



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO PRO-REITORIA DE
PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
PRODUÇÃO ANIMAL

RAFAELLY MELICIA DANTAS DOS SANTOS BORGES

**CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ASSOCIADA À LEITE E QUEIJO DE
COALHO ARTESANAL PRODUZIDOS NA REGIÃO DO SERIDÓ/RN**

MOSSORÓ

2023

RAFAELLY MELICIA DANTAS DOS SANTOS BORGES

**CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ASSOCIADA À LEITE E QUEIJO DE
COALHO ARTESANAL PRODUZIDOS NA REGIÃO DO SERIDÓ/RN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Animal da Universidade Federal Rural do Semi- Árido como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de mestre em Produção Animal.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

Orientador: Jean Berg Alves da Silva, Prof. Dr.

Co-Orientadora:Lara Barbosa de Souza,
Prof.^a Dra.

MOSSORÓ

2023

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei n° 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei n° 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

D732c DANTAS DOS SANTOS BORGES, RAFAELLY MELICIA .
CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ASSOCIADA À LEITE E
QUEIJO DE COALHO ARTESANAL PRODUZIDOS NA REGIÃO
DO SERIDÓ/RN / RAFAELLY MELICIA DANTAS DOS SANTOS
BORGES. - 2023.
61 f. : il.

Orientador: Jean Berg Alves da Silva.
Coorientadora: Lara Barbosa de Souza.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Produção Animal, 2023.

1. Salmonella. 2. Enterobactérias. 3.
Mesófilos. 4. Staphylococcus aureus. 5. Boas
práticas. I. Alves da Silva, Jean Berg, orient.
II. Barbosa de Souza, Lara, co-orient. III.
Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade
com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SiSBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

RAFAELLY MELICIA DANTAS DOS SANTOS BORGES

**CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ASSOCIADA À LEITE E QUEIJO DE
COALHO ARTESANAL PRODUZIDOS NA REGIÃO DO SERIDÓ/RN**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Produção Animal da Universidade Federal Rural do Semi- Árido como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de mestre em Produção Animal.

Linha de Pesquisa: Tecnologia de Produtos de Origem Animal.

APROVADA EM: 27/12/2023.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 JEAN BERG ALVES DA SILVA
Data: 27/12/2023 10:16:20-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Prof. Dr. Jean Berg Alves da Silva)
Orientador

Documento assinado digitalmente
 LARA BARBOSA DE SOUZA
Data: 27/12/2023 11:09:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Profa. Dra. Lara Barbosa de Souza - UNP)
Co-Orientadora

Documento assinado digitalmente
 CAROLINA DE GOUVEIA MENDES DA ESCÓSSIA
Data: 27/12/2023 10:34:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Dra. Carolina de Gouveia Mendes da Escóssia Pinheiro)
Examinadora

BR 110 – Km 47 – Bairro Pres. Costa e Silva – Caixa Postal 137
CEP 59625-900 – Mossoró – RN – (084) 3315-1724 – Fax (084) 3315-1778
Home page: <http://www.ufersa.edu.br>

*Dedico este trabalho ao meu amado Jesus,
cujo o meu peito arde de paixão.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Jankleyton, por me amar e me apoiar. Você é um esposo exemplar e insubstituível, amo você.

Agradeço a minha filha Lívia que hoje mesmo ainda tão pequena (2 anos), lutou junto comigo, para que eu pudesse concluir a esta missão que o Senhor, me confiou. Obrigada minha princesinha, por ser tão forte e corajosa, você é a prova viva da grandeza e da fidelidade de Deus em nossas vidas.

Agradeço a minha mãe Selma Maria (minha inspiração de mulher sábia, determinada e persistente) por sonhar este sonho junto comigo e por me dar palavras de ânimo nos dias difíceis. O Senhor é contigo mainha!

Agradeço ao meu pai Aelson. Glorifico ao Senhor Jesus por ter lhe resgatado, lhe curado e lhe transformado.

Agradeço a minha linda e doce irmã Cleisla Morinaidy por me ajudar (direto e/ou indiretamente) a continuar. Obrigada por ser tão parecida comigo, por ser tão esforçada e dedicada em tudo o que faz. Você é a menina Rafaelly de ontem, só que em uma versão melhorada. Obrigada por ter escolhido viver! Grandes coisas o Senhor tem para ti.

Agradeço a minha segunda irmã Francis Tauane. Saiba que você é especial, e amada por todos nós. Você é a menina dos olhos de Deus

Agradeço a minha sogra Gracione.

Agradeço ao meu orientador Jean Berg e a minha co-orientadora Lara Souza por terem me ajudado a trilhar este caminho tão desafiador.

Agradeço também a toda a equipe do SENAR/RN pela parceria e confiança. Assim como todos os produtores que participaram deste estudo. Que o Senhor abençoe grandemente o negócio de vocês, que as estacas sejam alargadas, e que o Senhor derrame sabedoria, entendimento e graça sobre a vida de vocês.

Portanto, seja comendo, seja bebendo,
ou seja, fazendo qualquer outra coisa,
fazei tudo para a glória de Deus
(1 coríntios 10:31).

RESUMO

Microrganismos como *Staphylococcus*, *Enterobacterias* e *Salmonella*, são causadores de DTHA, o que torna a contaminação dos alimentos por estes micróbios uma questão de saúde pública, pois o consumo de alimentos contaminados por estas bactérias dependendo da quantidade de alimento ingerido, número de UFC/g e quantidade de toxinas pré-formadas contidas no alimento consumido, pode ocasionar eventos de infecção/intoxicação alimentar de maneira individual ou em surtos com episódios de gastroenterites em diferentes níveis, e nos casos mais graves que pode levar o infectado a óbito. Estas bactérias são frequentemente isoladas em alimentos lácteos, uma vez que estes alimentos possuem como matéria prima o leite que naturalmente é uma excelente fonte nutricional para o desenvolvimento e sobrevivência destes microrganismos. A partir disto, levantou-se a necessidade de investigar de modo global e regional, por meio de uma revisão sistemática e meta-análise utilizando trabalhos originais produzidos durante os anos de 2003 à 2023 onde investigaram leites e derivados que tiveram passado pelo processo de pasteurização e UHT, Além de duas análises microbiológicas de queijos artesanais produzidos na região do Seridó/RN, respectivamente. Por tanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da pasteurização do leite de vaca e seus derivados em função da presença do *Staphylococcus aureus* através de uma Revisão sistemática e meta-análise. Além de investigar a qualidade microbiológica do leite utilizado pelas queijarias, e seus respectivos queijos de coalho artesanais. Os resultados obtidos através da RS e MA indicam que após avaliar 1.704 unidades de amostras de leite e derivados de leite pasteurizados e esterilizados, 95% destas amostras apresentaram os valores para *Staphylococcus aureus* acima do preconizado pelos parâmetros utilizados por cada autor. A análise estatística demonstrou que não houve diferença ($p > 0,05$) entre os tipos de leite pasteurizado e UHT em relação a presença do *Staphylococcus aureus*, bem como quando comparado o grupo entre os tipos de amostras de leite e seus derivados. Sobre os resultados obtidos através das análises microbiológicas, os níveis de contaminação de todos os microrganismos avaliados nas amostras aumentaram, exceto para as enterobactérias que não apresentaram contaminação em duas unidades de amostras em um intervalo de seis meses. Não foi isolado *Salmonella* em nenhuma das amostras, tanto na primeira, quanto na segunda análise microbiológica. Podendo concluir que a garantia de um produto lácteo seguro microbiologicamente, ultrapassa a sua origem de fabricação (artesanal ou industrial), onde os fatores de qualidade dos mesmos estão ligados diretamente as aplicações das Boas Práticas de Fabricação, que devem ser seguidas e acompanhadas durante toda o processo de fabricação, de maneira rigorosa, continua e diária. E que o fator climático pode ter sido a razão para o aumento da contaminação microbiológica do leite cru e dos queijos artesanais. Contudo, este fator pode ser controlado através da aplicação das BPF quando realizadas de maneira satisfatória.

ABSTRACT

Microorganisms such as *Staphylococcus*, *Enterobacteria* and *Salmonella* cause DTHA, which makes food contamination by these microbes a public health issue, as the consumption of food contaminated by these bacteria depends on the amount of food ingested, number of CFU/g and The amount of pre-formed toxins contained in the food consumed can cause infections/food poisoning individually or in outbreaks with episodes of gastroenteritis at different levels, and in the most serious cases it can lead to the death of the infected person. These bacteria are often isolated in dairy foods, since these foods have milk as their raw material, which is naturally an excellent nutritional source for the development and survival of these microorganisms. From this, the need to investigate globally and regionally was raised, through a systematic review and meta-analysis using original works produced during the years 2003 to 2023 where they investigated milk and dairy products that had undergone the pasteurization process. and UHT, in addition to two microbiological analyzes of artisanal cheeses produced in the Seridó/RN region, respectively. Therefore, the objective of this work was to evaluate the efficiency of pasteurization of cow's milk and its derivatives depending on the presence of *Staphylococcus aureus* through a Systematic review and meta-analysis. In addition to investigating the microbiological quality of the milk used by cheese dairies, and their respective artisanal coalho cheeses. The results obtained through RS and MA indicate that after evaluating 1,704 units of samples of pasteurized and sterilized milk and dairy products, 95% of these samples presented values for *Staphylococcus aureus* above those recommended by the parameters used by each author. Statistical analysis demonstrated that there was no difference ($p>0.05$) between the types of pasteurized and UHT milk in relation to the presence of *Staphylococcus aureus*, as well as when comparing the group between the types of milk samples and their derivatives. Regarding the results obtained through microbiological analyses, the contamination levels of all microorganisms evaluated in the samples increased, except for enterobacteria, which did not show contamination in two sample units within a six-month interval. It can be concluded that the guarantee of a microbiologically safe dairy product goes beyond its manufacturing origin (artisan or industrial), where their quality factors are directly linked to the applications of Good Manufacturing Practices, which must be followed and monitored throughout the manufacturing process, rigorously, continues and daily. And that the climate factor may have been the reason for the increase in microbiological contamination of raw milk and artisanal cheeses. However, this factor can be controlled through the application of GMP when carried out satisfactorily.

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	–	Porcentagem de amostras com os níveis de contaminação acima do preconizado durante a primeira e segunda análise microbiológica.	59
-----------	---	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	–	Palavras-chaves utilizadas e seus respectivos bancos de dados para a pesquisa de trabalhos com o tema utilizado para elaboração do artigo durante o período de abril de 2021 a janeiro de 2024.....	25
Tabela 2	–	Etapas da seleção aplicadas a estratégia de busca para elaboração do artigo durante o período de abril de 2021 a janeiro de 2024.	27
Tabela 3	–	Apuração da pontuação dos artigos após a aplicação dos critérios de qualidade, como requisitos básicos para a elaboração da RS e MA.....	29
Tabela 4	–	Informações gerais dos artigos utilizados para a elaboração da RS e MA.....	32
Tabela 5	–	Informações específicas sobre os procedimentos utilizados na metodologia durante a identificação do <i>Staphylococcus aureus</i> de cada trabalho.....	34
Tabela 6	–	Métodos utilizados em cada estudo, genes de cepas identificadas, avaliação da formação de biofilme, potencial de resistência e sensibilidade a antibióticos.....	35
Tabela 7	–	Presença de <i>Staphylococcus aureus</i> em função dos fatores reextraídos dos artigos e analisados durante a análise estatística.....	47
Tabela 8	–	Resultados da primeira análise microbiológica feita nas amostras de leite cru, e queijo coalho, providas da região do Seridó/RN, no mês de Setembro de 2022.....	55
Tabela 9	–	Resultados da segunda análise microbiológica feita nas amostras de leite cru e queijo coalho. Providas da região do Seridó/RN, no mês de Setembro de 2022.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANTB	Antibiotics
BG	Bulgária
BR	Brasil
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CM	Camarões
CN	China
CNPA	Cadastro Nacional de Produtos Artesanais
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DTHA	Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar
ET	Etiópia
FC	Food Control
G	Gramas
HA	Higiene Alimentar
IN	Instrução Normativa
IR	Irã
I.J.E.R.P.H	International Journal of Environmental Research and Public Health
IDJ	International Dairy Journal
IT	Itália
IJM	Iranian Journal of Microbiology
J.APP.M	Journal of Applied Microbiology
J.C.F.S	Journal of Consumer Protection and Food Safety
J.D.SC	Journal Dairy Science
J.F.P	Journal of Food Protection
J.P.M.H.G	Journal of Preventive Medicine and Hygiene
J.V.M.SCI	Veterinary Medicine and Science
R.P.T/J.T.P	Revista de Patologia Tropical /Journal of Tropical Pathology
LIPOA	Laboratório de Inspeção em Produtos de Origem Animal
MAPA	Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento

MX	México
ml	Mililitro
MICROB.	Microbiana
MOP	Microrganismos Patogênicos
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> Resistente à Meticilina
N	Número de dados
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
Prof.	Professor
RN	Rio Grande do Norte
SE	Enterotoxinas Stafilocócicas
SENAR	Serviço Nacional de Aprendizagem Rural
SENSIB.	Sensibilidade
TX	Toxins
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
UFERSA	Universidade Federal Rural do Semiárido
UHT	Temperatura Ultra-Alta
VM	Veterinary Microbiology
ZA	África do Sul
ZW	Zimbábue

D

LISTA DE SÍMBOLOS

°C:	Graus Celsius
®	Marca registrada
%:	Porcentagem

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO I - CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	15
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
1.1.1 Leite de vaca: principal matéria-prima do queijo de coalho.....	15
1.1.2 Queijos artesanais.....	15
1.1.3 Bactérias Mesófilas.....	17
1.1.4 Staphylococcus coagulase positiva.....	17
1.1.5 Enterobactérias.....	18
1.1.6 Salmonella.....	19
1.2 Assistência técnica para pequenos e novos produtores.....	20
1.3 OBJETIVOS.....	21
1.3.1 Objetivos gerais.....	21
1.3.2 Objetivos Específicos.....	21
2 CAPÍTULO II – FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DOS ALIMENTOS LÁCTEOS PRODUZIDOS COM LEITE PASTEURIZADO E UHT ASSOCIADO A PRESENÇA DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE.....	22
RESUMO.....	22
2.1 INTRODUÇÃO.....	24
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.2.1 Critérios de inclusão e exclusão.....	25
2.2.2 Estratégia de busca.....	26
2.2.3 Critérios de qualidade.....	26
2.2.4 Extração de Dados.....	29
2.2.5 Análises estatísticas.....	30
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
REFERÊNCIAS.....	42
 3. CAPÍTULO III - CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ASSOCIADA À LEITE E QUEIJO DE COALHO ARTESANAL PRODUZIDOS NA REGIÃO DO SERIDÓ/RN.....	 45
RESUMO.....	45
3.1 INTRODUÇÃO.....	47

3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.2.1. Aquisição das amostras do queijo de coalho.....	48
3.2.2. Análises Microbiológicas.....	48
3.4. RESULTADOS DE DISCUSSÃO.....	49
3.5. CONCLUSÃO.....	56
REFERÊNCIAS.....	57

1 CAPÍTULO I CONSIDERAÇÕES GERAIS

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Leite de vaca: matéria-prima do queijo coalho

O leite de vaca é um alimento de grande valor nutricional, o que torna o leite uma excelente fonte de multiplicação bacteriana. Este alimento é a principal matéria-prima do queijo de coalho. Por questões culturais da região e aceitabilidade por parte dos consumidores, a maioria dos produtores utilizam o leite cru como matéria-prima, por este motivo faz-se necessário o reforço das boas práticas durante a ordenha, uma vez que neste momento microrganismos oportunistas utilizam o leite como veículo para contaminar o queijo (Martinelli, 2022; Centeno e Carballo, 2023).

Estudos indicam que os primeiros mililitros extraídos durante a ordenha contém bactérias patogênicas, especialmente *Staphylococcus* provindas das glândulas mamárias das vacas, o que prejudica na fabricação do leite em vários aspectos como deterioração do leite por menor tempo de prateleira, alteração físico-química do queijo e até mesmo o rendimento do queijo no processo final (Derakhshani *et al.*, 2020).

Com isto, para garantir a qualidade microbiológica do queijo, medidas de controle com a sua matéria-prima devem ser tomadas em especial no momento da ordenha, através das boas práticas de ordenha, com a higienização adequada dos equipamentos e ambiente de ordenha desprezo dos três primeiros jatos, pré-dipping, lavagem dos tetos com água, pós- imersão, e a refrigeração do leite imediatamente após a ordenha (Marioto *et al.*, 2020; Dubenczuk, 2019).

1.1.2 Queijos artesanais

No Brasil (2019), para que um produto de queijo/queijo seja considerado artesanal, em sua fabricação o produtor deverá conservar as características organolépticas típicas já conhecidas pela região, além de garantir que as técnicas de processamento e produção estejam de acordo com as legislações vigentes quanto à segurança microbiológica, física e química deste produto.

Obrigatoriamente todos os estabelecimentos que produzem queijos de forma artesanal com destinação a comercialização, devem estar registrados no Cadastro Nacional de Produtos Artesanais (CNPA), adotando o selo ARTE, onde possibilitará a obtenção de um produto

certificado como Queijo Artesanal (Brasil, 2022a).

A elaboração e a venda de queijos artesanais no Brasil, envolvem hábitos culturais e peculiaridades de cada região, trazendo consigo muita vezes costumes geracionais e engessamento de ideias quase que imutáveis quanto aos métodos de fabricação e tratamento da matéria-prima, mais especificamente ao tipo de leite utilizado pelos produtores (Kamimura *et al.*, 2019).

O queijo de coalho, mais popularmente conhecido como “Queijo de coalho” é típico do Nordeste, e conseqüentemente é o de maior predominância nesta região. A sua produção teve início no século XVI com a introdução do gado as capitanias hereditárias. O mesmo possui um sabor agradável e levemente salgado, pode ser consumido *in natura*, assado, frito e/ou em preparações (Oliveira *et al.*, 2019; Martinelli e Dos angos., 2023). E por se tratar de um alimento com média a alta umidade, torna-se naturalmente um ambiente propício para proliferação de microrganismos patogênicos, sendo assim, frequentemente considerado um produto contaminado/impróprio para o consumo (Brasil, 2001; Alves *et al.*, 2018).

Os queijos artesanais produzidos no Nordeste possuem uma variação maior de microrganismos quando comparados a outras regiões, principalmente no que tange aos MOP, como o *Staphylococcus aureus* (Kamimura *et al.*, 2019). Conseqüentemente, os consumidores do queijo coalho da região do Nordeste, demonstram estar atentos e vigilantes quanto a procedência e legalidades dos queijos de coalho produzidos e comercializados em sua região (Soares *et al.*, 2017).

Conforme o levantamento para surtos de DTHA no Brasil entre os anos de 2013 a 2022 foram registrados 2.043 surtos por envenenamento alimentar, e a ingestão de leite e seus derivados contaminados por MOP, representa 1,3% (N=27) dos casos, ocupando assim, o décimo oitavo lugar entre os principais alimentos responsáveis por ocasionar surtos de DTHA notificados nos ultimos anos (Brasil, 2023).

Acredita-se que o maior percentual deste índice de surtos, seja provindo do consumo de queijos produzidos de forma artesanal. Fato este dado pela escassez das BPF durante o seu processamento, uma vez que estes produtos em sua maioria, são produzidos por pequenos produtores cujas as instruções técnicas são baixas ou até mesmo nulas. Porém, atitudes simples como práticas adequadas de higiene pessoal, lavagem correta das mãos e a pasteurização da matéria prima no pré-processamento, impulsionariam o avanço na produção e à prevenção das DTHA (Mladenović, *et al.*, 2021; Soria-herrera *et al.*, 2021).

1.1.3 Bactérias mesófilas

Bactérias mesófilas são todas aquelas que possuem uma ampla faixa de crescimento. Estas conseguem se desenvolver na faixa de temperatura entre 7°C e 48°C, porém melhoram o seu rendimento a 37°C. Tem como habitação o solo, corpo humano e animais. A evidência destes microrganismos no alimento, pode indicar a presença de MOP como *Staphylococcus*, uma vez que as suas condições de sobrevivência são semelhantes. Contudo, a presença destes microrganismos, podem ser utilizados como apoio na avaliação e diagnóstico dos hábitos higiênicos de determinados estabelecimentos (Castro, 2019a).

Vale ressaltar que no que se refere aos produtos de origem animal fermentados, é esperado que estes produtos compreendam em sua microbiota, uma alta quantidade de bactérias aeromesófilas, o que não significa que estes produtos possuem uma qualidade microbiológica inferior, pelo contrário. Porém, se trata de queijos não fermentados e/ou maturados como o queijo de coalho, o alto número destes microrganismos indica que a matéria-prima que está sendo utilizado para a fabricação dos queijos, possui uma baixa qualidade, e que se faz necessário reforçar as medidas de controle como por exemplo, a pasteurização deste alimento (Castro, 2019b).

1.1.4 *Staphylococcus coagulase positiva*

Staphylococcus spp. são um grupo de bactérias Gram-positivas, inertes que se agrupam em formato de cachos e/ou isoladas, com catalase e coagulase positiva, não esporogênicas e formadora de biofilmes. Este grupo diverso tem o *Staphylococcus aureus* como o mais frequente em intoxicação de origem alimentar através da ingestão de alimentos contaminados com toxinas. A alta virulência deste microrganismo se dá através da combinação de toxinas presentes em sua membrana (Alves *et al.*, 2018; Costa, 2020).

A prevalência do *Staphylococcus aureus* em queijos artesanais dar-se pelo fato deste MOP ser um dos principais responsáveis pela ocorrência de mastite em vacas leiteiras, e ter o manipulador de alimentos como o seu maior vetor. A utilização do leite cru como matéria prima e a manipulação inadequada durante todo o processo de fabricação do queijo, possibilita o isolamento deste microrganismo em amostras de leite e seus derivados (Soria-herrera *et al.*, 2021).

Uma quantidade de 10^5 a 10^6 UFC por grama de alimento deste microrganismo, é capaz de produzir toxinas suficientes para provocar a intoxicação de um indivíduo. Toxinas estas mais conhecidas como Enterotoxinas Stafilocócicas (SE), possuem a habilidade de produzir genes modificados, capazes de resistir à vários tipos de antibióticos, além de serem resistentes a pasteurização, esterilização e as proteases gastrointestinais (Prates *et al.*, 2017; Alves *et al.*, 2018; Osaili, 2018; Costa, 2020).

As células de *Staphylococcus aureus* são destruídas com tratamento térmico, diferentemente de suas toxinas. Em pesquisa realizada demonstrou-se que as SE presentes em uma amostragem de leite foram capazes de resistir ao binômio tempo-temperatura de até 121°C e 100 °C variando de 9,9 a 11,4 a 70 minutos, respectivamente. Quadro preocupante, pois uma infecção ocasionada pelas toxinas do *Staphylococcus* enquadra-se como uma doença de risco nível III, moderadamente perigosa de curta duração, trazendo desconfortos severos ao indivíduo intoxicado, podendo levar ao óbito , em casos mais extremos (Aguilar *et al.*, 2022).

Além disto, a OMS considera o *Staphylococcus aureus* como um dos agentes mais proeminentes no que tange a violação a integridade da saúde pública, pois o mesmo possui um alto poder de virulência, sob resistir a diversos antibióticos, o que dificulta na eficácia do tratamento ao indivíduo intoxicado, podendo levar a piora do quadro clínico deste paciente . Sendo assim, levanta-se o senso de urgência no que se refere a prevenção desta bactéria principalmente em alimentos lácteos (OMS, 2017).

1.1.5 Enterobactérias

Enterobactérias trata-se de uma extensa família de bactérias com uma morfologia ordinária onde as caracterizam como, gram-negativas, anaeróbicas facultativas, morfologia em formatos de bastonetes, não esporuladas, capsuladas ou não capsuladas, móveis ou imóveis (Osaili *et al.*, 2018). Pertencentes as enterobactérias estão: *Citrobacter Freundii*, *Enterobacter* spp, *Morganella morganii*, *Proteus rettgeri*, *Coliformes totais*, *Escherichia Coli*, *Shigella* spp, *Klebsiella* spp, *Citrobacter* spp e *Salmonella* spp. (Bertani, 2020; Silva, 2020).

Por fazerem parte da flora intestinal do homem e animais, a presença de enterobactérias em alimentos, serve como indicador de não conformidades durante o processamento (Metz; Sheehan; Feng, 2020). No entanto a Instrução Normativa (IN) nº60, de 23 de dezembro de 2019 não determina um valor de referência para a quantidade de enterobactérias em queijos de coalho. Porém, a presença destas bactérias em baixo nível, torna-se tolerável (Brasil, 2018).

As enterobactérias, por não serem esporoladas, são facilmente eliminadas com uma correta sanitização e pasteurização. Porém, a forte tradição de se fazer o queijo coalho com o leite cru, permanece sendo o principal fator dos queijos artesanais estarem entre os principais envolvidos em surtos de DTHA, tornando-se assim, um potencial risco a saúde pública (Da silva *et al.*, 2017; Osaili, 2018).

1.1.6 *Salmonella*

Pertencente à família das enterobactérias, de gênero *Salmonella*, esta bactéria possui formato de bacilo e tem o trato gastrointestinal dos seres humanos e animais como habitat natural. É gram negativa, não formadora de esporos, e anaeróbica facultativa. O grupo de *Salmonellas*-não tifóides causam salmoneloses e estão envolvidos em DTHA. Estas bactérias são capazes de sobreviver a pH extremos, porém preferem os mais neutros e temperaturas a 37°C (Bertani, 2020).

A contaminação e disseminação deste patógeno ocorre através da via fecal-oral, ou seja, através da ingestão de alimento ou água contaminada com material fecal. Esta bactéria invade a mucosa intestinal e danifica a camada epitelial do intestino delgado, ocasionando uma Enterocolite, podendo levar o indivíduo contaminado a óbito, quando as suas cepas são transportadas para outros órgãos como o baço e o fígado (Costa, 2020).

No Brasil, o parâmetro microbiológico estabelecida para queijos de moderada a alta umidade, é a ausência de *Salmonella* em 25g de amostra (Brasil, 2019). Porém, a contaminação por *Salmonella* em alimentos à base de leite é frequentemente reportada, principalmente quando estes foram fabricados com leite cru ou em estabelecimentos onde as boas práticas são negligenciadas (Soria-herrera *et al.*, 2021).

A técnica de pasteurização é eficiente ao combate das células de *Salmonella*. Isto demonstra a importância e o quanto as boas práticas são indispensáveis desde a matéria prima até o produto final, estendendo-se até a mesa do consumidor (Prates *et al.*, 2017).

1.2 Assistência técnica para pequenos e novos produtores

A assistência técnica independentemente de ser pública ou privada, auxília na construção de conhecimentos técnicos, na fabricação de produtos, formalização e gerenciamento do empreendimento, além de qualificar, implementar e acompanhar as BPF (Roldan, 2019). O SENAR/RN possui o papel de oferecer atividades de promoção social aos produtores rurais, educação profissional, assistência técnica e gerenciamento, de forma gratuita. Oportunizando a qualificação profissional e o aumento da renda dos produtores rural, através de capacitação e acompanhamento técnico regular (Brasília, 2022).

Os produtores rurais fabricantes de queijos artesanais são em sua maioria, pessoa que não tiveram acesso a educação e são leigos aos conhecimentos dos riscos, causas e prevenção das DTHA, fato este que reforça a necessidade do acompanhamento técnico como construtores de conhecimento, concientização e metanóia destes produtores, além da constante supervisão e alinhamento das boas práticas nestes estabelecimentos (Martinelli, 2022).

A partir do instituído na Instrução Normativa nº16 de 26 de agosto de 2015 (Brasil, 2015) os estabelecimentos agroindustrial de pequeno porte, tem direito de forma gratuita a assistência técnica de modo que os estabelecimentos venham a ser supridos com o acompanhamento técnico. Este benefício reduz custos com a contratação de responsáveis técnicos mesmo que sejam através de agentes públicos. O que possibilita o redirecionamento destes custos para suprir as exigências mínimas legais como a instalação de pias para lavagem de mãos, dispensadores de papel toalha e sabonete, do mesmo modo os seus suprimentos mensais (Gheller, 2022; Mannani, Ariri e Bitar, 2023).

A aplicação da técnica de treinamentos voltada as boas práticas para os produtores, é fundamental na formação de conhecimento e adequação dos padrões de higiene e qualidade dos queijos artesanais, além de ser considerado um ato simples e potencialmente eficaz na eliminação de problemas corriqueiros nestas unidades produtoras, como a ausência de higiene no ambiente de processamento, utensílios mal higienizados e presença de insetos no local de processamento (Saraiva, 2018).

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficiência da pasteurização do leite de vaca e seus derivados em função da presença do *Staphylococcus aureus* através de uma Revisão sistemática e meta-análise. Além de investigar a qualidade microbiológica do leite utilizado pelas queijarias, e seus respectivos queijos de coalho artesanais fabricados na região do Seridó/RN.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Realizar uma revisão sistemática e meta-análise utilizando artigos publicados nos últimos vinte anos;
- Investigar a prevalência do *Staphylococcus aureus* em produtos (leite e derivados de leite) pasteurizados e esterelizados;
- Fazer parceria com o Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (SENAR) para a obtenção das amostras de leite e queijos coalho provindos dos pequenos produtores da região do Seridó/RN;
- Quantificar o número de aeróbios mesófilos presentes no leite cru utilizado como matéria-prima pelas queijarias durante a produção dos queijos artesanais;
- Investigar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, enterobacterias e *Salmonella* nos queijos de coalho produzidos pelas queijarias de forma artesanal;
- Investigar a melhoria da qualidade dos produtos (leite e queijo) após a capacitação dos produtores.

2 CAPITULO II - FATORES QUE AFETAM A QUALIDADE DOS ALIMENTOS LÁCTEOS PRODUZIDOS COM LEITE PASTEURIZADO E UHT ASSOCIADO A PRESENÇA DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

RESUMO

O leite por se tratar de um alimento rico nutricionalmente e por possuir fatores intrínsecos (atividade de água e pH) que favorecem a sobrevivência e o desenvolvimentos bacteriano, o mesmo torna-se vulnerável a contaminação e multiplicação de microrganismos oportunistas e patogênicos como o *Staphylococcus aureus*. Como método de controle deste microrganismo, a indústria aplica os sistemas de pasteurização e UHT, associado as Boas Práticas de Fabricação (BPF) como métodos de prevenção e/ou eliminação do *Staphylococcus aureus*. O objetivo deste trabalho foi fazer uma pesquisa ampla em artigos científicos publicados para avaliar a eficiência da pasteurização do leite de vaca e seus derivados em função da presença do *Staphylococcus aureus*. Esta revisão sistemática e meta-análise foi realizada utilizando as seguintes bases de dados: Pubmed, Science Direct e web of Science como bancos de dados, no período de abril de 2021 a janeiro de 2024, contou-se com a participação de quatro juízes e a recomendação PRISMA. No total, foram avaliadas 1.704 amostras de alimentos entre leite e derivados, incubadas a temperaturas de 30 C° – 37 C° durante o período de 24h – 62h. Sendo que (N=18/ 86%) destas amostras tratavam-se de leite e derivados lácteos pasteurizados e (N=04/ 19%) eram amostras que passaram pelo tratamento UHT. Os locais da aquisição das amostras, foram diversos, variando entre supermercados/varejos (N=13/ 62%), feiras de rua (N=02/ 10%), produtor (N=08/ 38%), e indústria (N= 02/ 10%). Os resultados indicaram que 95% das amostras apresentaram os valores para *Staphylococcus aureus* acima do preconizado pela legislação. A análise estatística demonstrou que não houve diferença ($p>0,05$) entre os tipos de leite pasteurizado e UHT em relação a presença do *Staphylococcus aureus*, bem como quando comparado o grupo entre os tipos de amostras de leite e seus derivados. Concluindo que a prevalência de *Staphylococcus aureus* em amostras de leites e seus derivados submetidos aos tratamentos térmicos de pasteurização e esterelização provindos de indústrias, supermercados e feira de rua, demonstraram que tanto os alimentos lácteos produzidos na indústria, quanto os produzidos de forma artesanal, possuem de modo igualitário a mesma suscetibilidade de contaminação pelos microrganismos patogênicos. E que a garantia de um produto lácteo seguro, microbiologicamente, ultrapassa a sua origem de fabricação, onde os fatores de qualidade dos mesmos estão ligados diretamente as aplicações das Boas Práticas de Fabricação, que devem ser seguidas e acompanhadas durante toda o processo de fabricação, de maneira rigorosa, contínua e diária.

Palavras chaves: Esterelização. Prevalência. Biofilme. Genes. Virulência.

ABSTRACT

Because milk is a nutritionally rich food and has intrinsic factors (water activity and pH) that favor bacterial survival and development, it becomes vulnerable to contamination and multiplication of opportunistic and pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus aureus*. As a method of controlling this microorganism, the industry applies pasteurization and UHT systems, associated with Good Manufacturing Practices (GMP) as methods of preventing and/or eliminating *Staphylococcus aureus*. The objective of this work was to carry out a broad search of published scientific articles to evaluate the efficiency of pasteurization of cow's milk and its derivatives depending on the presence of *Staphylococcus aureus*. This systematic review and meta-analysis was carried out using the following databases: Pubmed, Science Direct and web of Science as databases, from April 2021 to January 2024, with the participation of four judges and the PRISMA recommendation. In total, 1,704 food samples were evaluated, including milk and dairy products, incubated at temperatures of 30 C° – 37 C° for a period of 24h – 62h. Since (N=18/ 86%) of these samples were pasteurized milk and dairy products and (N=04/ 19%) were samples that had undergone UHT treatment. The places where samples were acquired were diverse, varying between supermarkets/retailers (N=13/ 62%), street markets (N=02/ 10%), producer (N=08/ 38%), and industry (N = 02/ 10%). The results indicated that 95% of the samples presented values for *Staphylococcus aureus* above those recommended by legislation. The statistical analysis demonstrated that there was no difference ($p>0.05$) between the types of pasteurized and UHT milk in relation to the presence of *Staphylococcus aureus*, as well as when comparing the group between the types of milk samples and their derivatives. Concluding that the prevalence of *Staphylococcus aureus* in samples of milk and its derivatives subjected to heat treatments of pasteurization and sterilization from industries, supermarkets and street markets, demonstrated that both dairy foods produced in industry, as well as those produced by hand, have equally the same susceptibility to contamination by pathogenic microorganisms. And that the guarantee of a microbiologically safe dairy product goes beyond its manufacturing origin, where its quality factors are directly linked to the applications of Good Manufacturing Practices, which must be followed and monitored throughout the manufacturing process, rigorously, continuously and daily.

Keywords: Sterilization. Prevalence. Biofilm. Genes. Virulence.

2.1 INTRODUÇÃO

O leite é considerado um alimento completo nutricionalmente e possui em sua composição fatores intrínsecos (atividade de água e pH) que favorecem a sobrevivência e o desenvolvimentos bacteriano. Na indústria, como método de controle sanitário é empregado sistemas de pasteurização e aplicação das Boas Práticas de Fabricação (BPF) no processamento do leite desde a ordenha até a mesa do consumidor final, porém alguns estudos relatam não conformidades no âmbito microbiológico, apresentando números elevados de patógenos presentes no leite e seus derivados após o processo de pasteurização (Costa, Lira E Aragão., 2018; Mannani, Ariri e Bitar., 2023).

O *Staphylococcus aureus* é a espécie contaminante de maior prevalência em infecções alimentares, sendo recorrente após a ingestão do leite *in natura* e seus derivados artesanais (Costa, Lira e Aragão., 2018). A contaminação do leite por *Staphylococcus* se dá na maioria das vezes por um processo infeccioso conhecido como mastite bovina, presentes mais precisamente nos úberes das vacas, este patógeno também pode ser transmitido pelo próprio manipulador durante o processamento do leite (Milaneze *et al.*, 2018).

O *Staphylococcus aureus* pode ser normalmente combatido no processo de fervura ou pasteurização que é quando o leite passa pelo binômio tempo-temperatura de 72 °C a 75 °C durante o período de 15 a 20 segundos após a sua ordenha. Porém, estudos identificaram a presença de toxinas deste patógeno em leite pasteurizados e leites UHT conhecidos como UHT, onde quando um alimento é submetido a este processamento térmico, é considerado esterilizado (Brasil, 2002; Brasil, 2018; Costa, Lira e Aragão, 2018).

As cepas de *S. aureus* possuem o mecanismo de expelir toxinas (colagenase, proteases hemolíticas, nucleases, lipases e hialuronidase) que são capazes de converter os tecidos de seus indivíduos infectados em nutrientes necessários para o seu crescimento e desenvolvimento (Costa, 2020).

O objetivo deste trabalho foi fazer uma pesquisa ampla em artigos científicos publicados para avaliar a eficiência da pasteurização do leite de vaca e seus derivados em função da presença do *Staphylococcus aureus*.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão sistemática foi realizada com as seguintes bases de dados: Pubmed, Science Direct e web of Science como bancos de dados. A pesquisa ocorreu durante o período de abril de 2021 a janeiro de 2024, com a participação de quatro juízes e a recomendação PRISMA (Galvão; Pansani; Harrad, 2015) como referência para abranger o maior número possível dos pontos que devem conter em uma revisão sistemática e meta-análise. As palavras-chaves utilizadas foram descritas na língua inglesa, relacionadas a presença de *Staphylococcus aureus*, leite, derivados de leite e processo de pasteurização. As mesmas também foram descritas em diferentes formatos para captar mais trabalhos das bases de dados. Na tabela 1 estão descritas as palavras-chaves utilizadas em seus respectivos bancos de dados.

Tabela 1- Palavras-chaves utilizadas e seus respectivos bancos de dados para a pesquisa de trabalhos com o tema utilizado para elaboração do artigo durante o período de abril de 2021 a janeiro de 2024.

Palavras-chaves	Banco de dados
<i>Staphylococcus aureus</i> AND milk pasteurized	PUBMED
<i>Staphylococcus aureus</i> of milk or cow AND pasteurized	
<i>Staphylococcus aureus</i> milk	SCIENCE DIRECT
<i>Staphylococcus aureus</i> milk pasteurized	
Detection of antibiotic-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> in dairy foods	
<i>Staphylococcus aureus</i> AND milk pasteurized	WEB OF SCIENCE
<i>Staphylococcus aureus</i> of milk or cow AND pasteurized	

2.2.1 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram: (1) tratar-se de um artigo primário; (2) ter utilizado amostras de leite de vaca e seus derivados fervidos, pasteurizados e/ou UHT; (3) ter avaliado a presença do *Staphylococcus aureus*; (4) estar em texto completo disponível; (5) ter sido publicado de 2003 a 2023. Não houve restrição de idioma. Consequentemente os artigos que

não foram incluídos no estudo foram aqueles que: (1) tratavam de uma revisão sistemática, meta-análise, carta, dissertação ou tese; (2) Não avaliaram a presença de *Staphylococcus aureus* em leites e/ou produtos lácteos; (3) Terem utilizado leite de outras espécies não bovina; (5) Terem avaliado leite cru; (6) Terem avaliado amostras de vacas enfermas.

2.2.2 Estratégia de busca

Para a busca dos artigos seguiu-se os seguintes passos: seleção por título; leitura do resumo; leitura do artigo na íntegra; extração de dados. Em caso de discrepância entre os documentos, todos os critérios eram revisados e discutidos entre os pesquisadores.

Durante a pesquisa, foram localizados cerca de 4.599 trabalhos nos bancos de dados PUBMED, SCIENCE DIRECT e WEB OF SCIENCE utilizando as palavras-chaves determinadas para cada banco de dados, dentre este número, 72 artigos foram selecionados para a leitura dos resumos, sendo identificados 11 artigos em duplicidade. Restando 61 artigos para leitura na íntegra, onde os mesmos passaram pela filtragem dos critérios de inclusão e exclusão. Finalizando com 21 trabalhos aptos para a elaboração do presente artigo. Na tabela 2 estão expostos os resultados obtidos a partir de cada etapa da estratégia de busca e seus respectivos bancos de dados.

Tabela 2 - Etapas da seleção aplicadas a estratégia de busca para elaboração do artigo durante o período de abril de 2021 a janeiro de 2024.

ESTRATÉGIA DE BUSCA	BANCOS DE DADOS		
	PUBMED	SCIENCE DIRECT	WEB OF SCIENCE
ARTIGOS LOCALIZADOS	1.153	1.861	1.585
LEITURA DOS RESUMOS	28	16	28
ARTIGOS DUPLICADOS	5	1	5
LEITURA NA ÍNTEGRA	15	18	28
ARTIGOS SELECIONADOS	5	9	12

2.2.3 Critérios de qualidade

Os 12 (equivalente a 24 pontos totais) critérios de qualidade foram utilizados para quantificar a qualidade dos trabalhos selecionados. A pontuação foi de 1 ponto para NÃO e 2 pontos para SIM nos trabalhos que contemplavam as informações descritas nos itens abaixo:

2.2.3.1 Título: Presença de até três palavras-chaves no título, pontuaram 2 pontos. Menor que três pontuaram 1 ponto. Pois desta forma, os artigos selecionados seriam o mais coerente possíveis com o presente trabalho.

Resumo: O resumo apresenta informações estatísticas, pontuaram 2 pontos, 1 ponto para os resumos que não apresentaram dados estatísticos. Uma vez que a presença destes dados no início do trabalho, mostra riqueza de detalhes do que foi o estudo.

1. Tamanho da amostra: estudos com no mínimo 50 unidades experimentais utilizadas por tratamento pontuaram 2 pontos. Número de amostra menor que 50, pontuaram 1 ponto. Uma vez que o N (Número amostral) a partir de 50 unidades, faz com que os resultados sejam mais variados e precisos na hora de sua contabilização.

2. Boas Práticas de Fabricação: Estudos que citaram se havia ou não a aplicação das BPF nos estabelecimentos de fabricação e manipulação do leite e/ou derivados, pontuaram 2 pontos, aqueles trabalhos que não citaram esta informação pontuaram 1 ponto. Pelo fato de que a presença do *Staphylococcus aureus* em sua maioria das vezes está mais relacionada com falhas no seu processamento do que por outras causas.

3. Método de análise das amostras: Trabalhos que utilizaram a partir de dois método de análises, pontuaram 2 pontos. Apenas um método de análise, pontuaram 1 ponto. Pois diversificação de métodos contribui para que os trabalhos sejam mais precisos e ricos em detalhes, possibilitando assim, um controle maior da situação que se encontram as amostras trabalhadas.

4. Qualidades intrínsecas: Trabalhos que citaram informações como PH e atividade de água pontuaram 2 pontos, para aqueles que não apresentaram estas informações, 1 ponto. Uma vez que estes parâmetros estão diretamente relacionados ao controle microbiológico dos alimentos.

5. Local: Trabalhos que informaram o local onde foram colhidas as amostras, 2 pontos e 1 ponto para aqueles onde o local não foi citado. Possibilitando uma melhor interpretação dos resultados obtidos com os locais comerciais onde as amostras foram adquiridas.

6. Formação de biofilme: Trabalhos que avaliaram a formação de biofilmes por *Staphylococcus aureus*, pontuaram 2 pontos. Uma vez que este procedimento vai além do que apenas identificar o patógeno *Staphylococcus aureus* nas amostras, agregando assim aos resultados e possibilitando uma melhor compreensão ao tipo de organismos que se está trabalhando.

7. Resistência a antibióticos: Trabalhos que avaliaram se as amostras contêm alguma resistência a antibióticos e citaram quais eram estes antibióticos, obtiveram uma nota 2, caso

contrário 1 ponto. Onde este resultado contribuirá para a confirmação da utilização exacerbada e/ou indevida destes medicamentos para com os bovinos.

8. Trabalhos que avaliaram leite pasteurizado ou UHT, 2 pontos. Leite fervido 1 ponto. Uma vez que o foco principal no presente trabalho é avaliar a eficácia da pasteurização e UHT nos alimentos lácteos.

9. Trabalhos que avaliaram exclusivamente leite e derivados do leite de vaca pasteurizados, pontuaram 2 pontos. Trazendo consigo um melhor direcionamento da pesquisa.

10. Trabalhos que apoiavam a aplicação das Boas Práticas de Fabricação e associavam a contaminação das amostras com possíveis falhas no processo, 2 pontos e 1 ponto para trabalhos que não mencionam as BPF. São considerados alinhados a mesma linha de pensamento dos autores do presente estudo.

11. Trabalhos que avaliaram exclusivamente leite e derivados do leite de vaca pasteurizados, pontuaram 2 pontos. Trazendo consigo um melhor direcionamento da pesquisa.

12. 12. Trabalhos que apoiavam a aplicação das Boas Práticas de Fabricação e associavam a contaminação das amostras com possíveis falhas no processo, 2 pontos e 1 ponto para trabalhos que não mencionam as BPF. São considerados alinhados a mesma linha de pensamento dos autores do presente estudo.

Na soma total, os trabalhos utilizados foram aqueles que obtiveram um valor maior que 50% em seus pontos finais. Na Tabela 03 estão descritos os resultados obtidos com a aplicação do critérios de qualidade, com a pontuação de cada artigo e a porcentagem da pontuação total/final.

Tabela 3- Apuração da pontuação dos artigos após a aplicação dos critérios de qualidade, como requisitos básicos para a elaboração da RS e MA.

ARTIGOS	CRITÉRIOS												PONTOS (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Costa; Lira e Aragão, 2018	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	86
Costa; Lira e Aragão, 2018	2	2	2	1	2	1	2	2	2	2	1	1	83
Dai <i>et al</i> , 2019	2	2	1	2	2	1	2	2	2	2	1	2	88
Ayele <i>et al</i> , 2017	2	2	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	83
Bissong & Ateba, 2020	1	2	2	1	2	1	2	1	1	2	1	2	75
Vahedi <i>et al</i> , 2013	2	2	1	1	2	1	2	2	2	2	1	2	83
Akindolire; Babalola & Ateba, 2015	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	2	1	71
Grecelle <i>et al</i> , 2020	1	1	1	1	1	2	2	1	1	2	1	2	67
Belli <i>et al</i> , 2013	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	2	1	71
Fooladi; Tavakoli & Naderi, 2010	2	2	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	63
Chen <i>et al</i> , 2018	2	1	1	1	2	2	1	1	1	2	1	1	67

Gran <i>et al</i> , 2003	1	2	2	1	2	1	2	1	1	1	1	1	67
Rall <i>et al</i> , 2008	1	1	2	1	2	1	1	1	1	2	2	1	67
Morandi <i>et al</i> , 2007	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	67
Guimarães <i>et al</i> , 2013	1	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	63
Nascimento <i>et al</i> ., 2016	1	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	2	67
Zhang <i>et al</i> , 2022	2	2	2	1	2	2	2	1	1	2	2	1	84
Bastam <i>et al</i> , 2021	1	1	2	1	2	1	2	1	2	2	1	1	71
Cai <i>et al</i> , 2021	2	1	2	1	2	1	1	1	2	2	2	1	75
Rios-Muñis <i>et al</i> , 2022	2	1	2	1	2	2	2	2	1	2	1	2	83
Silva <i>et al</i> , 2023	2	2	1	2	2	2	2	1	1	1	1	2	79
Hasan; Tarannum & Parveen, 2021	2	1	1	2	2	1	2	1	2	2	1	2	79

- 2 1. Título: Presença de até três palavras-chaves no título.
- 3 2. Resumo: O resumo apresenta informações estatísticas.
- 4 3.Tamanho da amostra: estudos com no mínimo 50 unidades experimentais utilizadas por tratamento.
- 5 4.Boas Práticas de Fabricação: Estudos que citaram se havia ou não a aplicação das BPF nos estabelecimentos de fabricação e manipulação do leite e/ou derivados.
- 6 5.Método de análise das amostras: Trabalhos que utilizaram apenas um método de análise.
- 7 6.Qualidades intrínsecas: Trabalhos que citaram informações como PH e atividade de AA.
- 8 7.Local: Trabalhos que informaram o local onde foram colhidas as amostras.
- 9 8.Formação de biofilme: Trabalhos que avaliaram a formação de biofilmes por *Staphylococcus aureus*.
- 10 9.Resistência a antibiótico: Trabalhos que avaliaram se as amostras contêm alguma resistência a antibióticos e citaram quais eram estes antibióticos.
- 11 10.Trabalhos que avaliaram leite pasteurizado ou UHT.
- 12 11.Trabalhos que avaliaram exclusivamente leite e derivados do leite de vaca pasteurizados.
- 13 12.Trabalhos que apoiam a aplicação das Boas Práticas de Manipulação (BPM) e associam a contaminação das amostras com possíveis falhas no processo.

Para a elaboração desta Revisão Sistemática (RS) e Meta-análise (MA), Foram utilizados 21 trabalhos primários publicados entre os anos de 2003 à 2023. A pesquisa foi finalizada no início do mês de janeiro de 2024. A pontuação dos critérios de qualidade destes artigos variaram entre 66 – 88% o que sugere credibilidade nos artigos utilizados e confiança dos dados obtidos no presente estudo.

2.2.4 Extração de dados

As informações referentes às variáveis a serem analisadas foram extraídas das seções “Material e Métodos” e “Resultados” de cada artigo.

Os dados extraídos dos trabalhos foram: Referência, ano de publicação, periódico publicado, número de amostras adquiridas, quantidade amostras utilizadas, grau e período de incubação, presença do *Staphylococcus aureus* após o tratamento térmico, alimento avaliado, tipo de tratamento térmico utilizado, método de identificação do patógeno, formação de biofilme, cepas identificadas, resistência a antibióticos, antibióticos avaliados, local onde foram adquiridas as amostras, aplicação das boas práticas de fabricação durante o processamento.

Vale ressaltar que o trabalho realizado pelos autores COSTA; LIRA e ARAGÃO (2018), por terem contemplado os dois tipos de tratamento térmicos (pasteurizado e UHT) desejados, durante a extração dos dados, este trabalho foi dividido em dois, com o intuito de separar e organizar o fluxo de cada procedimento realizado pelos autores.

2.2.5 Análises estatísticas

Inicialmente foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para verificação de normalidade dos dados nas variáveis quantitativas da base de dados em estudo. Com o resultado do teste Shapiro-Wilk (5% de probabilidade), foi verificado a não existência de normalidade nos dados, desta forma, optou-se pelo uso de técnicas da Estatística Não-Paramétrica para as análises desse estudo através teste Kruskal-Wallis (5% de probabilidade) para verificar a igualdade ou diferença estatisticamente significativas entre as variáveis do estudo.

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a pesquisa, percebeu-se que nos últimos anos (2021 a 2024) os trabalhos publicados que investigam *Staphylococcus aureus* aumentarem, quando comparado ao número de publicação dos últimos dez anos. Sendo que a maior parte das publicações, referem-se a ensaios de métodos rápidos para a identificação do *Staphylococcus aureus* como estratégia preventiva e complementar no combate ao *Staphylococcus aureus*, uma vez que a sua presença nos alimentos lácteos artesanais e industriais, perdura ao longo dos anos.

Para compor esta revisão, foram considerados estudos que avaliaram leite e derivados lácteos pasteurizados (N=18/ 86%) e UHT (N=04/ 19%). De cada artigo, foram extraídas informações básicas (autor, periódico, país) de suas análises e seus componentes como: alimento utilizado na pesquisa, tratamento térmico avaliado e local onde as amostras foram coletadas. Na Tabela 4, estão contidas informações gerais dos artigos, como o periódico onde o artigo foi publicado, país de publicação, alimento avaliado, tratamento térmico investigado e local de aquisição das amostras.

Tabela 4 - Informações gerais dos artigos utilizados para a elaboração da RS e MA.

AUTORIA	PERIÓDICO	PAÍS	ALIMENTO	TRATAMENTO TÉRMICO	LOCAL
Costa; Lira e Aragão, 2018	J.C.F.S	BR	Leite	Pasteurização	Supermercado/varejo

Costa; Lira e Aragão, 2018	J.C.F.S	BR	Leite	UHT	Supermercado/varejo
Dai <i>et al</i> , 2019	JD.SC	CN	Leite	UHT	Supermercado/varejo feira de rua e produtor
Ayele <i>et al</i> , 2017	BMC MICROB.	ET	Leite	Pasteurização	Industria
Bissong & Ateba, 2020	ANTB.	ZA	Leite	Pasteurização	Supermercado/varejo
Vahedi <i>et al</i> , 2013	J.P.M.H.G	IR	Leite	Pasteurização	Supermercado/varejo
Akindolire; Babalola & Ateba, 2015	I.J.E.R.P.H	ZA	Leite	Pasteurização	Supermercado/varejo e produtor
Grecelle <i>et al</i> , 2020	R.P.T/J.T.P	BR	Leite	Pasteurização	Produtor
Belli <i>et al</i> , 2013	F.C	CM	Derivados de leite	Pasteurizado	Produtor
Fooladi; Tavakoli & Naderi, 2010	I.J.M	IR	Derivados de leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo
Chen <i>et al</i> , 2018	JD.SC	CN	Derivados de leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo
Gran <i>et al</i> , 2003	JD.SCI	ZW	Leite	Pasteurizado	Produtor
Rall <i>et al</i> , 2008	VM	BR	Leite	UHT	Produtor
Morandi <i>et al</i> , 2007	VM	IT	Leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo
Guimarães <i>et al</i> , 2013	J.D.SC	BR	Derivados de leite	UHT	Produtor
Nascimento <i>et al</i> ., 2016	H.A	BR	Leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo
Zhang <i>et al</i> , 2022	TX	CN	Leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo
Bastam <i>et al</i> , 2021	J.V.M.SCI	IR	Leite e derivado de leite	Pasteurizado	Produtor
Cai <i>et al</i> , 2021	J.F.P	CN	Derivados de leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo
Rios-Muñis <i>et al</i> , 2022	J.F.P	MX	Derivados de leite	Pasteurizado	Feira de rua
Silva <i>et al</i> , 2023	I.D.J	BR	Derivado de leite	Pasteurizado	Indústria
Hasan; Tarannum & Parveen, 2021	J.APP.M	BG	Leite	Pasteurizado	Supermercado/varejo

Os locais da aquisição das amostras, foram diversos, variando entre supermercados/varejos (N=13/ 62%), feiras de rua (N=02/ 10%), produtor (N=08/ 38%), e indústria (N= 02/ 10%).

O tipo de amostras que prevaleceram nas análises foram os leites pasteurizados (N=13/ 62%). Dentre os estudos selecionados, seis artigos (29%) foram realizados no Brasil, quatro

estudos (19%) provindos da China, três (14%) trabalhos tiveram origem do Irã. Também foram analisados estudos realizados na África do Sul e Camarões, com dois artigos cada (19%). Os demais estudos foram realizados na Etiópia, Itália, Bulgária, e México, que contaram com um (19%) artigo em cada país.

No total, foram avaliadas 1.704 amostras de alimentos entre leite e derivados, incubadas a temperaturas de 30 C° – 37 C° durante o período de 24h – 62h. Na tabela 5, estão expostas informações sobre as amostras avaliadas como: Número total de amostras adquiridas, volume de amostra avaliada temperatura e período de incubação das amostras. Assim como a confirmação da presença de *Staphylococcus aureus* isolado nas amostras dos alimentos que foram submetidas a tratamentos térmicos como a pasteurização e UHT.

Tabela 5 – Informações específicas sobre os procedimentos utilizados na metodologia durante a identificação do *Staphylococcus aureus* de cada trabalho.

AUTORIA	N	VOLUME	INCUB. (C°)	INCUB. (HORAS)	PRES. <i>S. Aureus</i>	pH	AA
Costa; Lira e Aragão, 2018	30	1 L	35	24	Sim	Não	Não
Costa; Lira e Aragão, 2018	30	1 L	35	24	Sim	Não	Não
Dai <i>et al</i> , 2019	258	25 ml	37	48	Sim	Não	Não
Ayele <i>et al</i> , 2017	10	10 ml	37	48	Não	Não	Não
Bissong & Ateba , 2020	24	100 µL	37	24	Sim	Não	Não
Vahedi <i>et al</i> , 2013	100	5 ml	35	24	Sim	Não	Não
Akindolire; Babalola & Ateba, 2015	65	50 ml	37	24	Sim	Não	Não
Grecelle <i>et al</i> , 2020	62	10 ml	30	62	Sim	Não	Não
Belli <i>et al</i> , 2013	42	1 ml	37	24	Sim	Não	Não
Fooladi; Tavakoli & Naderi, 2010	100	1 ml	37	48	Sim	Não	Não
Chen <i>et al</i> , 2018	6	5 ml	37	24	Sim	Sim	Não

Gran <i>et al</i> , 2003	60	1 g	37	24	Sim	Não	Não
Rall <i>et al</i> , 2008	108	25 ml	35	48	Sim	Não	Não
Morandi <i>et al</i> , 2007	112	20 ml	37	48	Sim	Não	Não
Guimarães <i>et al</i> , 2013	80	10 ml	37	62	Sim	Não	Não
Nascimento <i>et al.</i> , 2016	13	25ml	37	48	Sim	Não	Não
Zhang <i>et al</i> , 2022	210	1ml	37	48	Sim	Não	Não
Bastam <i>et al</i> , 2021	65	1ml	37	24	Sim	Não	Não
Cai <i>et al</i> , 2021	205	2ml	37	24	Sim	Não	Não
Rios-Muñis <i>et al</i> , 2022	72	10g	37	24	Sim	Sim	Não
Silva <i>et al</i> , 2023	32	25g	35	18	Sim	Sim	Sim
Hasan; Tarannum & Parveen, 2021	20	1ml	37	24	Sim	Não	Não

Os resultados destes estudos evidenciaram a presença de *Staphylococcus aureus* em todas as amostras avaliadas, exeto nas amostras avaliadas por Ayele *et al.* (2017) que por sua vez, não foi isolado nenhuma cepa de *Staphylococcus aureus* em suas amostras analisadas. A presença do *Staphylococcus aureus* em alimentos pasteurizados e/ou UHT, pode indicar falhas na manipulação e aplicação das boas práticas tanto na pré-pasteurização, quanto na pós-pasteurização. A quantidade deste microrganismos isolado nos alimentos lácteos após o tratamento térmico é influenciada pela quantidade de microrganismos presentes no leite cru, antes do processo. O que torna este alimento vulnerável e suceptível a recontaminação, mediante a quaisquer falha no sistema de pasteurização (Marioto *et al.*, 2020).

Três trabalhos avaliaram o pH das amostras, o que resultou em valores que intercalam entre 6,56 (baixa acidez) a 4,06 (ácido). Apenas o trabalho realizado por Silva *et al.* (2023) avaliou a atividade de água das amostras. Parâmetros como pH e atividade de água (AA), são indispensáveis para avaliar a capacidade de controle antibacteriano do próprio alimento, no entanto estas características intrínsecas por si só, não são capazes de proporcionar uma aceitável qualidade microbiológica dos alimentos (Matos, 2019).

Os trabalhos realizados por Dai *et al.* (2019), Silva *et al.* (2023) e Hasan; Tarannum & Parveen (2021) destacaram-se entre os demais trabalhos, por citar/avaliar práticas inadequadas de manuseio e o uso de equipamentos anti-higiênicos nos estabelecimentos de manipulação e fabricação. Oito (38%) dos trabalhos avaliados citaram que apoiam a aplicação das BPF. As boas práticas são requisitos mínimos e essenciais para os estabelecimentos produtores de leite

e derivados, independente de se tratar de pequenos produtores ou grandes indústrias (Pires, 2018).

Na Tabela 6, estão contidas informações relevantes como a metodologia utilizada pelos autores, avaliação e identificação de genes de virulências, avaliação e a confirmação da formação de biofilme, antibióticos testados e suas respectivas reações como sensibilidade e/ou resistência por parte do *Staphylococcus* isolado em cada estudo.

Tabela 6 - Métodos utilizados em cada estudo, genes de cepas identificadas, avaliação da formação de biofilme, potencial de resistência e sensibilidade a antibióticos

AUTORIA	METODOLOGIA UTILIZADA	GENES DE VIRULÊNCIA ENCONTRADOS	AVALIAÇÃO FORMAÇÃO BIOFILMES	SENSIB. MICROB.	RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA
Costa; Lira e Aragão, 2018	1.Amostragem; 2.Isolamento bacteriano; 3.Quantificação de biofilmes; 4.Capacidade de formação de biofilmes; 5.Antibiograma; 6.Análise estatística.	NA	Sim	imipenem, amoxicilina + ácido clavulânico, estreptomina	cefepime, cefotaxime, ampicilina e oxacilina
Dai <i>et al.</i> , 2019	1.Amostragem; 2.Isolamento e detecção; 3.Teste susceptibilidade antimicrobiana; 4.Formação de biofilme in vivo; 5.Extração de DNA e PCR; 6.Digitação Molecular.	<i>Seg, sei, sem, sen, sec, sel, seo, seh, tsst.</i>	Sim	cefepima, cefoxitina, linezolida, nitrofurantoína	ampicilina, penicilina G, eritromicina, canamicina, telitromicina, clindamicina, gentamicina, tetraciclina, norfloxacin, ciprofloxacin, amicacina, rifampicina, cloranfenicol, ácido, fusídico, ceftazidima, estreptomina, amoxicilina/clavulânico ácido, trimetoprim/sulfametoxazol (1:19) quinupristina/dalfopristina.
Ayele <i>et al.</i> , 2017	1.Área de estudo e população de estudo; 2.Tamanho da amostra e amostragem; 3.Isolamento e identificação; 4.Teste de suscetibilidade antimicrobiana; 5.Pesquisa por questionário; 6.Gerenciamento e análise de dados.	NA	Não	NA	NA
Bissong & Ateba, 2020	1. Coleta de Amostras; 2. Isolamento e Identificação de Isolados de Staphylococcus aureus; 3. Detecção por PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) de Biofilme e Genes de Resistência Antimicrobiana; 4. Produção de Biofilme Fenotípico; 5. Teste de suscetibilidade a antibióticos (AST); 6. Avaliação fenotípica da produção de beta-lactamas e resistência induzível à clindamicina; 7. Análise Estatística.	NA	Sim	Ciprofloxacin, cloranfenicol, sulfametoxazol-trimetoprim e clindamicina	Ceftriaxona, vancomicina, penicilina G
Vahedi <i>et al.</i> , 2013	1.Amostragem; 2.Isolamento e contagem de colônias; 3.Caracterização das colônias; 4.Testes de catalase e coagulase; 5.Coloração da colônia; 6. Teste de manitol;	NA	Não	NA	NA

	7. Testes conformatórios aeróbio, e fermentação anaeróbica de glicose; 8. Teste de sensibilidade à lisostafina.				
Akindolire;Baba-Lola & Ateba, 2015	1.Design de estudo; 2.Site de estudo; 3.Coleta de Amostras; 4.Enriquecimentos e Isolamento de <i>S. aureus</i>; 1.Identificação Bacteriana; 2.Identificação Bioquímica de Estafilococos; 3.Determinação das identidades dos isolados utilizando a dessorção/ionização a laser assistida por matriz; 4.Espectrometria de Massa (MALDI-TOF MS); 5.Identificação Molecular por PCR; 6.Extração de DNA; 7.PCR específico para 16S rRNA para detecção de estafilococos; 8.PCR específico para identificação de <i>Staphylococcus aureus</i>; 9.Detecção de reação em cadeia da polimerase multiplex (PCR) de sequências genéticas que codificam virulência; 10.Determinantes em <i>S. aureus</i>; 11.Eletroforese em Gel de Agarose de Produtos Extraídos de DNA e PCR; 12.Determinação dos Perfis de Resistência a Antibióticos de Isolados de <i>S. aureus</i>.	Sec	Não	Gentamicina, Canamicina, sulfametoxazol	penicilina G, ampicilina oxacilina, estreptomicina, vancomicina, eritromicina, sulfametoxazol
Grecelle et al., 2020	1.Amostragem das superfícies de produção e mãos dos manipuladores; 2.Quantificação dos <i>Staphylococcus</i>; 3.Análise de pureza e verificação da produção de hemólise; 4.Testes de coloração de Gram; 5.Testes de catalase; 6.Testes de coagulase em lâmina, e coagulase em tubo; 7.Testes de metabolismo de carboidratos (manitol, trealose, xilose, maltose, lactose, sacarose e manose); 8.Identificação pelo método MALDI-TOF MS (instrumento Microflex LT, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha);	NA	Não	NA	NA

	9.Análises genotípicas para detecção do gene da enterotoxina; 10.Detecção de genes de enterotoxinas em <i>Staphylococcus</i> sp.; 11.Reação em cadeia da polimerase (PCR) para os genes sea, seb, sec, sed e see.				
Belli <i>et al.</i> , 2013	1.Amostragem; 2.Análises microbiológicas; 3.Análise estatística.	NA	Não	NA	NA
Fooladi; Tavakoli & Naderi, 2010	1.Coleta e triagem de amostras de laticínios; 2.Estudo da capacidade de produção de SEs por meio fenotípico métodos; 3.Experimentos de PCR; 4.Análise estatística.	NA	Não	NA	NA
Chen <i>et al.</i> , 2018	1.Cepas e Culturas; 2.Detecção de Crescimento e Compostos Voláteis por <i>Staph. aureus</i> em leite estéril; 3.Detecção de crescimento de <i>Staph. aureus</i> e voláteis. dourado em diferentes temperaturas em leite estéril; 4.Detecção de crescimento de <i>Staph. aureus</i> e voláteis. dourado em Culturas Mistas em Leite Estéril; 5.Detecção de crescimento de <i>Staph. aureus</i> e voláteis. dourado em Leites Pasteurizados e Crus; 6.Análise de dados.	NA	Não	NA	NA
Gran <i>et al.</i> , 2003	1.Amostragem; 2.Detecção dos micróbios; 3.Determinação de pH; 4.Análise estatística de dados.	NA	Não	NA	NA
Rall <i>et al.</i> , 2008	1.Amostragem; 2.Isolamento e identificação de <i>S. aureus</i> ; 3.Teste de PCR para codificação de genes 4.enterotoxinas estafilocócicas.	NA	Não	NA	NA
Morandi <i>et al.</i> , 2010	1.Amostragem; 2.Fonte e identificação de cepas de <i>S. aureus</i> ; 3.Detecção de mar, sec, sed, seg, seh, sei, sej e sel; 4.Testes de especificidade; 5.Produção e detecção de SEA, SEB, SEC,	NA	Não	NA	NA

	SED e SEE.				
Guimarães <i>et al.</i> , 2013	1.Estratégia de Seleção e Amostragem do Rebanho; 2.identificação de <i>Staphylococcus</i> spp. 3.testes bioquímicos 4.Confirmação <i>Staphylococcus</i> 5.Análise Estatística.	NA	Não	NA	NA
Nascimento <i>et al.</i> , 2016	1.Amostragem; 2.Contagem; 3.Isolamento; 4.Testes identificação de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva e negativa. 5.Identificação bioquímica, 6.Testes de produção de acetoina, catalase, descarboxilação de aminoácidos (ornitina e arginina), esculina, coloração de Gram e metabolização de carboidratos (sacarose, xilose, rafinose, maltose e manitol).	NA	Não	NA	NA
Zhang <i>et al.</i> , 2022	1.Amostragem; 2.Identificação de <i>S. aureus</i> e Detecção de genes de enterotoxinas; 3.Testes fisiológicos; 4.Testes bioquímicos e tecnologia PCR; 5.Testes de biologia molecular e enterotoxina.	<i>sea, seb, sec, sed, see.</i>	NA	NA	NA
Bastam <i>et al.</i> , 2021	1.Amostragem; 2.Cultura e identificação de <i>S.aureus</i> ; 3.MultiplexPCR; 4.Determinação da especificidade e sensibilidade do MultiplexPCR; 5.PCR multiplex para identificação de <i>S. aureus</i> ; 6.Resistência a antibióticos em <i>S.aureus</i>	NA	NA	cefotaxima, gentamicina e tetraciclina	Ampicilina
Cai <i>et al.</i> , 2021	1.Amostragem; 2.Isolamento e identificação; 3.Detecção fenotípica de resistência antimicrobiana; 4.Detecção de genes de resistência e virulência; 5.Análise estatística.	<i>Sea, seb, sec, pvl, tst, eta, etb, hla, hlb</i>	NA	Tetraciclina, cloranfenicol, ciprofloxacina, cefotaxima e Eritromicina	PenicilinaG, sulfametoxazol-trimetoprim, canamicina, gentamicina, ampicilina e clindamicina
Rios-Muñis <i>et al.</i> , 2022	1.Amostragem; 2.Análise microbiológica; 3.Análise estatística.	NA	NA	NA	NA
Silva <i>et al.</i> , 2023	1.Amostragem; 2.Análise físico-química; 3.Análise microbiológica; 4.Detecção do gene <i>eae</i> ; 5.Análise estatística.	NA	NA	NA	NA

Hasan; Tarannum & Parveen, 2021	1.Amostragem; 2.Processamento de Amostras; 3.Isolamento e identificação de <i>Staphylococcus aureus</i> ; 4.Antibiograma de isolado <i>Staphylococcus aureus</i> .	NA	NA	Imipenem	Penicilina G, Ampicilina e Meticilina
---------------------------------------	---	----	----	----------	--

NA= NÃO AVALIADO

A formação de cepas torna o *Staphylococcus aureus* ainda mais resistente aos tratamentos térmicos, dificultando assim a sua eliminação, ainda mais quando acompanhado de resistência à antibióticos, este fenômeno é dado pela frequente e desacerbada utilização de medicamentos antimicrobianos para o tratamento de infecções entre o rebanho, principalmente para o tratamento de mastite bovina (Bissong e Ateba, 2020).

Quatro (19%) dos trabalhos avaliaram a formação de biofilme pelas cepas de *Staphylococcus aureus*. E sete (33%) avaliaram o potencial de resistência à antibióticos, prevalecendo, a ampicilina, penicilina, gentamicina e a clindamicina. Percebeu-se sensibilidade aos farmacos: imipenem, cefoxitina, linezolida e nitrofurantoína e cefoxitina. Os antibióticos como, cefepima, clindamicina, estreptomicina, tetraciclina, ciprofloxacino, cloranfenicol, canamicina, gentamicina, amicacina e sulfametoxazol apresentaram baixa resistência por parte dos *Staphylococcus aureus* durante as análises.

A análise estatística demonstrou que não houvera diferença ($p>0,05$) entre os tipos de leite pasteurizado e UHT em relação a presença do *Staphylococcus aureus*, bem como quando comparado o grupo entre os tipos de amostras de leite e seus derivados (queijo, iogurte e creme). Do mesmo modo aconteceu com o tempo de incubação e as temperaturas de incubação (30, 35 e 37 °C). Os locais onde as amostras foram adquiridas (supermercado/varejo, produtor e industria) também não apresentaram divergencias nos dados extraídos. Na tabela 7 estão expostos os resultados obtidos com a análise de dados.

Tabela 7 - Presença de *Staphylococcus aureus* em função dos fatores reextraídos dos artigos e analisados durante a análise estatística.

	PRESENÇA DE <i>STAPHYLOCOCCUS</i> <i>AUREUS</i> (%)	CV (%)	VALOR-P
PASTEURIZADO	33,6 a	78,4	
UHT	29,4 a	110,05	0,853
LEITE	27,55 a	92,93	0,223

QUEIJO*	-	-	
IOGURTE	62,5 a	44,12	
CREME*	-	-	
24 Hs	24,4 a	100,85	
48 Hs	35,72 a	77,28	0,401
62 Hs*	-	-	
68 Hs*	-	-	
30 (°C)	17,2 a	-	
35 (°C)	34,13 a	102,78	0,49
37 (°C)		80,8	
VAREJO	35,56 a	55,38	
SUPERMERCADO	28,52 a	105,36	0,371
PRODUTOR	35,6 a	79,83	

*A base de dados era composta por apenas um dado, impossibilitando a comparação.

Ao observar estudos científicos realizados ao longo dos últimos vinte e um anos, percebeu-se que os microrganismos patogênicos como os *Staphylococcus aureus*, quando presentes em leites e derivados lácteos já pasteurizados e UHT, tornaram-se cada vez mais triviais, agressivos e resistentes aos processos sanitários, o que causa despertamento sobre a produção e manipulação destes alimentos (Costa, 2020).

Para a indústria, o monitoramento e controle do pré e pós-processamento voltado ao combate as bactérias patogênicas, formadoras de esporos e deteriorantes ainda é um grande desafio. O que exige avanços na aplicação de estratégias e políticas públicas voltadas ao acompanhamento e controle na cadeia de produção/fabricação destes alimentos (Santos *et al*, 2023).

Autores como Marioto *et al*, (2020) acreditam que incentivos fiscais dados aos produtores, fiscalizações mais eficazes e rigorosas nos estabelecimentos impulsionariam a qualidade sanitária destes alimentos. Aumentado assim, o compromisso para com o consumidor perante a qualidade sanitária de seus produtos.

A conscientização e capacitação dos produtores e consumidores sobre os reais riscos e como evitar infecções intestinais ocasionadas pelo consumo destes alimentos contaminados também devem fazer parte do escopo da qualidade (Centeno e Carballo, 2023).

2.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A investigação da prevalência de *Staphylococcus aureus* em amostras de leites submetidos aos tratamentos térmicos de pasteurização e esterilização dos produtos lácteos provindos de indústrias, supermercados e feira de rua, demonstrou que a presença de microrganismos patogênicos no leite de vaca e alimentos lácteos produzidos na indústria, quando comparados aos alimentos fabricados de forma artesanal, possuem de modo igualitário a mesma suscetibilidade de contaminação pelos microrganismos patogênicos. O que induz a afirmar que a garantia de um produto lácteo seguro microbiologicamente, ultrapassa a sua origem de fabricação. E que os fatores de qualidade dos mesmos estão ligados diretamente as aplicações das Boas Práticas de Fabricação, que devem ser seguidas e acompanhadas durante toda o processo de fabricação, de maneira rigorosa, continua e diária.

REFERÊNCIAS

AKINDOLIRE, M.; BABALOLA, O; ATEBA, C. Detection of Antibiotic Resistant *Staphylococcus aureus* from Milk: a public health implication. **International Journal of Environmental Research and Public Health**. v12, n9, p.10254-10275, 2015.

AYELE, Y., *et al.* Assessment of *Staphylococcus aureus* along milk value chain and its public health importance in Sebeta, central Oromia, Ethiopia. **Bmc Microbiology**, Ethiopia, v17, n1, p.02-07, 2017.

BASTAM, M.M., *et al.* Pathogenic bacteria in cheese, raw and pasteurised milk. **Veterinary Medicine and Science**, v10, n2, p. 2101-2472, 2021.

BELLI, P., *et al.* Microbiological survey of milk and dairy products from a small-scale dairy processing unit in Maroua (Cameroon). **Food Control**. v32, n2, p. 366-370, 2013.

BISSONG, M. E.A; ATEBA, C. N. Genotypic and Phenotypic Evaluation of Biofilm Production and Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolated from Milk. **North West Province**. v9, n4, p.1-14, 2020.

BRASIL (2018). **Portaria nº 109, de 25 de maio de 2018. Portaria Nº 109, de 25 de Abril de 2018**. Brasília, 26 maio 2018. n. 80, Seção 1. 17-20. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/aceso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas/documentos/Portaria3818e3918RegulamentotcnicoiteRevisoIN512002.pdf>>. Acesso em: 07 de dezembro, 2023.

BRASIL (2002). Instrução Normativa Nº 51, de 18 de setembro de 2002: GABINETE DO MINISTRO.183.ed.Brasilia,2002,164.Disponível em:<<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-51-de-18-de-setembro-de-2002.pdf>> Acesso em: 07 de dezembro, 2023.

BRASIL (2010). Manual integrado de vigilância, prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos. Secretaria de Vigilância em Saúde. Editora do Ministério da Saúde, 2010, 1-136.Disponível em:<https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_integrado_prevencao_doencas_alimentos.pdf> Acesso em: 07 de dezembro, 2023.

CAI, H. *et al.*, Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from Kazak cheese in Xinjiang, China. **Food Control**, v123,p. 107759, 2021.

CHEN, J., *et al.* The production characteristics of volatile organic compounds and their relation to growth status of *Staphylococcus aureus* in milk environment. **Journal of Dairy Science**. v101, n6, p.1-9, 2018.

COSTA, R. A; LIRA, J.V; ARAGÃO, M.F. Biofilm-formation by drug-resistant *Staphylococcus aureus* from cow milk. **Journal of Consumer Protection and Food Safety**. v14, n1, p.63-69, 2018.

COSTA, M. G. A. Caracterização genotípica de staphylococcus aureus e salmonella sp. isoladas de linguiça artesanal. Mossoró, RN:UFERSA,2020.55f. Dissertação (Mestrado em Produção Animal)- Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró.

CENTENO, J. A; CARBALLO. J. Current Advances in Cheese Microbiology. **Foods**. v.12, n.13, p. 25-77, 2023.

DAI, J., *et al.* Prevalence and Characterization of Staphylococcus aureus Isolated from Pasteurized Milk in China. **journal dairy science**. v. 10, p.1-10, 2019.

FOOLADI, A.A.I; TAVAKOLI, H. R; NADERI, A. Detection of enterotoxigenic Staphylococcus aureus isolates in domestic dairy products. **Iranian Journal of Microbiology**. v2, n3, p.137-142, 2010.

GALVÃO, T. F.; PANSANI, T.S.A; HARRAD, D. Principais itens para relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises: A recomendação PRISMA. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. v24, n2, p.335-342, 2015.

GRAN, H. M., *et al.* Occurrence of pathogenic bacteria in raw milk, cultured pasteurised milk and naturally soured milk produced at small-scale dairies in Zimbabwe. **Food Control**. v14, n8, p.539-544, 2003.

GRECELLE, C. B. Z., *et al.* Characterization of staphylococcus species isolated in production stages of brazilian colonial cheese. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v49, n1, p.1-10, 2020.

GUIMARAES, F. F., *et al.* Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase- positive staphylococci isolated from bovine milk. **Journal of Dairy Science**. v96, n5, p.2866-2872, 2013.

HASAN, K. W; TARANNUM, N; PARVEEN,S. Antimicrobial Drug Resistance of Escherichia coli and Staphylococcus aureus Isolated from Milk and Milk Based Beverages of Dhaka City, Bangladesh. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, v 15,n3, p. 1472-1479, 2021.

MANNANI N, ARIRI N, BITAR A. Microbiological and physicochemical quality of raw milk of Beni Mellal-Khenifra. **Rocz Panstw Zakl Hig**.v74, n3, p.265-274. doi: 10.32394/rpzh.2023.0267. PMID: 37577776, 2023.

MARIOTO. L. R.M., *et al.* Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicrotrófica, termodúrica e esporulada do leite cru. Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Ciênc. anim. bras**. v21, 2020.

MATOS, J. C. C. Estudo descritivo das análises de produtos lácteos avaliados Pelo órgão de fiscalização em minas gerais no período de 2011 a 2017. Belo Horizonte, BH:UFMG,2019.86f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Ciência Animal da Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais.

MILANEZE. H. S., *et al.* Microbiological, chemical, physical, and proteolytic activities of raw milk after thermal processing. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**. v70, n5, p.1625-1632, 2018.

MORANDI, S., *et al.* Detection of classical enterotoxins and identification of enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* from milk and dairy products. **Veterinary Microbiology**.v. 124, p.66-72, 2007.

NASCIMENTO. A .R., *et al.* Quantificação e identificação de *staphylococcus coagulase* positiva e negativa em leites cru e pasteurizado comercializados na cidade de são luís - MA. **Higiene Alimentar**, v30, n258, p.123-128, 2016.

PIRES, C. R. S. Sustentabilidade no sistema de produção de leite em pequenas propriedades rurais em Bragança – Pará. **Pubvet**. v12, n1, p.1-5, 2018.

RALL, V. L. M., *et al.* PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw and pasteurized milk. **Veterinary Microbiology**. v132, p.408-413, 2008.

RIOS-MUÑIS, D. *et al.*, Isolation of *Staphylococcus aureus*, Uropathogenic *Escherichia coli*, and Nontuberculous *Mycobacteria* Strains from Pasteurized Cheeses and Unpasteurized Cream Sold at Traditional Open Markets in Mexico City. **Journal of Food Protection**, v85, n12, p. 1848-1854,2022

SANTOS, E, D. *et al.* Bacterial communities in artisanal raw bovine milk cheeses from the southern region of Brazil. **Ciência rural**, v53,n9, p.1-9,2023.

SILVA,C.B.*et al.*Microbiological quality and cultivable bacterial community of fresh and ripened Minas cheeses made from raw and pasteurised milk. **International Dairy Journal**, v143, p. 105662, 2023.

VAHEDI, M., *et al.* Bacteriological study of raw and unexpired pasteurized cow's milk collected at the dairy farms and super markets in Sari city in 2011. **J Prev Med Hyg**. v54, n2, p.120-123, 2013.

ZHAO, G. P., *et al.* Effects of glycinin basic peptide on physicochemical characteristics and microbial inactivation of pasteurized milk. **Journal Of Dairy Science**. v99, n7, p.5064-5073, 2016.

ZHANG, Z. *et al.*, Preparation, Characterization, and *Staphylococcus aureus* Biofilm Elimination Effect of Baicalein-Loaded β -Cyclodextrin-Grafted Chitosan Nanoparticles. **Journal International Journal of Nanomedicine**, v17,p 5287–5302, 2022.

3. CAPÍTULO III - CONTAMINAÇÃO BACTERIANA ASSOCIADA À LEITE E QUEIJO DE COALHO ARTESANAL PRODUZIDOS NA REGIÃO DO SERIDÓ/RN

RESUMO

O queijo de coalho trata-se de um produto popular no Nordeste e é obtido a partir da adição de coalho químico no leite. Fatores determinantes como exigências e preferência por parte dos consumidores, levam os produtores a utilizar o leite cru para produzir os seus queijos, o que favorece a multiplicação de microrganismos patogênicos como *Staphylococcus*, *Enterobacterias* e *Salmonella*. O principal objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do leite utilizado pelas queijarias, e os seus respectivos queijos artesanais. O estudo foi dividido em duas partes, com espaçamento de tempo de seis meses. A aquisição das amostras deu-se a partir da parceria com o SENAR/RN em 14 queijarias, onde foram realizadas análises microbiológicas no laboratório LIPOA da UFERSA. Os resultados provindos da primeira análise de mesófilos nas amostras de leite, demonstraram que 57% (N=8) das amostras estavam com os valores de bactérias mesófilas acima do preconizado pela IN 76/2018. No entanto, as análises dos queijos fabricados pelos mesmos estabelecimentos que forneceram as amostras de leite, apresentaram 93% (N=13) de amostras de queijo com a presença de *Staphylococcus* acima do recomendado. 86% (N=12) das amostras estavam com valores excedentes para enterobactérias. Após a apuração dos resultados, os mesmos foram repassados aos produtores, juntamente com as orientações técnicas voltadas a corrigir as falhas existentes. Passado um período de seis meses foram realizadas novas coletas e análises. Neste momento, percebeu-se que o nível de contaminação tanto das amostras de leite, quanto de queijos, tiveram um aumento para todos os microrganismos, exeto para as enterobactérias que teve uma discreta melhoria de 3%. O microrganismo *Salmonella*, esteve ausente em toda a etapa do trabalho. Podendo concluir que os queijos artesanais produzidos na região do Serido/RN não obtiveram os resultados esperados no âmbito qualidade microbiológica, mesmo após a capacitação e acompanhamento técnico. O fator climático pode ter sido a razão para o aumento da contaminação microbiológica do leite e queijos. Contudo, este fator pode ser reduzido através da aplicação das BPF quando realizadas de maneira satisfatória.

Palavras chave: *Salmonella*. Enterobactérias. Mesófilos. *Staphylococcus aureus*. Boas Práticas de Fabricação.

ABSTRACT

Coalho cheese is a popular product in the Northeast and is obtained by adding chemical rennet to milk. Determining factors such as criteria and preference on the part of consumers lead producers to use raw milk in the production of their cheeses, which favors the multiplication of pathogenic microorganisms such as *Staphylococcus*, *Enterobacteria* and *Salmonella*. The main objective of this work was to evaluate the microbiological quality of the milk used by cheese dairies, and their respective artisanal cheeses. The study was divided into two parts, with an interval of six months. The samples were acquired through a partnership with SENAR/RN in 14 cheese factories, where microbiological analyzes were carried out in the LIPOA laboratory at UFERSA. The results provided by the first analysis of mesophiles in milk samples revealed that 57% (N=8) of the samples had mesophilic bacteria values above those recommended by IN 76/2018. However, analyzes of cheeses manufactured by the same establishments that provided the milk samples, obtained 93% (N=13) of cheese samples with the presence of *Staphylococcus* above the recommended level. 86% (N=12) of the samples showed excessive values for enterobacteria. After calculating the results, they were passed on to the producers, along with specific technical guidelines for correcting existing flaws. After a period of six months, new collections and analyzes were carried out. At this point, check whether the contamination level of the milk and cheese samples has increased for all microorganisms except for enterobacteria, which have seen a slight improvement of 3%. The *Salmonella* microorganism was absent throughout the entire stage of the work. It can be concluded that the artisanal cheeses produced in the Serido/RN region did not obtain the expected results in terms of microbiological quality, even after training and technical monitoring. The climatic factor may have been the reason for the increase in microbiological contamination of milk and cheese. However, this factor can be reduced through the application of GMP when carried out satisfactorily.

Keywords: *Salmonella*. *Enterobacteria*. Mesophiles. *Staphylococcus aureus*. Good Manufacturing Practices.

3.1 INTRODUÇÃO

O queijo de coalho artesanal na região do Nordeste, trata-se antes de tudo, de uma tradição entre pequenos produtores e os moradores desta região. A produção deste queijo é feita com a adição do coalho e/ou enzimas coagulantes com ou sem adição de culturas lácteas (Brasil, 2001). Por questões de segurança microbiológica e legais, a elaboração deste produto deve ser feita com o leite pasteurizado, uma vez que não passa pelo processo de maturação (Brasil, 2013). Porém, a grande maioria dos produtores fabricam este queijo com leite cru (Kamimura *et al.*, 2019).

A pasteurização do leite implica na eliminação das bactérias autóctones deste produto, onde por sua vez, as mesmas são responsáveis por conferir o tradicional sabor existente na maioria dos queijos produzidos com o leite cru. Porém, este fato pode ser compensado através da adição de culturas iniciadoras microbianas ao leite pasteurizado, além de inibir potenciais patógenos existentes (Gobbetti, Neviani, Fox., 2018; Carvalho *et al.*, 2019).

Pode-se encontrar na literatura científica, apontamentos sobre os riscos do consumo deste alimento. Uma vez que o mesmo pode ser contaminado por microrganismos considerados patogênicos como: *Staphylococcus*, enterobactérias e *Salmonella* capazes de provocar Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) manifestadas por meio de sintomas clínicos de gastroenterites em diferentes níveis, podendo levar o infectado a óbito, nos casos mais graves (Campos *et al.*, 2018; Campagnollo *et al.*, 2022).

No último informe brasileiro lançado pelo Ministério da Saúde juntamente com a Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, com dados dos anos de 2013 a 2022, os microrganismos patogênicos pertencentes a família das enterobactérias, como a *Escherichia Coli* e *Salmonella*, juntamente com os *Staphylococcus* ocuparam as três primeiras colocações em relação aos surtos de DTHA no Brasil, sendo *Escherichia Coli*, *Salmonella* e *Staphylococcus*, respectivamente (Brasil, 2023).

Portanto, o objetivo deste trabalho é pesquisar a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, enterobactérias e *Salmonella* em amostras de queijos artesanais, para verificar a qualidade sanitária destes produtos que são comumente postos a mesa do consumidor, além de avaliar a qualidade do leite utilizado na fabricação do queijo.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Aquisição das amostras de queijo de coalho

O trabalho foi desenvolvido em parceria com o programa SENAR/RN regido pela lei nº 8.315, de 23 de dezembro de 1991 (Brasil, 1991). O programa comprometeu-se em coletar e enviar as amostras até o Laboratório de Inspeção de Produtos de Origem Animal -LIPOA da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA.

As amostras foram coletadas pela equipe do SENAR, no próprio local de fabricação, onde foram porcionadas em sacos plásticos estéreis (amostras de queijo) e garrafas estéreis (amostras de leite). As embalagens contiam as seguintes descrições: Tipo de produto, data da coleta, quantidade, nome do estabelecimento, nome e CPF do responsável pela coleta. Após a sua identificação, as amostras foram acondicionadas em caixa térmica e enviadas em transporte próprio ao laboratório LIPOA - Mossoró/RN. Ao chegar no laboratório, as amostras foram recebidas e armazenadas em uma geladeira com temperatura controlada, até o momento da análise.

A primeira coleta ocorreu no mês de setembro do ano de 2022 e a segunda coleta seis meses depois, em março de 2023. Nesta última etapa do estudo, por motivos maiores, dois dos quatorze estabelecimentos, não puderam continuar participando da pesquisa, do mesmo modo o produtor que representa a amostra A5 não forneceu amostra de leite, apenas de queijo. Sendo assim, o número total de amostras entregues na primeira e segunda coleta, por estabelecimento, foi de 14 e 12 unidades de peças de queijos, e 14 e 11 garrafas de leite, com peso líquido de aproximadamente 500g e 500ml/cada, respectivamente.

3.2.2 Análises microbiológicas

As análises microbiológicas da primeira coleta aconteceram no dia 19 de setembro de 2022. E as análises da segunda etapa da coleta ocorreram no dia 13 de março de 2023. Os microrganismos analisados foram: Bactérias Mesófilas para amostras de leite, *Staphylococcus* coagulase positiva, enterobactérias e *Salmonella* para as amostras de queijos.

Sobre os padrões de procedimentos para a realização das análises, teve-se como referência a Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003 e o Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal elaborado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (Brasil, 2018b). A preparação das amostras para a

realização das análises microbiológicas, ocorreu de forma semelhante tanto para as amostras de queijos, quanto para as amostras de leite cru.

Em condições assépticas, fracionou-se 25g de cada amostra de queijo, e 25ml de cada amostra de leite. Após isto, as frações foram transferidas para sacos plásticos estéreis contendo 225 ml de água peptonada a 0,1%, onde seguiu-se da homogeneização destes fragmentos, até a diluição total do material. Realizou-se a sequência de diluições seriadas 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} seguindo com a inoculação em placas de Petrifilm da marca 3M® específicas para cada microorganismo. As aplicações das diluições foram realizadas em duplicatas, sendo duas placas para cada amostra e diluição, e encubadas a 37C° durante o período de 24h conforme orientações dadas pelo fabricante.

Os resultados foram organizados em formato de laudos e encaminhados a equipe do SENAR, que por sua vez estiveram responsáveis pela apresentação dos resultados aos produtores participantes, elaborar e aplicar atividades educativas cabíveis ao programa, direcionadas as Boas Práticas de Fabricação (BPF). Posterior, com espaçamento de seis meses, uma nova coleta com os mesmos estabelecimentos fora realizada com o intuito de aferir possíveis melhorias no quadro de contaminação dos produtos fornecidos por estes estabelecimentos.

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018 (Brasil, 2018a) e a Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019 (Brasil, 2019) foram utilizadas para referenciar os valores microbiológicos das amostras de leite, e amostras de queijos artesanais, respectivamente.

Durante a análise microbiológica das amostras de leite, investigou-se a presença das bactérias mesófilas, com o intuito de avaliar a qualidade microbiológica da matéria-prima utilizada pelas queijarias. Sendo assim, teve-se como tolerância o valor de 9×10^5 /ml UFC de mesófilos por amostra (Brasil, 2018). Do mesmo modo, as evidências de *Staphylococcus*, enterobactérias e *Salmonella* foram avaliadas nas amostras de queijos. Onde utilizou-se os parâmetros para *Staphylococcus* de 10^3 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), e ausência em 25g de produto, para *Salmonella* (Brasil, 2019).

No que trata aos valores de tolerância para as enterobactérias nas amostras de queijo, até o momento não há legislações vigentes que determinem um limite máximo UFC/g para este patógeno. Contudo, a presença dessas enterobactérias em alimentos lácteos está correlacionada diretamente a falhas na aplicação das boas práticas durante o processamento, sobretudo, a

utilização do leite não pasteurizado como matéria-prima, higiene pessoal escassa e utilização de água contaminada, pelas queijarias (Moratelli, 2021). Na tabela 8 estão apresentados os resultados da primeira análise microbiológica.

Tabela 8- Resultados da primeira análise microbiológica feita nas amostras de leite cru, e queijo coalho, providas da região do Seridó/RN, no mês de Setembro de 2022.

ESTABELECIMENTOS	AMOSTRAS DE LEITE (Mesófilos UFC/ml)	AMOSTRAS DE QUEIJOS DE COALHO		
		ESTAFILOCOCCUS COAG.POSITIVA UFC/g	ENTEROBACTERIAS UFC/g	SALMONELLA 25g
A1	>2,5x10 ⁵	5,0x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	Ausente
A2	>2,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	Ausente
A3	6,9x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	Ausente
A4	>2,5x10 ⁵	4,6x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	Ausente
A5	>2,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	1,2x10 ⁵	Ausente
A6	2,3x10 ³	2,3x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	Ausente
A7	1,2x10 ⁴	<10 ³	10 ³	Ausente
A8	>2,5x10 ⁵	2,0x10 ³	10 ³	Ausente
A9	>2,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	Ausente
A 10	>2,5x10 ⁵	2,1x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	Ausente
A 11	6,9x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	3,6x10 ⁴	Ausente
A12	>2,5x10 ⁵	1,2x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	Ausente
A 13	2,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	8,0x10 ³	Ausente
A 14	7,0x10 ⁴	>1,5x10 ⁵	>1,5x10 ⁵	Ausente
REFERÊNCIA	9x10 ⁵	10 ³	*5x10 ³ *	Ausente em 25g

*Não existe referências na legislação. Utilizou-se o parâmetro (Campos, 2019).
Resultados em negrito, valores acima da referência.

Os resultados providos da primeira análise microbiológica das amostras de leite, demonstraram que 57% (N=8) das amostras estavam com os valores de bactérias mesófilas acima do preconizado pela IN 76/2018 (Brasil, 2018a), o que leva a afirmar que seguramente apenas 6 (43%) amostras de leite estavam de acordo com a legislação. No que se refere as análises dos queijos fabricados pelos mesmos estabelecimentos que forneceram as amostras de leite, percebeu-se que 93% (N=13) das amostras de queijo, estavam com a presença de

Staphylococcus acima do recomendado. Apenas a amostra A7 apresentou resultado satisfatório para este microrganismo.

A detecção do *Staphylococcus* é dada por motivos multifatoriais, podendo ter como principais causas: matéria-prima não pasteurizada, móveis e utensílios mal higienizados, ambiente de processamento não sanitizado, manipuladores portadores assintomáticos de *Staphylococcus* e higiene pessoal inadequada. Estudos comprovam que este MOP pode sobreviver a ambientes hostis, o que promove a contaminação cruzada, podendo corromper a qualidade do produto final em qualquer etapa de sua produção, mesmo após a pasteurização da matéria-prima (Prates *et al.*, 2017; Alves *et al.*, 2018).

No que se refere as enterobactérias, constatou-se que 100% (N=14) das amostras apresentaram a presença deste grupo bacteriano. Contudo, a deficiência na padronização por parte da legislação atual no que se refere aos limites microbiológicos deste MOP em amostras de queijo, dificultaram na dimensão do nível de contaminação das amostras. No entanto, a IN nº 161/2022 (Brasil, 2022c) preconiza um limite de 10 UFC/g para enterobactérias em amostras de leite pasteurizados, levando em consideração que o queijo de coalho artesanal é um alimento fresco e a sua principal matéria-prima é o leite, entende-se que os valores para este microrganismo em amostras de queijo não podem exceder a 10 UFC/g.

Campos (2019) após um extenso estudo sobre a evolução das legislações voltadas aos parâmetros microbiológicos para queijos artesanais, e avaliar a presença de enterobactérias em suas amostras de queijo Minas, fabricadas na Serrada Canastra propôs um valor de $5,0 \times 10^3$ para quantidade máxima de enterobactérias em queijos artesanais fabricados a partir do leite cru. Portanto, ao utilizar os parâmetros recomendados pelo autor, evidenciou-se que 86% (N=12) das amostras estavam com valores excedentes.

A presença de *Salmonella* esteve inexistente em todas as amostras de queijo analisadas. Este patógeno quando identificado nos alimentos, gera danos imensuráveis, tanto a saúde do consumidor quanto prejuízos econômicos. O recall de todo o lote produzido e distribuídos aos consumidores é obrigatório, onde toda a cadeia produtiva do alimento contaminado, deverá responder de forma jurídica perante as autoridades sanitária e órgãos defensores dos consumidores. O que torna o produtor passivo de punições severas por infração sanitária, no descumprimento das disposições previstas na Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 655, de 24 de março de 2022 (Brasil, 2022b).

Levando em consideração as evidências encontradas nos resultados, foram elaboradas medidas de controle sanitário, as quais repassou-se para a equipe do SENAR que posteriormente transmitiram-as aos produtores, com o intuito de implantar e/ou reforçar as BPF aos

estabelecimentos participantes (Brasil, 2002). As orientações repassadas foram:

- Manter as instalações limpas e em bom estado de conservação;
- Higienizar os Equipamentos de Proteção Individual (EPI) como as botas e luvas com solução clorada antes, e após a sua utilização;
- Utilizar máscaras e toucas durante a fabricação e manipulação do queijo;
- Higienizar e manter limpos os móveis, utensílios, recipientes e baldes utilizados;
- Lavar de modo correto e frequente, as mãos principalmente após a utilização do banheiro, e em mudança de função;
- Manter os uniformes limpos e em bom estado de conservação;
- Manter as unhas limpas, aparadas e ausentes de esmaltes. Assim como a ausência de barba e adornos;
- Refrigerar o leite em temperatura a $< 5^{\circ}\text{C}$ imediatamente após a sua ordenha;
- Armazenar a matéria-prima em recipientes limpos, higienizados e condições que garantam a devida proteção contra agentes contaminantes externos;
- Utilizar apenas água providas de fontes confiáveis;
- Utilizar a tecnologia a vácuo para embalar os queijos;

Na tabela 9, estão expostos os resultados obtidos com a segunda análise microbiológica. Este espaçamento de tempo entre as coletas, foi dado de modo que pudesse garantir a aplicação e a adequação das BPF sugeridas para as queijarias.

Tabela 9 - Resultados da segunda análise microbiológica feita nas amostras de leite cru e queijo coalho. Provindas da região do Seridó/RN, no mês de Setembro de 2022.

ESTABELECIMENTOS	LEITE (Mesófilos UFC/ml)	AMOSTRAS DE QUEIJOS DE COALHO		
		ESTAFILOCOCCUS COAG.POSITIVA UFC/g	ENTEROBACTERIAS UFC/g	SALMONELLA 25g

A1	$>1,5 \times 10^6$	$>2,0 \times 10^8$	$>1,0 \times 10^7$	Ausente
A3	$>1,5 \times 10^6$	12×10^5	$9,5 \times 10^5$	Ausente
A4	$1,43 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	$6,5 \times 10^6$	Ausente
A5	NA*	$1,1 \times 10^6$	5×10^5	Ausente
A6	$8,3 \times 10^6$	0×10^5	0×10^5	Ausente
A7	0	$>1,7 \times 10^5$	9×10^5	Ausente
A8	$8,3 \times 10^5$	$>2,0 \times 10^6$	$>1,0 \times 10^7$	Ausente
A9	0	$>1,22 \times 10^6$	0	Ausente
A 10	$>1,5 \times 10^6$	$1,35 \times 10^5$	$>1,0 \times 10^7$	Ausente
A 11	$1,43 \times 10^7$	$2,5 \times 10^4$	0	Ausente
A12	$4,2 \times 10^6$	$1,2 \times 10^6$	1×10^5	Ausente
A13	$4,2 \times 10^6$	$>2,0 \times 10^6$	$0,5 \times 10^5$	Ausente
REFERÊNCIA	9×10^5	10^3	$*5 \times 10^3$	Ausente em 25g

*Não existe referências na legislação. Utilizou-se o parâmetro (CAMPOS, 2019).

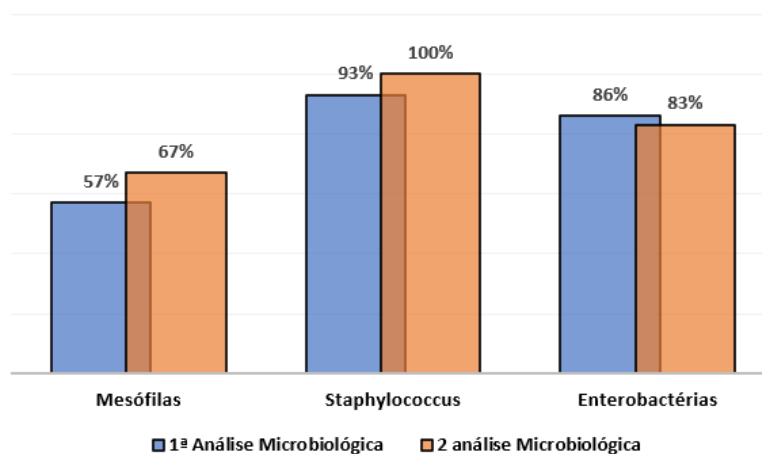
Resultados em negrito, valores acima da referência.

NA*= Não Analisado.

Contudo, as 11 (100%) amostras de leite cru avaliadas, 67% (N=8) destas, apresentaram valores para mesófilos acima do preconizado pela IN nº 76/2018.

Do mesmo modo ocorreu com os níveis de contaminação das amostras de queijo. Observou-se todas as amostras de queijo estavam acima do limite preconizado pela IN nº 60/2019, significando um aumento de 7% para a contaminação por *Staphylococcus*, quando comparado aos resultados da primeira análise. Os valores de enterobactérias nas amostras de queijos, acima do recomendado, migraram de 86% para 83% (N=10) indicando uma redução de 3% para este microrganismo. O gráfico 1 demonstra a diferença entre os resultados da primeira e segunda análise microbiológica:

GRÁFICO 1- Porcentagem de amostras com os níveis de contaminação acima do preconizado durante a primeira e segunda análise microbiológica.



A coleta das amostras para a segunda análise microbiológica, foi realizada durante o mês de março, período este em que a região do Seridó/RN é marcada por uma curta estação úmida e chuvosa, com características que intercalam em episódios com grande e pouco volume de chuva (Lucena; Júnior; Steinke, 2018). Deste modo, infere-se que o aumento do número de mesófilos presentes nas amostras de leite, e *Staphylococcus* presentes nas amostras de queijo, podem ter tido influências climáticas. Uma vez que em períodos mais quentes e chuvosos, ocorrem alterações tanto na temperatura, quanto na umidade relativa do ar, o que favorece o crescimento de bactérias patogênicas, e impactando diretamente na qualidade microbiológica do leite e seus derivados (Castro, 2019b).

A amostra de leite do estabelecimento A7 não apresentou contagens para mesófilos, porém apontou elevado valor para *Staphylococcus* e enterobactérias em sua amostra de queijo. Semelhantemente ocorreu com as amostras de leite e queijo do estabelecimento A8, onde apresentou valores aceitáveis de mesófilos no leite, porém elevada contagem de *Staphylococcus* e enterobactérias na amostra de queijo. Não foi exibido valores para mesófilos e enterobactérias nas amostras providas do estabelecimento A9, contudo, apresentou um valor ($>1,22 \times 10^6$) maior do que o obtido na primeira análise para o microrganismo *Staphylococcus*.

Nesta etapa, o estabelecimento A11 apontou o maior número ($1,43 \times 10^7$) de contaminação para mesófilos entre todas as amostras de leite analisadas. Segundo Castro (2019b) os queijos são facilmente contaminados por ser um alimento que possui diversas etapas de processamento em sua fabricação, fazendo-se necessário a constante manipulação. Contudo, não foi identificado a presença de enterobactérias em suas amostras de queijo. A implementação de condições de higiene rigorosas durante a ordenha, o armazenamento do leite em baixas temperaturas, e a utilização somente de água tratada são fatores determinantes para a prevenção das enterobactérias em queijos (Centeno e Carballo, 2023).

A ausência de mesófilos nas amostras de leite dos estabelecimentos A7 e A9 são resultados animadores e podem ser utilizados como indicadores de melhoria na qualidade microbiológica da matéria-prima utilizada por estas queijarias, após as orientações técnicas. Da mesma forma para as bactérias da família enterobactérias, pois observou-se que nesta segunda parte do trabalho, quando comparado aos resultados da primeira análise, houve uma redução de 3%, o que indica melhorias na aplicação das BPF, mais especificamente na higiene pessoal dos colaboradores e do local de fabricação dos queijos (Mladenović, *et al.*, 2021). Os resultados para o patógeno *Salmonella*, permaneceram negativos todas as amostras de queijo avaliadas.

Os resultados obtidos não indicaram melhorias no que tange a contaminação dos queijos por *Staphylococcus*, pelo contrário, as amostras de queijos avaliadas demonstraram ser

potencialmente capazes de ocasionar intoxicação alimentar estafilocócica, especialmente a amostra de queijo do estabelecimento A1 ($>2,0 \times 10^8$). Fator preocupante, pois quantidades acima de 10^5 UFC de *Staphylococcus* spp./g ou mL de alimento, quando em condições adequadas (temperatura, pH, atividade de água e O₂) produz toxinas durante o seu desenvolvimento e multiplicação, o que torna o alimento contaminado um risco a saúde do consumidor (Castro, 2019a).

A contaminação de alimentos lácteos torna-se persistente quando há contaminação cruzada por parte do leite cru e/ou manipulador. Neste caso, recomendações simples, imprescindíveis e eficazes como método de prevenção do *Staphylococcus* nestes estabelecimentos, seria a pasteurização do leite, assim como a correta e frequente lavagem das mãos, associada a utilização de máscaras e luvas adicionais (Castro, 2019b).

O número das bactérias mesófilas, enterobactérias e *Salmonella*, alinhado ao fato de que o manipulador é o principal vetor do *Staphylococcus* (Manhique, 2020) permite dizer que a contaminação dos queijos avaliados, podem estar associados à negligências na aplicação das boas práticas por parte dos manipuladores, sobretudo nos estabelecimentos (A7, A9 e A11) que obtiveram destaque ao demonstrar a ausência de indicadores importantes de higiene e qualidade do leite e a água utilizada pelos estabelecimentos durante o processamento, porém altas quantidades de *Staphylococcus*.

A resistência dos produtores na aceitação/adaptação das BPF, condições climáticas, contaminação da água utilizada durante os processamentos, armazenamento inadequado da matéria-prima e/ou recontaminação do produto final por falhas na manipulação, são fatores determinantes para a contaminação do queijo artesanal (Cândido *et al.*, 2020; Santos, *et al.*, 2023). O que enfatiza a necessidade do contínuo acompanhamento técnico nestes estabelecimentos (Marioto *et al.*, 2020).

A conscientização dos produtores sobre as finalidades das aplicações e o conhecimento das BPF, quando realizada em forma de capacitações técnicas e acompanhamentos contínuos, impacta diretamente na melhoria da qualidade dos queijos artesanais, pois contribui para a construção da confiança e credibilidade destes produtos para com os consumidores, além de cooperar com o retorno financeiro dos estabelecimentos (Xavier, 2022).

Através dos resultados encontrados no presente estudo, foi possível observar uma discreta melhoria na qualidade dos queijos artesanais analisados durante o tempo de pesquisa, divergentemente dos resultados obtidos por Firmo *et al.*, (2023) onde após avaliar a evolução da qualidade microbiológica de 1.390 amostras fiscais indicativas de queijos artesanais coletadas ao longo de 11 anos, não encontrou nenhuma evidencia de melhoria na qualidade

sanitária destes produtos, principalmente no que trata dos microrganismos indicadores e *Staphylococcus coagulase positiva*.

3.5 CONCLUSÃO

Conclui-se que os queijos artesanais produzidos na região do Serido/RN não obtiveram os resultados esperados no âmbito qualidade microbiológica, mesmo após a capacitação e acompanhamento técnico. O fator climático pode ter sido a razão para o aumento da contaminação microbiológica do leite e queijos. Contudo, este fator pode ser reduzido através da aplicação das BPF quando realizadas de maneira satisfatória.

REFERÊNCIAS

AGUIAR. F.R.M. D. Presença de *Staphylococcus aureus* resistentes à Meticilina (MRSA) em queijos de coalho produzidos no estado do Ceará e seu perfil de resistência e genes de virulência. Fortaleza/CE:UFC,2022. 149f.Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

AGUIAR.R.A.C. *et al.* Graduate Student Literature Review: Enterotoxigenic potential and antimicrobial resistance of staphylococci from Brazilian artisanal raw milk cheeses. *Journal of Dairy Science*. Florianópolis, v.105, n.7, p. 5685-5699, 2022.

ALVES.V.F. *et al.* Molecular characterisation of *Staphylococcus aureus* from some artisanal Brazilian dairies. **International Dairy Journal**. Goiânia, v.85, p.247-253,2018.

BERTANI.A.M.D.J. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *Salmonella* spp. e subtipagem molecular de plasmídeos carreando genes de beta-lactamases de espectro estendido e AmpC. São Paulo, SP:SES,2020.152f. Dissertação (Mestrado em ciência) - Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo.

BRASIL (1991). **LEI Nº 8.315, DE 23 DE DEZEMBRO DE 1991**. Dispõe sobre a criação do Serviço Nacional de Aprendizagem Rural (Senar) nos termos do art. 62 do Ato das Disposições Constitucionais Transitórias. Brasília,1991. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8315.htm>. Acesso em:29 de maio, 2023.

BRASIL (2001). **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 30, DE 26 DE JUNHO DE 2001**. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO. SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA. Brasília,2001. Disponível em:<<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-normativa-n%C2%B0-30-de-26-de-junho-de-2001.pdf>>. Acesso em: 15 de dezembro, 2022.

BRASIL (2002). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Aprova o Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Brasília,2002. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html>.

BRASIL (2003). **Instrução Normativa Nº 62, de 26 de agosto de 2003**. Brasília, 2003. Disponível em:<https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076> 2023.

BRASIL (2013). **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 30, DE 7 DE AGOSTO DE 2013**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2013. Disponível em:<<https://wp.ufpel.edu.br/inspleite/files/2016/03/Instru%C3%A7%C3%A3o-Normativa-N%C2%BA-30-de-7-de-agosto-de-2013-1.pdf>>. Acesso em: 09 de março, 2023.

BRASIL (2015) **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 16, DE 26 DE AGOSTO DE 2015**. Brasília, 2015. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/instrucao-normativa-n-16->>

de-26-de-agosto-de-2015-32422063>. Acesso em: 24 de nov, 2023.

BRASIL (2018a). **Instrução Normativa nº 76, de 26 de novembro de 2018**. Brasília, 2018. Disponível em: <https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/52750137/do1-2018-11-30-instrucao-normativa-n-76-de-26-de-novembro-de-2018-52749894IN%2076> . Acesso em: 24 de nov, 2023.

BRASIL (2018b). **Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, 2018. Disponível em: <https://alimentusconsultoria.com.br/wpcontent/uploads/2018/07/copy3_of_Manualdemtdosoficiaisparaanalisedealimentosdeorigemanimal1ed.rev_.pdf>. Acesso em: 09 de março, 2023.

BRASIL (2019). **LEI Nº 13.860, DE 18 DE JULHO DE 2019**. Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências. Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/web/dou/-/lei-n-13.860-de-18-de-julho-de-2019-198615138>>. Acesso em: 15 de dezembro, 2022.

BRASIL (2019). **Instrução Normativa Nº 60, de 23 de Dezembro de 2019**. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-n-60-de-23-de-dezembro-de-2019-235332356>>. Acesso em: 04 de janeiro, 2024.

BRASÍLIA. (2022). Regimento interno do SENAR, 29 de setembro de 2022. 1º OFÍCIO DE BRASÍLIA-DF. nº protocolo e registro: 171095. Registros de pessoa jurídicas. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/storage/arquivos/Regimento-Interno_2022.pdf>. Acesso em: 24 de nov, 2023.

BRASIL (2022a). **DECRETO Nº 11.099, DE 21 DE JUNHO DE 2022**. Regulamenta o art. 10-A da Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, para dispor sobre a elaboração e a comercialização de produtos alimentícios de origem animal produzidos de forma artesanal. Brasília, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/producao-animal/selo-arte-selo-queijo-artesanal/legislacao/decreto-no-11-099-de-21-de-junho-de-2022-decreto-no-11-099-de-21-de-junho-de-2022-dou-imprensa-nacional.pdf/view>>. Acesso em: 09 março, 2023.

BRASIL (2022c). **INSTRUÇÃO NORMATIVA - IN Nº 161, DE 1º DE JULHO DE 2022**. Estabelece os padrões microbiológicos dos alimentos. Brasília, 2022. Disponível em: <https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/IN_161_2022_.pdf/b08d70cb-add6-47e3-a5d3-fa317c2d54b2>. Acesso em: 07 dezembro, 2023.

BRASIL (2022b). **RESOLUÇÃO – RDC Nº 655, DE 24 DE MARÇO 2022**. Dispõe sobre o recolhimento de alimentos e sua comunicação à Anvisa e aos consumidores Brasília, 2022. Disponível em: <<https://in.gov.br/web/dou/-/resolucao-rdc-n-655-de-24-de-marco-de-2022-389582898>> 2023.

BRASIL (2023). **Surtos de Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar Informe – 2023**. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/publicacoes/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe>>

2023>. Acesso em: 28 setembro, 2023.

CAMPAGNOLLO.F.B. *et al.* Growth potential of three strains of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in Frescal and semi-hard artisanal Minas microcheeses: Impact of the addition of lactic acid bacteria with antimicrobial activity. *LHT-Food Science and technology*. Araras,v.158,p.1-8,2022.

CAMPOS. A.C.L.P. *et al.* Virulence Genes and Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* from Cheese Made from Unpasteurized Milk in Brazil. *Foodborne Pathogens and Disease*. Londrina,v.15,n1,p.94-100,2018.

CASTRO. R. D. Fatores de patogenicidade, perfil de resistência a antimicrobianos e diversidade clonal de *Staphylococcus aureus* isolados de leite cru, sorofermento, manipuladores e queijo Minas artesanal da região de Campo das Vertentes, Brasil. Belo Horizonte, MG: UFMG,2019a.127f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Tecnologia e Inspeção de Produtos de Origem Animal, Belo Horizonte.

CASTRO. M.T. Aspectos legais e produtivos, inocuidade e qualidade microbiológica do queijo minas artesanal produzido em propriedade rural de santa vitória-mg. Rio Verde, GO: IFE, 2019.142f. Dissertação (Tecnologia de Alimentos)- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, Rio Verde.

CAMPOS. G. Z. Avaliação microbiológica de queijos minas artesanais provenientes da Serra da Canastra durante e após o período de maturação. São Paulo,SP:USP, 2019.91f.Dissertação(Mestrado em ciência dos alimentos)- UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, São Paulo.

CÂNDIDO, T. J. S. *et al.* Enterotoxigenic potential and molecular typing of *Staphylococcus* sp. isolated from organic and conventional fresh Minas Cheese in the State of São Paulo, Brazil. *International Dairy Journal*. 2020.

CARVALHO.M.D.D.M. *et al.* Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk. **Journal of Dairy Science**. Florianópolis, v.102, n.11, p. 9711-9720,2019.

CENTENO. J.A; CARBALLO. J. Current Advances in Cheese **Microbiology**. *Foods.*, v.12, n.13, p. 25-77, 2023.

COSTA, M.G.A. Caracterização genotípica de *staphylococcus aureus* e *salmonella* sp. isoladas de linguiça artesanal. Mossoró, RN:UFERSA,2020.55f. Dissertação (Mestrado emProdução Animal)- Universidade Federal Rural do Semiárido, Mossoró.

DA SILVA, N. *et al.* **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água**. São Paulo: Editora Blucher, 2017.

DERAKHSHANI, H. *et al.* Composition and co-occurrence patterns of the microbiota of different niches of the bovine mammary gland: potential associations with mastitis susceptibility, udder inflammation, and teat-end hyperkeratosis. **Animal microbiome**, v.2, n.11, p.1-17, 2020. Acesso em: Jan. 03, 2021.

DITTMANN, K. K., *et al.* *Staphylococcus aureus* in some Brazilian dairy industries: changes of contamination and diversity. **Frontiers in Microbiology**, Goiânia, v.8, p.1-12, 2017.

DUBENCZUK. F.C. Análise Microbiológica da Qualidade do Leite e Avaliação de Medidas de Prevenção e Controle da Mastite Bovina em Unidades Leiteiras no Rio Grande do Sul. Seropédica, RJ:UFRRJ, 2019. Tese (Doutorado em Patobiologia Animal) Programa de PósGraduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Soropédica, 2019.

FIRMO. M. J.N *et al.* Diagnosis of the microbiological quality of fiscal artisanal Minas cheese samples. *Food Control*. 153, 109-887, 2023.

GHELLER. D. G. Queijo colonial do sudoeste do paraná: da produção aos desafios para a formalização. Pato Branco, PR: UTFP, 2022.89f. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento Regional) Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Regional da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2022.

LUCENA. R.L; JÚNIOR. J.B.C; STEINKE. E. T. Comportamento Hidro climatológico do Estado do Rio Grande do Norte e do Município de Caicó. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v. 33, n. 3, 485-496, 2018.

GOBBETTI. M; NEVIANI. E; FOX. P. **The Cheeses of Italy: Science and Technology**. Springer ,1 ed., Vol. 1, p.61 – 88, 2018 .

KAMIMURA, B. A. *et al.* Large-scale mapping of microbial diversity in artisanal Braziliancheeses. **Food Microbiology**,Campinas, v.80, p.40-49,2019.

MANHIQUE. G. A. Avaliação das condições higi nico-sanitárias e contaminação microbiológica de alimentos, manipuladores e utensílios utilizados na preparação de alimentos em mercados e nas ruas de Maputo, Moçambique. Porto Alegre, RS: UEM/FAEF,2020.152f. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre.

MARIOTO. L. R.M *et al.* Potencial deteriorante da microbiota mesófila, psicrotr fica, termod rica e esporulada do leite cru. Ciência e Tecnologia de Alimentos. **Ciênc. anim. bras.** 21, 2020.

MARTINELLI. L. Desafios e possibilidades na construção de uma cadeia de valor cultural na visão de especialistas. Pelotas, RS:UFP,2022. Dissertação (Mestado em Memória Social e Patrim nio Cultural) Programa de PósGraduação em Memória Social e Patrim nio Cultural do Instituto de Ciências Humanas, Pelotas, 2022.

MANNANI N, Ariri N, BITAR A. Microbiological and physicochemical quality of raw milk of Beni Mellal-Khenifra. **Rocz Panstw Zakl Hig.**v74, n3, p.265-274. doi: 10.32394/rpzh.2023.0267. PMID: 37577776, 2023.

MARTINELLI. L; DOS ANJOS.F.S. (2023). Valorização dos queijos artesanais brasileiros: Aplicabilidade de três sinais distintivos de qualidade para o queijo coalho a partir da visão de especialistas. *Rev. Memória em Rede*, Pelotas, v.15, n.28, Jan/Jun 2023 –ISSN-2177-4129.Disponível em: <<http://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/Memoria>>. Acesso em: 24 de nov, 2023.

MLADENOVIC.K.G. *et al.* Enterobacteriaceae in food safety with an emphasis on raw milkand meat. **Appl Microbiol Biotechnol**. Kragujevac,v.105,n.23,p. 8615-8627,2021.

METZ, M.; SHEEHAN, J.; FENG, P. C. H. Use of indicator bacteria for monitoring sanitary quality of raw milk cheeses – A literature review. **Food Microbiology**. v85, p. 103-283, fev. 2020.

MORATELLI. J. Avaliação microbiológica de queijos artesanais produzidos e comercializados informalmente em Concórdia -SC. Pelotas, RS:FAEM,2021.61f. Dissertação(Mestrado Profissional em Ciência e Tecnologia de Alimentos) -Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Pelotas.

OLIVEIRA. F.I.P *et al.* Ocorrência de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo coalho. **Cadernos ESP**, Ceará, v.13, n.2, jul/dez 2019.

OMS (Organização Mundial da Saúde), 2017. OMS publica lista de bactérias para as quais novos antibióticos são urgentemente necessários.

Disponível em: <<https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>>. Acessado em 29 de maio 2023.

OSAILI.T.M. *et al.* Decontamination and survival of Enterobacteriaceae on shredded iceberg lettuce during storage. **Microbiologia Alimentar**. Irbid,v.73,p.129-136,2018.

PRATES. D.D.F. *et al.* Microbiological quality and safety assessment in the production of moderate and high humidity cheeses. **Ciência rural**. Pelotas, v.47, n11, p.1-6,2017.

ROLDAN. B. B. A construção da qualidade de queijos artesanais a partir da Teoria das Convenções. Porto Alegre, RS. UFRGS,2019. 159f.Tese (Agronegócios)- programa de pós-graduação em Agronegócios, Porto Alegre.

SANTOS, E.D. *et al.* Bacterial communities in artisanal raw bovine milk cheeses from the southern region of Brazil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 53, n 9, p.1-9, 2023.

SARAIWA. L. K.V. Caracterização do sistema de produção do queijo artesanal da Serra Geral – MG. Montes Claros, MG:UFMG, 2018. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) Produção Animal Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2018.

SILVA. C. B. Qualidade microbiológica e estudo da comunidade bacteriana cultivável de queijos frescos e maturados produzidos a partir de leite pasteurizado e leite cru. Niterói, RJ:UFF,2020. 134f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação para Ciências Aplicadas para Produtos de Saúde) – Faculdade de Farmácia da Universidade Federal Fluminense, Niterói.

SOARES, E.K.B. *et al.* What are the cultural effects on consumers' perceptions? A case study covering coalho cheese in the Brazilian northeast and southeast area using word association. **Food Microbiology**, Rio de Janeiro,v.102,p.553-558, 2017.

SORIA-HERRERA.R.J. *et al.* Occurrence of Nontuberculous Mycobacteria, Salmonella, Listeria monocytogenes, and Staphylococcus aureus in Artisanal Unpasteurized Cheeses in the State of Michoacan, Mexico. **Journal of Food Protection**. Mexico, v84, n5, p.760- 766, 2021.

XAVIER, C.C.S. Influência da aplicação de boas práticas de ordenha e boas práticas de fabricação aliadas a diferentes tempos de maturação na qualidade microbiológica de queijo artesanal serrano. Porto Alegre, RS:UFRGS, 2022.67f. Dissertação (Pós- graduação em Alimentos de Origem Animal) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.