cada peça, antes e após o fatiamento da mesma, acondicionada em saco plástico estéril, devidamente identificada e mantidas em uma câmara fria dentro da indústria. Ao final da coleta, foram transportadas sob refrigeração ao Laboratório de Microbiologia de Alimentos (LabMA), na Universidade Federal do Norte do Tocantins para imediata análise. A análise não ultrapassou 6 horas após a coleta.

As amostras foram diluídas decimal e sequencialmente e submetidas a análises quantitativas de aeróbios mesófilos (SILVA, 2017), psicrotróficos (FRANK; YOUSEF, 2004), coliformes totais e *E. coli* (Compact Dry[®] EC, Nissui Pharmaceutical, Japão) e *S. aureus* (Compact Dry[®] XSA).

A análise qualitativa de *Salmonella* spp. foi realizada conforme método preconizado pela ISO 6579:2002/Amd 1:2007 com as seguintes modificações: utilização de caldo selenito cistina (Acumedia, Baltimore, Estados Unidos) em substituição ao caldo Tetrionato Muller Kauffman Novobiocina e Ágar *Salmonella-Sigella* (HiMedia, Mumbai, Índia) como meio opcional. *L. monocytogenes* foi pesquisada conforme a ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004,

utilizando Ágar Listeria Seletive (HiMedia) e Ágar Oxford (Neogen, Lansing, MI, EUA) como meios de cultura.

As colônias típicas de *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes* e *Salmonella* spp. foram recuperadas em caldo cérebro-coração (BHI) por 24 horas a 35°C, submetidas à extração de DNA genômico por fervura simples, conforme protocolo descrito por Ribeiro Júnior et al. (2016) e realizada a detecção dos genes gênero/espécie-específicos, dos fatores de virulência e potencial toxigênico através da PCR convencional e multiplex. Os micro-organismos, os genes, *primers* e os respectivos perfis de amplificação encontram-se descritos na Tabela 1. As reações tiveram a mesma constituição descrita por Ribeiro Júnior et. al. (2016). Todos os ensaios moleculares foram validados utilizando controles positivos e negativos em cada reação.

Os valores absolutos obtidos nas contagens foram convertidos em *log* e submetidos aos testes não paramétricos de Friedman e Wilcoxon no software SAS (SAS, 2002) com nível de significância de 0.05.

Tabela 1 Genes, oligonucleotídeos indicadores (*primers*) e referência dos protocolos seguidos na pesquisa molecular dos micro-organismos sugestivos de patógenos nas amostras de queijo muçarela e apresuntado pré e pós fatiamento em uma fatiadora automática no norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022.

Micro-organismo	gene	Primers (5'-3')	Tamanho (pb)	Amplificação	Referência
<i>Salmonella</i> spp.	<i>invA</i>	GTGAAATTATCGCCACGTTCTGGGCAA TCATCGCACCGTCAAAGGAACC	284	94°C-1min 35x 94°C-1min 64°C-30s 72°C-30s 72°C-7min	Shanmugasa, Velayutham; Rajeswar (2011)
	<i>tst</i>	ACCCCTGTTCCCTTATCATC TTTTCAGTATTTGTAACGCC	326		
	<i>etA</i>	GCAGGTGTTGATTTAGCATT AGATGTCCCTATTTTTGCTG	93		
	<i>etB</i>	ACAAGCAAAAGAATACAGCG GTTTTTGGCTGCTTCTCTTG	226		
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>sea</i>	ACCCCTGTTCCCTTATCATC TTTTCAGTATTTGTAACGCC	102	94°C – 5 min 35 x 94°C – 2 min	Mehrotra; Wang; Johnson (2000)
	<i>seb</i>	GCAGGTGTTGATTTAGCATT AGATGTCCCTATTTTTGCTG	164	57°C – 2 min 72°C – 1 min 72°C – 7 min	
	<i>sec</i>	ACAAGCAAAAGAATACAGCG GTTTTTGGCTGCTTCTCTTG	451		
	<i>sed</i>	ACCCCTGTTCCCTTATCATC TTTTCAGTATTTGTAACGCC	278		
	<i>see</i>	GCAGGTGTTGATTTAGCATT CTTTTTTTCTTCGGTCAATC	209		
<i>Escherichia</i>	<i>eaeA</i>	CTGAACGGCGATTACGCGAA CCAGACGATACGATCCAG	917	50°C - 2min 1 x 95°C – 5min	Aranda; Fagundes-Neto;

<i>E. coli</i>	<i>CVD432</i>	CTGGCGAAAGACTGTATCAT CAATGTATAGAAATCCGCTGTT	630	40 x 95°C - 40s 58° C – 1min 72°C – 2 min 1 x 72°C – 7min	Scaletsky, (2004)
	<i>stx1</i>	ATAAATCGCCATTCGTTGACTAC AGAACGCCCACTGAGATCATC	180		
	<i>stx2</i>	GGCACTGTCTGAAACTGCTCC TCGCCAGTTATCTGACATTCTG	255	50°C - 2min 1 x 95°C – 5min	
	<i>LT</i>	GGCGACAGATTATACCGTGC CGGTCTCTATATTCCCTGTT	450	40 x 95°C - 45s 50°C – 1min	
	<i>ST</i>	ATTTTMTTTCTGTATTRTCTT CACCCGGTACARGCAGGATT	190	72°C – 1 min 1 x 72°C – 7min	
	<i>ipaH</i>	GTTCCCTTGACCGCCTTTCGATACCGT C GCCGGTCAGCCACCCTCTGAGAGTAC	600		
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>lmo2234</i>	ATGAATATGAAAAAAGCAAC TTATACGCGACCGAAGCCAAC	1450-1600	95°C-5min 40 x 94°C-45s 52°C-45s, 72°C-2min 72°C-10min	Chen; Knabel (2007)

Resultados e Discussão

Os resultados das contagens obtidos dos micro-organismos indicadores de qualidade nos produtos de origem animal avaliados estão expressos na Tabela 2. Comparando as contagens de micro-organismos obtidos antes e após o fatiamento foi observado que não houve aumento nos resultados de aeróbios mesófilos e psicrotróficos para o apresuntado. A etapa de fatiamento automático, interfoliada com polietileno e nas condições desse estudo não alterou de forma significativa o número de psicrotróficos incluídos no fatiamento de muçarela, e os valores absolutos de mesófilos diferiram na análise estatística após o fatiamento.

Tabela 2 Contagens médias (desvio padrão) de grupos de micro-organismos indicadores da qualidade em peças íntegras e fatiadas de muçarela e apresuntado em uma indústria do norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022.

Grupo de indicadores	Queijo Muçarela*		Apresuntado*	
	Íntegra	Fatiada	Íntegra	Fatiada
Aeróbios mesófilos	4,33 (2,79) x 10 ^{7a}	1,25 (0,74) x 10 ^{7b}	4,17 (2,38) x 10 ^{2c}	2,62 (1,6) x 10 ^{2c}
Psicrotróficos	1,73 (2,01) x 10 ^{4a}	6,57 (7) x 10 ^{3a}	2,62 (1,82) x 10 ^{3c}	1,99 (1,56) x 10 ^{3c}
Coliformes totais	7,3 (14,7) x 10 ^a	1,09 (1,54) x 10 ^{2a}	< 10 ^c	7 (12,52) ^c
<i>Escherichia coli</i>	< 10 ^a	< 10 ^a	< 10 ^a	< 10 ^a
<i>Staphylococcus aureus</i>	8,7 (7,7) x 10 ^a	1,02 (1,07) x 10 ^{2a}	< 10 ^a	< 10 ^a

* Valores seguidos de letras diferentes na mesma linha diferem ao nível de 5% de probabilidade.

Algumas amostras de muçarela apresentaram menores contagens de aeróbios mesófilos após o fatiamento, que pode estar relacionado ao local ao qual foi retirada a amostra. Na peça íntegra, foi coletada uma amostra superficial, do início da peça. Já na mesma fatiada, é possível ter coletado uma amostra da parte mais interna da peça, diminuindo assim a possibilidade de contaminação superficial. A diferença da contaminação externa em relação à interna das peças de produtos de origem animal pode ser comparada a microbiota presente na superfície de alguns queijos, nos quais, a umidade das salas de maturação, propiciam a proliferação de micro-organismos (CORREA *et al.*, 2019; IRLINGER; MONNET, 2021).

Nas legislações vigentes, não há padrões estabelecidos para os micro-organismos aeróbios mesófilos em queijo muçarela e apresuntado, no entanto, altas contagens desse grupo em apresuntados, pode estar associada a uma deficiência nas boas práticas de manipulação (SOUZA *et al.*, 2020). No queijo muçarela a contagem de total de mesófilos pode apontar para

bactérias fermentadoras, adicionadas no processo de fabricação, como *Streptococcus* e *Lactobacillus* (WILKINSON; LAPOINTE, 2020; AZORRA-MANZANO *et al.*, 2022), que desempenha um papel importante no desenvolvimento de características organolépticas e no processo de caimento do pH para filagem (ZHENG; SHI; WANG, 2021).

Os micro-organismos psicrotróficos mantiveram-se em quantificações semelhantes antes e após o fatiamento nas amostras avaliadas. Este grupo é importante em alimentos refrigerados, uma vez que possuem a capacidade de multiplicação mesmo em condições de refrigeração (CHAILLOU *et al.*, 2015), utilizando de vias metabólicas secundárias (proteolíticas e lipolíticas) resistentes ao calor (RIBEIRO JÚNIOR *et al.*, 2017; XIN *et al.*, 2017; YUAN *et al.*, 2018; NARVHUS *et al.*, 2021) como alternativa à via sacarolítica predominantemente mesófila. A multiplicação de psicrotróficos alteram as características sensoriais dos alimentos, como o desenvolvimento do sabor amargo (ALINOVI *et al.*, 2020), de ranço em lácteos, limosidade e cheiro desagradável em produtos cárneos, reduzindo sua vida útil (MACHADO *et al.*, 2017; COELHO; BRITO, 2021).

Embora tenham sido observadas contagens maiores de coliformes totais após o fatiamento para ambas as amostras, o queijo muçarela apresentou-se de acordo com o padrão determinado pelo MAPA, que estabelece o limite máximo de 5.000 UFC/g para o queijo muçarela (BRASIL, 2018). A Instrução normativa nº 161, de 2022 (BRASIL, 2022), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, que regulamenta a qualidade microbiológica dos alimentos no comércio, não estabelece padrão de coliformes totais para os alimentos. Apesar disso, esses micro-organismos têm papel importante como indicadores de qualidade, demonstrando contaminação de origem ambiental e, portanto, falhas higiênicas durante a etapa do fatiamento (SENA *et al.*, 2018), observado pela elevação das contagens tanto para muçarela quanto para apresuntado, sem, no entanto, efeito significativo (Tabela 2).

O aumento das contagens de coliformes totais pode ser em decorrência do próprio equipamento. Uma vez que o alimento contaminado passa pelas lâminas do fatiador mecânico, pode ocorrer a transferência de pequenas quantidades de micro-organismos aos alimentos que ainda serão fatiados, permitindo que se multipliquem ao longo do seu período de *shelf-life* (RIVAS *et al.*, 2022).

As quantificações de *S. aureus* foram baixas antes e após a etapa de fatiamento no apresuntado. O equipamento atua de forma automatizada para fatiar e incluir a folha plástica entre as fatias, ficando o manipulador responsável apenas por abastecer o equipamento com peças a serem fatiadas e acondicionar as porções fracionadas em embalagens primárias. No entanto, no queijo muçarela pode-se verificar um aumento não significativo de *S. aureus*

(Tabela 2) após fatiamento. Como esses micro-organismos são indicadores da qualidade higiênico-sanitária da manipulação, os resultados demonstram que o intenso manuseio das peças durante a fabricação como salga, maturação, armazenamento e contato com diferentes superfícies possivelmente contaminadas influenciou a qualidade do produto final (MAHFOOZI *et al.*, 2019; LIM *et al.*, 2023).

Além da qualidade higiênica da manipulação, alguns *Staphylococcus* spp. podem ter o potencial da síntese de enterotoxinas estafilocócicas (GRISPOLDI *et al.*, 2021). No presente trabalho foram pesquisados diversos genes que codificam essas enterotoxinas (A a E), toxina do choque tóxico (TSST-1) e toxinas esfoliativas (A e B) nos 94 isolados recuperados das amostras de queijos muçarela. Desses isolados, somente 2 (20%), apresentaram potencial de síntese de enterotoxinas, um para a C e outro para a D (Tabela 3), ambas provenientes de amostras distintas de queijo fatiado, efeito não observado nos apresuntados avaliados pelo presente trabalho. Tal contaminação pode ter origem na manipulação das peças pós fatiamento.

Conforme relato de Andrade Júnior *et al.* (2019), a contaminação por *S. aureus* é comum por ser um micro-organismo presente na microbiota humana, porém, para que ocorra uma intoxicação alimentar causada por toxinas estafilocócicas é necessário que a bactéria esteja em condições propícias para a expressão desse fator de virulência, e que produza quantidades suficientes de toxinas, além de levar em consideração a saúde do consumidor.

Foram selecionadas um total de 844 colônias típicas para confirmação/caracterização de fatores de virulência através de PCR. Destas, 408 colônias foram provenientes de queijo muçarela e 436 de apresuntado, conforme Tabela 3.

Tabela 3 Pesquisa dos patógenos *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* por análise biomolecular de isolados sugestivos de amostras de queijos muçarela antes e após o fatiamento automatizado em uma fatiadora do norte do Tocantins, Brasil, no período de junho a setembro de 2022.

	Queijo muçarela						Apresentado					
	Íntegro			Fatiado			Íntegro			Fatiado		
	PCRs realizadas	PCRs positivas	Amostras positivas n (%)	PCRs realizadas	PCRs positivas	Amostras positivas n (%)	PCRs realizadas	PCRs positivas	Amostras positivas n (%)	PCRs realizadas	PCRs positivas	Amostras positivas n (%)
<i>Salmonella</i> spp.	89	4	4 (40)	99	3	2 (20)	109	6	3 (30)	106	13	5 (50)
<i>L. monocytogenes</i>	68	0	0 (0)	58	0	0 (0)	105	0	0 (0)	116	0	0 (0)
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i>	48	0	0	46	2	2 (20)	0	0	0	0	0	0
TOTAL	205	4		203	5		214	6		222	13	

O gene gênero-específico de *Salmonella* spp. (*invA*) (Tabela 1) foi investigado através de 403 PCRs, recuperadas de amostras de queijo muçarela e apresuntado, inteiras e fatiadas (Tabela 3). Das amostras de queijo muçarela, 4 (40%) já estavam contaminadas por *Salmonella* spp. antes do fatiamento e, em apenas 2 (20%) foram recuperadas o patógeno após o processo de fatiamento. Já no apresuntado, 3 (30%) peças estavam contaminadas antes do fatiamento e o patógeno foi recuperado em 5 (50%) amostras fatiadas, encontrando-se em desacordo com a legislação vigente (BRASIL, 2022).

Esse maior número de amostras positivas para *Salmonella* spp. em amostras inteiras em relação às fatiadas pode ser justificado pelo mesmo motivo das baixas contagens de indicadores, anteriormente abordada. O ponto de amostragem das peças pode ter influenciado na detecção da contaminação inicial.

Sob o ponto de vista tecnológico, a menor presença do patógeno na parte interna das peças de muçarela também pode ser justificada pela etapa de filagem da massa, após a pasteurização e fermentação até o caimento do pH para 5,4. A etapa de filagem, realizada a 58°C, pode atuar reduzindo ou, a depender do tempo, eliminando os enteropatógenos mesmo antes do acondicionamento das peças nas formas e salmoura. Assim, a menor recuperação de isolados de *Salmonella* spp. nas peças fatiadas pode ser atribuída a menor contaminação do interior das peças.

Segundo Rivas et al. (2022), a acidez do queijo muçarela, promovida pela fermentação láctica, pode diminuir o desenvolvimento de micro-organismos patogênicos. Outro trabalho conduzido por Lobacz, Kowalik e Zulewska (2020), afirma que a ação de *Lactobacillus*, interfere na multiplicação de *S. enterica* subespécie *enterica*. Diante do exposto, pode-se atribuir a ocorrência de *Salmonella* spp., em queijos muçarela, a contaminação ambiental.

Esse efeito, no entanto, não foi observado nas amostras de apresuntado, apesar de que a massa cárnea condimentada ter sido prensada e cozida nas formas, diversos fatores podem ter atuado na indústria fornecedora do produto para comprometer a segurança do produto a ser comercializado, possivelmente falhas nos procedimentos sanitários operacionais ou recontaminação das peças após o cozimento. O ponto mais importante para a manutenção da *Salmonella* spp. nesse tipo de produto, é o seu pH mais elevado em relação às muçarelas, proporcionando condições de viabilidade desses micro-organismos (KEERTHIRATHNE *et al.*, 2019).

O estudo realizado por Marinheiro et al. (2015), em amostras de queijo em peça e fatiado, coletados em laticínio, isolou *Salmonella* spp., em uma amostra de queijo muçarela

fatiada, associando a contaminação a etapa de fatiamento. Resultados semelhantes também relatados por Fai et al. (2011), indicam contaminação de alimentos após a etapa de fatiamento.

Dos 338 isolados sugestivos de *L. monocytogenes*, nos quais foi pesquisado o gene *lmo2234* (Tabela 3), nenhum foi confirmado nas amostras de queijo muçarela e apresuntado. Diferentemente, o estudo realizado por Martins e Germano (2011) relata presença de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em presunto fatiados, atribuindo essa contaminação ao fatiamento.

A *L. monocytogenes* pode se multiplicar em temperaturas em torno de 3°C, demonstrando a importância dessa bactéria como indicador de qualidade em alimentos refrigerados, além do risco direto à saúde pública (SANTOS *et al.*, 2019).

No presente trabalho, por ambos os produtos avaliados serem refrigerados (4°C) imediatamente ao final da produção, serem manipulados, fracionados e embalados em ambiente de temperatura controlada (16°C) e armazenados novamente à 4°C, caso tivesse sido detectada a presença do patógeno, poderia-se atribuir à capacidade da *L. monocytogenes* em formar biofilmes nesse tipo de instalação (LEE *et al.*, 2019). Em pesquisas realizadas por Toro *et al.*, (2022), não foram isolados *L. monocytogenes* em superfícies de área de produção que tiveram contato direto com os alimentos, como facas ou tábuas de corte, porém relata que cepas resistentes de *L. monocytogenes* foram isoladas em teto, drenos e maçanetas de portas, tornando esses pontos fontes de contaminação desse patógeno no ambiente. A resistência dessas cepas está relacionada a sua capacidade de formação de biofilmes e falhas nos processos de sanitização. A ausência do patógeno, portanto, indica boas condições higiênicas industriais.

No Brasil as doenças causadas por *L. monocytogenes* não são de notificação compulsória (BARANCELLI, 2011). Nos Estados Unidos, porém, o *Center of Disease Control and Prevention* (CDC) estima a média de 1600 casos de listeriose por ano, levando a 260 mortes.

Nas amostras analisadas não foram isolados *E. coli*. o fato de não haver presença deste potencial patógeno, indica que não houve contaminação de origem fecal durante a etapa de fatiamento (SENA *et al.*, 2018). Apesar disso, a presença de *Salmonella* spp., um enteropatógeno, foi detectada. Dessa forma, deve-se verificar especificamente uma fonte de contaminação das amostras por *Salmonella* spp. independentemente das *Enterobacteriaceae*, uma vez que a contaminação do produto que compromete a sua segurança, aparentemente, está mais relacionada ao ambiente em relação à entérica.

De acordo com a *World Health Organization* (WHO), nos meses de setembro a dezembro de 2022, ocorreram 30 casos de surtos relacionados a ingestão de alimentos contaminados em 37 países ligados à organização. Destes, 12 casos foram associados a

Salmonella spp., seis à *L. monocytogenes*, dois à *E. coli* e um caso à *Staphylococcus* spp. Dentre os alimentos envolvidos nos surtos estão carnes, produtos cárneos, leites e seus derivados (WHO, 2022).

Já no Brasil, entre os anos 2012 e 2021, ocorreram 6.347 surtos ligados a doenças de transmissão hídrica e alimentar, levando a hospitalização de 13.446 pessoas ocasionando 89 óbitos. Dentre os alimentos envolvidos nos surtos 7,1% foram através de leite e seus derivados e 2% de produtos cárneos embutidos. Quanto ao agente etiológico a *E. coli* foi responsável por 29,6% dos casos, *Staphylococcus aureus* a 12,9%, *Salmonella* spp. a 11,2% e 2,9% ligados a *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC) (BRASIL, 2022).

A partir dos resultados observados, principalmente em relação aos patógenos, mas também observado em relação à qualidade microbiológica, é que o processo de fatiamento não influenciou na ocorrência de perigos microbiológicos. O que está intrínseco a esse risco é a própria qualidade do produto a ser fatiado do que em relação a etapa em si, demonstrado pelos resultados que, quando corretamente realizada por meios automatizados, utilizando-se de ferramentas de gestão da qualidade para equipamentos, processos e manipuladores, é possível preservar a qualidade e segurança microbiológica do produto fabricado.

É importante ressaltar que a indústria responsável pelo fatiamento dos alimentos do presente trabalho utiliza um único equipamento automatizado para essa etapa do processamento. Isso pode possibilitar que ocorra transferência de patógenos de um alimento para o outro, caso o procedimento padrão de higiene operacional (PPHO) não ocorra de maneira satisfatória (REGINATO *et al.*, 2019), o que não se pode afirmar pelos resultados observados no presente estudo.

Conclusão

Nesse estudo, a qualidade microbiológica de muçarela e apresuntado não foi significativamente alterada com o fatiamento e interfoliação automatizada. Quanto a segurança, apesar de ter sido verificado risco de inclusão de micro-organismos toxigênicos durante o fatiamento, a ocorrência de patógenos nesses alimentos fatiados está relacionada a presença dos mesmo anterior ao processo de fatiamento.

É fundamental, portanto, que todas as etapas, processos, equipamentos e métodos de produção dos alimentos estejam alinhados para garantia da qualidade dos produtos produzidos e comercializados, realizando adequações em toda a cadeia produtiva, principalmente em etapas anteriores ao fatiamento e onde há intensa manipulação e acondicionamento do produto

acabado. Dessa forma, é possível fracionar e fatiar produtos de origem animal de forma segura para a preservar a saúde dos consumidores.

Sugere-se que seja realizado um monitoramento na cadeia produtiva dos alimentos para identificação da origem da contaminação por *Salmonella* spp. nos alimentos estudados nesta pesquisa.

REFERÊNCIAS

ALINOVI, M., WIKING, L., CORREDIG, M., & MUCCHETTI, G. Effect of frozen and refrigerated storage on proteolysis and physicochemical properties of high-moisture citric mozzarella cheese. **Journal of dairy Science**. v. 103. n. 9. 2020

ANDRADE JÚNIOR, F. P.; DE MEDEIROS LIMA, B. T.; ALVES, T. W. B.; DA SILVA MENEZES, M. E. Fatores que propiciam o desenvolvimento de *Staphylococcus aureus* em alimentos e riscos atrelados a contaminação: uma breve revisão. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 18, n. 1, p. 89-93, 2019.

ARANDA, K. R. S.; FAGUNDES-NETO, U.; SCALETSKY, C. A. Evaluation of Multiplex PCRs for Diagnosis of Infection with Diarrheagenic *Escherichia coli* and *Shigella* spp. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n.12, 2004.

AZORRA-MANZANO, M. A.; ROBLES-PORCHAS, G. R.; MARTÍNEZ-PORCHAS, M.; RAMÍREZ-SUÁREZ, J. C.; GARCÍA-SIFUENTES, C. O.; TORRES-LLANEZ, M. J.; VALLEJO-CORDOBA, B. Bacterial Diversity and Dynamics during Spontaneous Cheese Whey Fermentation at Different Temperatures. **Fermentation**, v. 8, n. 7, p. 342, 2022.

BARANCELLI, G.V.; SILVA-CRUZ, J.V.; PORTO, E.; OLIVEIRA, C.A.F. *Listeria monocytogenes*: ocorrência em produtos lácteos e suas implicações em saúde pública. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.78, n.1, 2011

BOAS, A. F. V.; BELPIEDE, E. L. S.; DA SILVA, N. R. F.; DA SILVA, M. F.; VEIGA, S. M. O. M. Qualidade microbiológica de queijos minas frescal artesanais e industrializados. **Brazilian Journal of Development**, v.6, n. 10, 83536-83552, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa n. 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Brasília, DF, 2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. PORTARIA Nº 837, DE 18 DE JUNHO DE 2018. Aprovar o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e

Qualidade de Queijo Mozzarella (Muzzarella ou Mussarela). 2018 Acesso em 04 de setembro de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar no Brasil Informe 2022. 2022. Acesso em: 23 de março de 2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n. 9, de 8 de abril de 2009. Institui os procedimentos de controle de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2009.

BRESSAN, M. C.; LODI, F.; FERREIRA, M. W.; ANDRADE, P. L.; BOARI, C. A.; PICOLLI, R. H. Influência da embalagem na vida útil de presuntos. **Ciências Agrotécnicas**, v. 31, p. 433-448. 2007

CDC. Center for Disease Control and Prevention. 2023.
<https://www.cdc.gov/listeria/index.html> Acesso em: 05 de abr de 2023.

CHEN, Y.; KNABEL, S.J. Multiplex PCR for simultaneous detection of bacteria of the genus *Listeria*, *Listeria monocytogenes*, and major serotypes and epidemic clones of *L. monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, n. 19, p. 6299-6304, 2007.

CHAILLOU, S.; CHAULOT-TALMON, A.; CAEKEBEKE, H.; CARDINAL, M.; CHRISTIEANS, S.; DENIS, C.; CHAMPOMIER-VERGES, M. C. Origin and ecological selection of core and food-specific bacterial communities associated with meat and seafood spoilage. **The ISME journal**, v. 9, n. 5. 2015.

COELHO, R.; BRITO, J. Características microbiológicas da carne de frango: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Development**, 2021.

CORREA, F. T.; DE SOUZA, A. C.; DE SOUZA JÚNIOR, E. A.; ISIDORO, S. R.; PICCOLI, R. H.; DIAS, D. R.; ABREU, L. R. Effect of Brazilian green propolis on microorganism contaminants of surface of Gorgonzola-type cheese. **Journal of food science and technology**, v. 56, p. 1978-1987, 2019.

COSTA, M. R.; BERGAMIN FILHO, W.; CIPOLLI, K. M. V. A. B.; SILVEIRA, E. T. F.; FELÍCIO, P. E. Perfil sensorial e aceitação de presuntos crus produzidos por métodos tradicionais e acelerados. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27. 2007

FAI, A. E. C.; FIGUEIREDO, E. A. T. D.; VERDIN, S. E. F.; PINHEIRO, N. M. D. S.; BRAGA, A. R. C.; STAMFORD, T. L. M. *Salmonella* sp e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16. 2011.

FEENEY, E. L.; NUGENT, A. P.; MC NULTY, B., WALTON, J.; FLYNN, A.; GIBNEY, E. R. An overview of the contribution of dairy and cheese intakes to nutrient intakes in the Irish diet: results from the National Adult Nutrition Survey. **British Journal of Nutrition**, v. 115, n. 4. 2016.

FLORES, A.M.P.C.; MELO, C.B. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 37, n. 1, 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. U. S. Equipment, utensils, and linens, chap. 4. In Food Code 2022. Disponível em: <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/RetailFoodProtection/FoodCode/ucm374275.htm>. Acesso em 28 de maio de 2023.

FRANK, J.F.; YOUSEF, A.E. Test for groups of microorganisms. In: WEHR, H.M.; FRANK, J.K (Eds.), **Standard Methods for the Examination of Dairy Products**, 17th Ed. American Public Health Association, Washington, D.C., 2004. Chapter 8, Section 8.090 an76 8.100, p. 239-242.

GRISPOLDI, L.; KARAMA, M.; ARMANI, A.; HADJICHARALAMBOUS, C.; CENCI-GOGA, B.T. Staphylococcus aureus enterotoxin in food of animal origin and staphylococcal food poisoning risk assessment from farm to table. **Italian Journal of Animal Science**, v. 20, n.1. 2021.

IRLINGER, F.; MONNET, C. Temporal differences in microbial composition of Époisses cheese rinds during ripening and storage. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 7, p. 7500-7508, 2021.

KEERTHIRATHNE, T. P.; ROSS, K.; FALLOWFIELD, H.; WHILEY, H. The combined effect of pH and temperature on the survival of Salmonella enterica serovar typhimurium and implications for the preparation of raw egg mayonnaise. **Pathogens**, v. 8, n. 4, p. 218, 2019.

LEE, B. H.; COLE, S.; BADEL-BERCHOUX, S.; GUILLIER, L.; FELIX, B.; KREZDORN, N.; PIVETEAU, P. Biofilm formation of Listeria monocytogenes strains under food processing environments and pan-genome-wide association study. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, p. 2698, 2019.

LIM, K. L.; KHOR, W. C.; ONG, K. H.; TIMOTHY, L.; AUNG, K. T. Occurrence and Patterns of Enterotoxin Genes, spa Types and Antimicrobial Resistance Patterns in Staphylococcus aureus in Food and Food Contact Surfaces in Singapore. **Microorganisms**, v. 11, n. 7, p. 1785, 2023.

LOBACZ, A.; KOWALIK, J.; ZULEWSKA, J. Determination of the survival kinetics of Salmonella spp. on the surface of ripened raw milk cheese during storage at different temperatures. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 55. n. 2. 2020.

MACHADO, S. G; BAGLINIÈRE, F.; MARCHAND, S.; VAN COILLIE, E.; VANETTI, M. C.; DE BLOCK, J.; HEYNDRICKX, M. The biodiversity of the microbiota producing heat-resistant enzymes responsible for spoilage in processed bovine milk and dairy products. **Frontiers in microbiology**, v. 8. 2017.

MAHFOOZI, A.; SHIRZAD-ASKI, H.; KABOOSI, H.; GHAEMI, E. A. Identification of the classical enterotoxin genes of Staphylococcus aureus in various foods by multiplex PCR assay. **Iranian journal of veterinary research**, v. 20, n. 3, p. 209, 2019.

MARINHEIRO, M. F.; GHIZZI, L. G.; CERESER, N. D.; DE LIMA, H. G.; TIMM, C. D. Qualidade microbiológica de queijo mussarela em peça e fatiado. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1329-1334, 2015.

MARTINS, E.A.; GERMANO, P.M. L. *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat, sliced, cooked ham and salami products, marketed in the city of São Paulo, Brazil: Occurrence, quantification, and serotyping. **Food Control**, v. 22, n. 2. 2011.

MEHROTRA, M.; WANG, G.; JOHNSON, W.M. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 3, 2000.

MORAR, A.; BAN-CUCERZAN, A.; HERMAN, V.; TÎRZIU, E.; SALLAM, K. I.; ABD-ELGHANY, S. M.; IMRE, K. Multidrug resistant coagulase-positive *Staphylococcus aureus* and their enterotoxins detection in traditional cheeses marketed in Banat Region, Romania. **Antibiotics**, v. 10, n. 12, p. 1458, 2021.

MOTLAGH, A. M.; YANG, Z. Detection and occurrence of indicator organisms and pathogens. **Water Environment Research**, v. 91, n. 10, p. 1402-1408, 2019.

NARVHUS, J. A., BÆKKELUND, O. N., TIDEMANN, E. M., ØSTLIE, H. M., ABRAHAMSEN, R. K. Isolates of *Pseudomonas* spp. from cold-stored raw milk show variation in proteolytic and lipolytic properties. **International Dairy Journal**, v. 123.2021.

NAZIR, A.; OCHANI, S.; NAZIR, A.; FATIMA, B.; OCHANI, K.; AL HASIBUZZAMAN, M.; ULLAH, K. Rising trends of foodborne illnesses in the US. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 85, n. 5, p. 2280, 2023.

REGINATO, A.M.; VALIATTI, T. B; SOBRAL, F. D. O. S; ROMÃO, N. F. Avaliação microbiológica de queijo tipo muçarela fatiado comercializado em supermercados do município de Ji-Paraná–Rondônia. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v14, n.2, 2019.

REN, Q. S.; FANG, K.; YANG, X. T.; HAN, J. W. Ensuring the quality of meat in cold chain logistics: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**. v. 119.2022.

RIBEIRO JÚNIOR, J. C.; BELOTI, V. MASSI, F. P.; FUNGARO, M. H. P.; Thermotrophic psychrotrophic proteolytic microbiota from refrigerated raw milk. v 38. n 1. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 38, n. 1. 2017.

RIBEIRO JÚNIOR, J.C.; TAMANINI, R.; SOARES, B.F.; OLIVEIRA, A.M.; SILVA, F.G.; SILVA, F.F.; AUGUSTO, N.A.; BELOTI, V. Efficiency of boiling and four other methods for genomic DNA extraction of deteriorating spore-forming bacteria from milk. **Semina Ciências Agrárias**, v. 7, 2016.

RIVAS, P. M.; SILVA, D. C.; LOPES, S. M.; RIBOLDI, C. I.; TONDO, E. C. Assessing the *Listeria monocytogenes* transference during mechanical slicing of mozzarella cheese. **Food Microbiology**, v. 105, p. 104022, 2022.

SANTOS, T.; VIALA, D., CHAMBON, C., ESBELIN, J.; HÉBRAUD, M. *Listeria monocytogenes* biofilm adaptation to different temperatures seen through shotgun proteomics. **Frontiers in nutrition**, v. 6, 2019.

SAS Institute Inc. *Statistic alanalysis system user's guide version 9.0*. Cary. Statistical Analysis System Institute. 513 p. 2002.

SENA, A. S.; SANTANA, M. V.; NASCIMENTO, G. A.; LIMA, M. A. T.; CARVALHO, L. R. Avaliação microbiológica de presunto fatiado comercializado no município de Pau Brasil-BA. **Saúde em Revista**, v. 18, n. 50, p. 31-39. 2018.

SILVA, T. E.; SILVA, T. E.; GARCIA, L. G. C.; DOS SANTOS, P. A. Estudo do comportamento de queijo Mussarela durante armazenamento refrigerado. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 74, n. 2, p. 135-148, 2019.

SHANMUGASAMY, M.; VELAYUTHAM, T.; RAJESWAR, J. *InvA* gene specific PCR for detection of *Salmonella* from broilers. **Veterinary World**, v. 4, v. 12, 2011.

SOUZA, A. P.; LAGO, N. C. M. R; MARCHI, P. G. F.; ARAÚJO, D. S. S; MESSIAS, C. T.; SILVA, L. A.; QUEIROZ, A. M. Influência da capacitação de manipuladores de alimentos na qualidade microbiológica de produtos fracionados em um hipermercado de Ribeirão Preto/SP. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 78757-78770, 2020.

TORO, M; WILLIANS-VERGARA, J.; SOLAR, C.; QUESILLE-VILALOBOS, A. M; KNOW, H. J.; NAVARRETE, P.; REYES-JARA, A. Evaluation of the Persistence and Characterization of *Listeria monocytogenes* in Foodservice Operations. **Foods**, v. 11, n. 6. 2022.

WILKINSON, M. G.; LAPOINTE, G. Invited review: Starter lactic acid bacteria survival in cheese: New perspectives on cheese microbiology. **Journal of dairy science**, v. 103, n. 12, p. 10963-10985, 2020.

WHO. World Health Organization. Food safety incidents; 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/10-02-2023-infosan-quarterly-summary-2022-4>. Acesso em: 27 de março de 2023.

XIN, L.; MENG, Z.; ZHANG, L.; et al. The diversity and proteolytic properties of psychrotrophic bacteria in raw cows' milk from North China. **International Dairy Journal**, v. 66, p. 34-41, 2017.

YANG, S. C.; LIN, C. H.; ALJUFFALI, I. A.; FANG, J. Y. *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. **Archives of microbiology**, v. 199, 2017.

YUAN, L., SADIQ, F. A., LIU, T., LI, Y., GU, J., YANG, H., ET AL. Spoilage potential of psychrotrophic bacteria isolated from raw milk and the thermo-stability of their enzymes. **Zhejiang University-Science B (Biomed & Biotechnol)**, 19, 630–642. 2018

ZHENG, X.; SHI, X.; WANG, B. A review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the influence of yeasts in cheese. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, p. 703284, 2021.

CAPÍTULO III

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo realizado investigou a influência do processo de fatiamento de queijo muçarela e apresuntado, em ambiente industrial inspecionado. Além disso, foram pesquisados micro-organismos que podem ser transferidos nessa etapa e a capacidade de causar doenças nos consumidores.

Verificou-se que a etapa de fatiamento é um veículo que possibilita a proliferação de micro-organismos nos alimentos. Através da contagem de aeróbios mesófilos e psicrotróficos observou-se que a etapa não influenciou na multiplicação desses micro-organismos, porém quanto aos coliformes totais e *S. aureus* houve um aumento, mostrando que a manipulação intensa e práticas inadequadas, podem provocar problemas na segurança dos alimentos em sua cadeia produtiva, gerando risco ao consumidor e perdas econômicas.

A presença de *Salmonella* spp. em maior parte das amostras íntegras de queijo muçarela aponta para contaminação em etapas anteriores. Diante disso é importante ressaltar que a qualidade dos produtos utilizados no fatiamento é de fundamental importância, pois não há como se obter subprodutos de qualidade sem produtos de qualidade.

É possível a transferência de patógenos durante o fatiamento. Em algumas amostras íntegras foram recuperados *Salmonella* spp. e pós fatiamento foram confirmadas a presença desse patógenos nos alimentos.

Práticas inadequadas durante o fatiamento dos alimentos também podem disseminar micro-organismos. O exemplo disso, não foram recuperadas cepas de *S. aureus* com potencial produtor de enterotoxinas em amostras íntegras, porém após a etapa de fatiamento foram recuperadas em amostras fatiadas, cepas com fator de virulência para a produção de enterotoxinas C e D, responsáveis por causar intoxicações alimentares.

Não foram recuperadas cepas de *E. coli* e *L. monocytogenes*.

A presença de patógenos não permitido pela legislação vigente é um indicativo da necessidade de reestruturação de sistemas de autocontrole (APPCC) e boas práticas de fabricação (BPF), e demonstrou através do levantamento bibliográfico, que pode se obter resultados positivos quanto a diminuição de contaminação, quando se realiza uma intervenção, de forma preventiva, utilizando essas ferramentas.

Assim, os resultados dessa pesquisa poderão ser utilizados pelos órgãos fiscalizadores do Estado do Tocantins e por indústrias fracionadoras de alimentos para direcionar e

implementar as atividades educativas e fiscalizatórias como forma de prevenção de doenças veiculadas por alimentos e também de perdas econômicas.

6 ANEXOS

Tabela 4 Resultados das análises microbiológicas de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em queijo muçarela, em UFC/g.

Queijo muçarela										
Amostr ras	Aeróbios Mesófilos		Psicrotrófico s		Coliformes Totais		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Inteir o	Fatiad o	Inteir o	Fatiad o	Inteir o	Fatiad o	Inteir o	Fatiad o	Inteir o	Fatiad o
1	1,31 x 10 ⁷	6,7 x 10 ⁶	5,75 x 10 ⁴	12100	480	500	< 10	< 10	< 10	< 10
2	2,6 x 10 ⁶	7,75 x 10 ⁵	4,3 x 10 ⁴	5550	10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
3	4,6 x 10 ⁷	1,16 x 10 ⁷	200	450	< 10	210	< 10	< 10	80	20
4	4 x 10 ⁷	2,85 x 10 ⁷	1,07 x 10 ⁴	24000	< 10	10	< 10	< 10	100	90
5	4,5 x 10 ⁷	1,33 x 10 ⁷	3,2 x 10 ⁴	2700	100	60	< 10	< 10	150	110
6	1,05 x 10 ⁸	8,75 x 10 ⁶	1850	3350	40	50	< 10	< 10	60	70
7	3 x 10 ⁷	8,6 x 10 ⁵	14250	7600	< 10	< 10	< 10	< 10	100	100
8	4,1 x 10 ⁷	1,56 x 10 ⁷	600	750	30	20	< 10	< 10	260	370
9	4,65 x 10 ⁷	1,57 x 10 ⁷	11150	4950	70	90	< 10	< 10	90	100
10	6,35 x 10 ⁷	1,57 x 10 ⁷	1700	4250	< 10	150	< 10	< 10	30	160

Tabela 5 Resultados das análises microbiológicas de aeróbios mesófilos, psicrotróficos, coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em apresuntados, em UFC/g.

Amostr as	Apresentado									
	Aeróbios Mesófilos		Psicrotrófi cos		Coliformes Totais		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Inteiro	Fatia do	Intei ro	Fatia do	Inteir o	Fatiad o	Intei ro	Fatia do	Intei ro	Fatia do
1	280	120	100	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
2	450	120	<10	50	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
3	340	270	200	1850	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
4	750	145	3250	250	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
5	250	195	3450	1000	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
6	185	230	3350	3500	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10
7	875	250	3550	3950	<10	<10	<10	< 10	<10	< 10
8	415	240	3050	2700	< 10	<10	< 10	< 10	< 10	< 10
9	485	390	4450	3650	< 10	30	< 10	< 10	< 10	< 10
10	140	655	4750	2900	< 10	30	< 10	< 10	< 10	< 10

Figura 1 Método ISO 6579:2002/Amd 1:2007 modificado para análise qualitativa de *Salmonella* spp. em alimentos

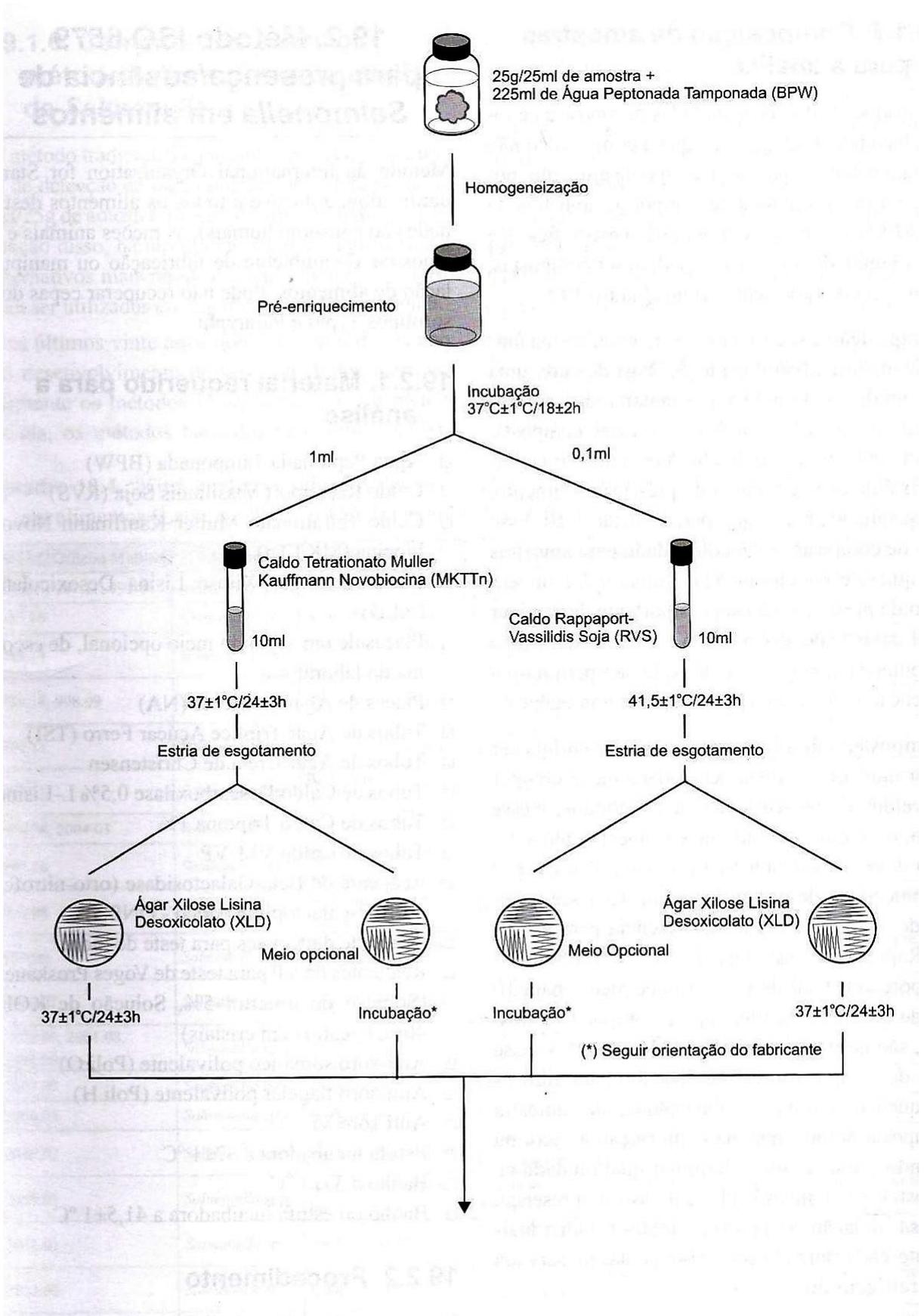


Figura 2 Método ISO 11290-1:1996/Amd 1:2004 modificado para análise qualitativa de *Listeria spp.* em alimentos

