

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Marcielli Silva Almeida

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE FARINHAS  
COMERCIALIZADAS A GRANEL NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro

2023

Marcielli Silva Almeida

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE FARINHAS  
COMERCIALIZADAS A GRANEL NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Silvia Maria dos Reis Lopes  
Preceptora: Nathalia G. Santos Caldeira

Rio de Janeiro  
2023

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Almeida, Marcielli Silva

Análise Microbiológica de Farinhas Comercializadas a Granel no Estado do Rio de Janeiro. / Marcielli Silva Almeida. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2023.

34 f. : il. ; fig. ; graf.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2023.

Tutora: Silvia Maria dos Reis Lopes.

Preceptora: Nathalia G. Santos Caldeira.

1. Farinha. 2. Enterobacteriaceae. 3. Bacillus cereus. I. Título.

Microbiological Analysis of Flour Marketed in Bulk in the State of Rio de Janeiro.

Marcielli Silva Almeida

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE FARINHAS  
COMERCIALIZADAS A GRANEL NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de PósGraduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do Certificado de conclusão do Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Aprovado em: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_.

BANCA EXAMINADORA

Dr. Ivano Raffaele Victorio de Filippis Capasso  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Me. Rodrigo Domingos Overa Tavares  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dr. Marcelo Luiz Lima Brandão  
Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos

Dr. Silvia Maria dos Reis Lopes – (Tutor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Me. Nathalia Gonçalves Santos Caldeira – (Preceptor)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

## AGRADECIMENTO

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha mãe, Marcia que durante toda a vida não mediu esforços para me oferecer toda a educação necessária para que eu chegasse até aqui, permitindo que eu realizasse muitos sonhos.

Ao meu pai, Elio, em memória, o qual me ensinou a forma mais bonita de amar as pessoas e a vida e, mesmo não estando presente em muitas das minhas realizações, estará sempre em meu coração.

Aos meus filhos caninos, Enzo e Sol que me enchem de amor no dia a dia.

À todos meus tios e primos por todo apoio, amor e força durante essa caminhada.

Ao meu companheiro de vida, Rafael, por todo amor e carinho e por contornar todos os obstáculos comigo até aqui e tornar sempre uma dificuldade em um simples passo da vida.

Às minhas amigas, Cintia, Anna Paula, Cecília, Carolina e Yasmim, as quais estiveram comigo em todos os momentos com muito amor e carinho, mesmo na correria do dia a dia.

Aos amigos incríveis que o INCQS e a IFRJ me presentearam, Katarine, Rodrigo, Jéssica, Cláudia, Hugo, Ricardo, Larissa, Felipe, Kaísa e Julianna, sem a amizade e o carinho de vocês essa trajetória não teria sido tão maravilhosa e leve, obrigada por cada momento.

À minha orientadora, Silvia Maria dos Reis Lopes que tanto me ensinou e contribuiu para meu crescimento não somente profissional, como pessoal.

À minha preceptora Nathalia Gonçalves por todo apoio e por ter me feito professora por um dia, nunca irei esquecer.

Ao Marcelo Brandão, por cada ideia nova e criativa e, principalmente, por me ensinar a sonhar mais alto e realizar experimentos inéditos para mim.

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS - que me proporcionou experiências incríveis e necessárias para o mercado de trabalho, baseada em evidência científica, além de uma visão ampliada da regulação no nosso país.

À Fundação Oswaldo Cruz, por me dar a oportunidade de trabalhar em uma instituição de tamanha excelência e reconhecimento mundial, que prova dia após dia o seu valor para a sociedade.

Todos vocês me ensinaram e contribuíram para mais um passo da minha carreira. Foi um imenso prazer poder aprender e trabalhar com vocês. Obrigada por todo carinho, apoio e ensinamentos durante esse período.

A cada um de vocês serei eternamente grata. Muito obrigada.

## RESUMO

As farinhas, comumente comercializadas a granel, são alimentos funcionais que costumam estar associados a dietas de pessoas que procuram uma alimentação mais saudável e equilibrada. Porém, a falta de higienização, má manipulação e armazenamento incorreto destas, predispõe a contaminação por agentes etiológicos distintos, podendo apresentar uma carga microbiana fora dos padrões preconizados pela legislação. O objetivo deste trabalho é apresentar resultados de análises microbiológicas de farinhas comercializadas a granel no Estado do Rio de Janeiro. Foram analisadas 30 amostras de farinhas no período de 12 de Julho a 03 de Setembro de 2022, onde foi realizada as seguintes análises: pesquisa de *Salmonella* spp. e Enumeração de *Escherichia coli* conforme os procedimentos descritos na *Bacteriological Analytical Manual* (BAM, 2011); e Contagem e Identificação presuntiva de *Bacillus cereus* conforme os procedimentos descritos pela *International Standards Organization* (ISO, 2006). Estes microrganismos são considerados responsáveis por doenças de origem alimentar do trato gastrointestinal. *Salmonella* spp. se apresenta como um bacilo Gram-negativo, anaeróbio facultativo e não forma esporos. Além de produzir gás a partir da glicose, podem sintetizar o citrato como única fonte de carbono. *Escherichia coli* pertence à família Enterobacteriaceae, é um bastonete Gram-negativo, anaeróbio facultativo e fermentador de lactose, com produção de gás. *Bacillus cereus* apresenta-se como um bastonete formador de esporos, aeróbio facultativo e Gram-positivo. Ressalta-se então, a importância de se identificar os pontos do ambiente que possam representar fontes de contaminação, de forma a orientar medidas de controle do patógeno, em particular nos processos de higienização e prevenção da contaminação cruzada.

Palavras-Chave: Farinha. Enterobactérias. *Bacillus Cereus*.

## ABSTRACT

Flours, commonly sold in bulk, are functional foods that are usually associated with the diets of people looking for a healthier and more balanced diet. However, the lack of hygiene, poor handling and incorrect storage of these, predisposes to contamination by different etiological agents, and may present a microbial load outside the standards recommended by legislation. The objective of this work is to present results of microbiological analyzes of flour sold in bulk in the State of Rio de Janeiro. 30 flour samples were analyzed in the period from July 12 to September 3, 2022, where the following analyzes were carried out: Salmonella spp. and Enumeration of Escherichia coli according to the procedures described in the Bacteriological Analytical Manual (BAM, 2011); and Counting and Presumptive Identification of Bacillus cereus according to the procedures described by the International Standards Organization (ISO, 2006). These microorganisms are considered responsible for foodborne illnesses of the gastrointestinal tract. Salmonella spp. it appears as a Gram-negative, facultatively anaerobic bacillus and does not form spores. In addition to producing gas from glucose, they can synthesize citrate as their sole carbon source. Escherichia coli belongs to the Enterobacteriaceae family, is a Gram-negative rod, facultative anaerobe and lactose fermenter, with gas production. Bacillus cereus is a spore-forming rod, facultative aerobic and Gram-positive. It is therefore important to identify the points in the environment that may represent sources of contamination, in order to guide measures to control the pathogen, particularly in the processes of hygiene and prevention of cross-contamination.

Keywords: Flour. Enterobacteria. Bacillus Cereus.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Meio Rappaport – Vassiliadis e Caldo Tetracionato.....	22
Figura 2 - <i>Bacillus cereus</i> em ágar MYP.....	24
Figura 3 - Método de Coloração de Gram apresentando bacilos gram positivos, colônia característica de <i>B. cereus</i> .....	25
Figura 4 - <i>Bacillus cereus</i> em ágar Sangue de carneiro 5%.....	25
Figura 5 - Caldo LST com presença de gás no tubo de Durham.....	27
Figura 6 - Caldo EC-MUG em fluorescência sob luz UV.....	27



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Porcentagem de amostras para pesquisa de <i>Salmonella</i> spp fora dos padrões preconizados pela legislação.....	28
Gráfico 2 – Porcentagem de amostras para pesquisa de <i>Bacillus cereus</i> fora dos padrões preconizados pela legislação.....	28

## LISTA DE SIGLAS

<b>ANVISA</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>Aw</b>	Atividade de Água
<b>DTHA</b>	Doenças de Transmissão Hídrica Alimentar
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
<b>EPEC</b>	Escherichia Coli Enteropatogênica
<b>ETEC</b>	Escherichia coli Enterotoxigênica
<b>EHEC</b>	Escherichia coli Enterohemorrágica
<b>IOC/FIOCRUZ</b>	Instituto Osvaldo Cruz
<b>LABENT</b>	Laboratório de Enterobacterias
<b>HBL</b>	Hemolisina BL
<b>MYP</b>	Ágar Manitol Gema de Ovo com Polimixina
<b>NHE</b>	Enteroxinas não hemolíticas
<b>NMP</b>	Número mais provável
<b>pH</b>	Potencial Hidrogênico
<b>PCR</b>	Proteína C Reativa
<b>RDC</b>	Resolução da Diretoria Colegiada
<b>SNVS</b>	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
<b>SUS</b>	Sistema Único de Saúde

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Vigilância Sanitária .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2 Segurança Alimentar.....</b>	<b>12</b>
<b>1.3 Controle sanitário de alimentos: legislação no Brasil .....</b>	<b>15</b>
<b>1.4 Doença de Transmissão Hídrica e Alimentar .....</b>	<b>14</b>
1.4.1 <i>Salmonella</i> spp.....	16
1.4.2 <i>Escherichia coli</i> .....	16
1.4.3 <i>Bacillus cereus</i> .....	16
<b>1.5 Justificativa .....</b>	<b>19</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Objetivo geral.....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>19</b>
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
<b>3.1 Pesquisa de Salmonella.....</b>	<b>21</b>
3.1.1 Pré - enriquecimento.....	21
3.1.2 Enriquecimento Seletivo .....	21
3.1.3 Isolamento .....	22
3.1.4 Leitura e Seleção das colônias.....	22
3.1.5 Triagem bioquímica.....	22
3.1.6 Sorologia polivalente.....	23
<b>3.2 Contagem e identificação presuntiva de <i>bacillus cereus</i> .....</b>	<b>23</b>
3.2.1 Preparo do homogenato .....	23
3.2.2 Preparo das diluições .....	23
3.2.3 Plaqueamento .....	24
3.2.4 Contagem e Seleção das colônias .....	24
3.2.5 Ensaio presuntivo para identificação de <i>Bacillus cereus</i> .....	24
3.2.6 Prova de Atividade Hemolítica.....	25
<b>3.3 Enumeração de <i>Escherichia coli</i> .....</b>	<b>26</b>
3.3.1 Preparo do homogenato e das diluições .....	26
3.3.2 Ensaio presuntivo para e.coli.....	26
3.3.3 Leitura dos tubos .....	26
3.3.4 Ensaio confirmatório para E.coli .....	26

<b>4 RESULTADO E DISCUSSÃO.....</b>	<b>28</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>30</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>31</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Vigilância Sanitária

A Vigilância Sanitária (Visa), além de ser um tema altamente relevante na agenda governamental, nos últimos anos emergiu como um setor prioritário e crucial nas políticas públicas, para a promoção e proteção à saúde, no processo de consolidação do Sistema Único de Saúde (SUS), e em cumprimento à Constituição Federal de 1988. É vital evidenciar o trabalho que vem sendo desenvolvido, em âmbito nacional, em Visa, pois tornou o Brasil referência em regulação sanitária e econômica na América Latina, visto que sua atuação relacionada à saúde representa 25% do Produto Interno Bruto do país, mostrando com isso sua importância no cenário nacional (ARAGÃO, 2022).

Para o Brasil, a principal característica da vigilância em saúde é a indispensabilidade do trabalho associado à vigilância epidemiológica, vigilância sanitária, vigilância ambiental, assistência em saúde, defesa e inspeção agropecuária, laboratório e outras áreas e instituições que em parceria podem controlar e prevenir os casos e surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTA), dentre as instituições associadas, se encontra o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS (BRASIL, 2019).

O INCQS, é a unidade que desempenha suas atividades como referência nacional na área do controle de qualidade de produtos ofertados à população, atendendo assim às demandas do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) nos assuntos referentes à vigilância sanitária. Atua na emissão de pareceres ou normas, avaliação de processos de registro de produtos e participação em comitês e comissões de políticas voltadas para a qualidade dos produtos. Também oferece suporte a demanda por análises de monitoramento vinculadas a programas específicos do SNVS, principalmente nas áreas de controle de qualidade de alimentos, análises de controle de sangue e hemoderivados e análises prévias de kits diagnósticos (LEAL, 2017).

O consumo de qualquer alimento tem a ver com aparência, cheiro, textura e o gosto é o principal, incluindo características internas que sinalizam segurança química, física e microbiológica, que sinaliza se o produto é próprio para consumo ou não. Sob esse ponto de vista, pode-se dizer que os perigos químicos, físicos e microbiológicos são as principais formas de contaminação dos alimentos. Nesse sentido, determinar a origem das doenças trazidas por alimentos é complexo. Pode estar relacionada a diversos fatores à cadeia epidemiológica das doenças transmissíveis envolvendo a tríade: patógenos, ambiente e hospedeiros suscetíveis.

Atualmente, é comum a disseminação de doenças infecciosas por meio da alimentação, o que em determinadas situações pode ser muito grave para muitas pessoas no Brasil e no mundo (SILVA, 2013).

## 1.2 Segurança Alimentar

A segurança alimentar é uma preocupação de todos os profissionais de saúde pública, pois as Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar (DTHA) são causadas pela ingestão de alimentos ou água contaminados.

As farinhas, comumente comercializadas a granel, são alimentos funcionais que costumam estar associados a dietas de pessoas que procuram uma alimentação mais saudável e equilibrada. Porém, a falta de higiene, má manipulação e armazenamento incorreto destas, predispõe a contaminação por agentes etiológicos distintos, podendo apresentar uma carga microbiana fora dos padrões preconizados pela legislação e causar doenças transmitidas por alimentos (DTA) na população (CHISTÉ, 2007).

Atualmente, há muita preocupação com a segurança alimentar, que determina se o alimento é seguro ou livre de riscos à saúde. Essas preocupações são baseadas em resultados de estudos que têm mostrado baixa adesão aos serviços de alimentação e uso de boas práticas em unidades de alimentação no Brasil, além das grandes dificuldades encontradas pelos estabelecimentos na implementação e acompanhamento do planejamento (OLIVEIRA *et al.*, 2017).

O desconhecimento da obrigatoriedade de aplicação das boas práticas expostas pelos fornecedores de alimentos é injustificado, pois existe uma grande quantidade de legislação sobre esses métodos no Brasil e essas informações estão amplamente disponíveis. Fica claro que há necessidade de maior controle e mais incentivo para programas de prevenção, como a distribuição de materiais educativos aos assalariados (NEVES, 2016).

A importância da segurança alimentar nos países desenvolvidos ganhou expressão nas últimas décadas. Segundo a Organização Mundial da Saúde o número de doenças relacionadas à alimentação vem aumentando a cada dia em todo o mundo (SILVA, 2014).

No Brasil, os órgãos reguladores definem critérios de higiene e boas práticas operacionais para alimentos, destacando-se as decisões do Ministério da Saúde (MS), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A RDC n. Nº 275 de 21 de outubro de 2002 designa o cenário básico necessário para a elaboração de um checklist de procedimentos operacionais padronizados (POP) e boas práticas de fabricação (BPF); a RDC nº 216 de 15 de

setembro de 2004, que define os procedimentos de Boas Práticas para serviços de alimentação, garantindo a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos e o cumprimento das normas sanitárias (BRASIL, 2004).

Um guia de boas práticas é um documento que descreve o trabalho realizado em uma organização e a forma correta de realizá-lo. Nele você encontra informações gerais sobre como é feita a limpeza, controle de pragas, água a utilizar, procedimentos de controle de higiene e saúde dos funcionários, treinamento dos funcionários, o que fazer com o lixo e como garantir a produção de alimentos seguros e saudáveis (BRASIL, 1997).

A alimentação influi diretamente na qualidade de vida, pois está relacionada à manutenção, prevenção ou restauração da saúde. A alimentação deve ser saudável, completa, variada, saborosa e segura, do ponto de vista higiênico-sanitário, para cumprir convenientemente sua função. Um alimento seguro e inofensivo é aquele que é livre ou contém níveis admissíveis de contaminantes de origem biológica, química ou física e, portanto, não é capaz de causar riscos ou danos à saúde do consumidor (SANTOS, 2018).

Assim, a segurança alimentar está associada à impossibilidade de atuar como veículo de transmissão de potenciais perigos de doenças trazidas por alimentos (DTHA). A segurança alimentar deve ser confirmada por uma combinação de medidas reguladoras, fiscalizadoras e educacionais no controle integrado e efetivo de todas as etapas da cadeia produtiva de alimentos (GERMANOVA, 2019).

A segurança alimentar é um elemento que, na abordagem de responsabilidade compartilhada, deve ser respeitada por todas as partes interessadas – governo, produtores primários, indústria, comércio, prestadores de serviços de alimentação e consumidores – levando em consideração as consequências prejudiciais para o consumidor além dos prejuízos econômicos à saúde pública e às empresas também estão expostas as perdas de clientes devido à concorrência mais qualificada (CINTRÃO, 2017).

Cabe ao governo atuar fiscalizando a qualidade dos produtos e serviços e intervindo, por meio de regulamentos técnicos ou ações fiscais, com o objetivo de resguardar a saúde pública e fornecer alimentos seguros. A indústria e o comércio de alimentos são responsáveis por fornecer processos e tecnologia adequados, garantir qualidade e controle no processamento de alimentos, malhar profissionais, garantir a confiabilidade das informações sobre alimentos e promover a educação do consumidor. O serviço de alimentação é responsável pelo controle de qualidade na produção de várias dimensões dos alimentos como sanitária, higiênica, nutritiva e sensorial (FIORESE *et al.*, 2014).

### 1.3 Controle sanitário de alimentos: legislação no Brasil

A saúde pública dispõe de diferentes ferramentas para controlar e prevenir as doenças transmitidas por alimentos, que se complementam acompanhando os alimentos ao longo da cadeia produtiva, do produtor ao consumidor. O controle sanitário dos alimentos no Brasil remonta ao período colonial, quando as câmaras municipais controlavam os alimentos com base apenas em critérios sensoriais, como contaminação ou mau cheiro (FIGUEIREDO; RECINE; MONTEIRO, 2017).

Após a década de 1930, o avanço da industrialização favoreceu a aprovação do primeiro código de controle de qualidade no setor alimentício, a codificação das águas minerais, instituído pelo Decreto-Lei nº 7.841, de 8 de agosto de 1945, e a lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, que torna obrigatório o controle prévio de produtos de origem animal e o registro de estabelecimentos industriais de produtos alimentícios (DE OLIVEIRA, 2017).

Entre as várias normas estabelecidas no país sob a influência do *Codex Alimentarius* que é uma coletânea de padrões reconhecidos internacionalmente, códigos de conduta, orientações acerca dos alimentos, produção de alimentos e segurança alimentar. É possível citar algumas regulamentações no setor de alimentos e outras medidas como a delegação Nacional de normas alimentares. A lei de nº 1.283 de 18 de Dezembro 1950, em seu artigo 1º dessa legislação estabelece:

Art. 1.º É estabelecida a obrigatoriedade da prévia fiscalização, sob o ponto de vista industrial e sanitário, de todos os produtos de origem animal, comestíveis e não comestíveis, sejam adicionados ou não de produtos vegetais, preparados, transformados, manipulados, recebidos, acondicionados, depositados e em trânsito. (BRASIL, 1950).

O Decreto Legislativo nº 986, de 21 de outubro de 1969 – Estabelece normas básicas para alimentação. O artigo 28 do capítulo V estabelece que deve ser aprovado um padrão de identidade e qualidade para cada tipo ou espécie de alimento. A Lei nº 1 6.437, de 20 de agosto de 1977 define as infrações às leis sanitárias federais, estabelece as penalidades cabíveis e dá outras providências (BRASILIA, 1977).

Ao longo dos anos, os governos estabeleceram várias leis, padrões e diretrizes federais, estaduais e locais para a indústria e o serviço de alimentação. Essa necessidade de padronizar as boas práticas das empresas agroalimentares se deve ao fato de que o governo deve zelar pela



saúde da população uma vez que o consumidor por si só, não tem condições de avaliar os atributos higiênicos de cada estabelecimento (WINGERT, 2012).

Assim, compete ao governo fiscalizar e promover a implementação de normas sanitárias, garantir que os alimentos sejam próprios para consumo humano, manter a confiança nos alimentos sujeitos ao comércio internacional e realizar programas de educação sanitária que permitam a transmissão efetiva dos princípios da higiene alimentar às manufaturas e consumidores (TANCREDI; MARINS).

No Brasil, a agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) é responsável pela coordenação, supervisão e controle das atividades relacionadas ao registro informação, controle, gerenciamento de riscos e estabelecimento de normas e padrões, promovendo a correta organização dos procedimentos técnicos e administrativos, prestação de medidas de vigilância sanitária de alimentos, bebidas, água engarrafada, insumos, embalagens, aditivos alimentares e suporte tecnológico, poluentes e resíduos de medicamentos veterinários (BRASIL, 2006).

Nesse contexto, a legislação alimentar brasileira visa defender e proteger a saúde individual e coletivamente, de forma a atuar sobre os fatores que causam, regulam e determinam o processo saúde-doença, buscando proporcionar o melhor estado de saúde aos cidadãos (MORAES et al., 2005). Com as leis de sanidade alimentar, a proteção e defesa do consumidor foram legalmente normatizadas à luz da responsabilidade das empresas pelos alimentos que proveem, e obrigatoriedade da adoção de requisitos técnicos e procedimentos operacionais padronizados (POP) As Boas Práticas (BP) foram obrigatórias.

Segundo a Instrução Normativa N° 161, de 1° de Julho de 2022 os padrões microbiológicos permitidos para farinhas são: *Salmonella* spp.: ausência em 25g; *Escherichia coli*/g:  $10^2$  NMP/g; *Bacillus cereus* presuntivo/g:  $10^3$  UFC/g (BRASIL, 2022).

#### **1.4 Doenças de Transmissão Hídrica e Alimentar**

As DTHA são potencialmente nocivas e adquiridas pela ingestão de água ou alimentos contaminados, se apresentam mais comumente com sintomas gastrointestinais (náuseas, vômitos, dor abdominal e diarreia). A intensidade dos sintomas clínicos individuais varia dependendo do patógeno, da dose infectante e da resistência do indivíduo (SIRTOLLI; COMARELLA, 2018).

A ocorrência de DTHA é influenciada por vários fatores, incluindo mudanças ambientais, industrialização, mudanças de hábitos, urbanização, estilo de vida, comércio internacional, alongamento da cadeia alimentar, conhecimento, atitudes e comportamento dos

manipuladores de alimentos, profissionais ou domésticos, e informações do mesmo do consumidor. A contaminação dos alimentos pode causar surtos que são definidos por um evento em que duas ou mais pessoas apresentam sinais e sintomas semelhantes, após o consumo de alimentos da mesma origem (SORAGNI *et al.*, 2019).

As DTHA são consideradas problema de saúde pública que afetam países desenvolvidos e em desenvolvimento. No Brasil, foram registrados 12.503 surtos de DTHA entre 2000 a 2017 e 182 óbitos, segundo a Secretaria de Vigilância em Saúde (BRASIL, 2018).

De acordo com a Portaria nº 2.472 (SVS / MS) de 31 de agosto de 2010, todos os surtos de DTA devem ser comunicados às autoridades sanitárias locais e investigados imediatamente. A unidade de saúde notificante deve utilizar a ficha de notificação / inquérito do SINAN, que deve ser submetida para processamento conforme processo definido pela secretaria Municipal de Saúde (BRASIL, 2010).

No entanto, a maioria dos casos de DTA são subnotificados, porque muitos patógenos presentes nos alimentos causam sintomas leves. Isso significa que a pessoa afetada não consultará um médico. Os sintomas comuns incluem dor abdominal, náuseas, vômitos, diarreia e febre. Porém, dependendo do agente etiológico envolvido, o quadro clínico pode ser extremamente grave, com desidratação severa, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (FERREIRA, 2021).

Os agentes físicos podem ocorrer devido à presença de metais, lascas de madeira, areia, cabelos e objetos diversos aplicados no manuseio ou acessórios por funcionários que não praticam as Boas Práticas de Fabricação (BPF) (MACHADO, 2013).

A expansão do mercado consumidor e a globalização econômica, o aumento do consumo de produtos industrializados, e as mudanças nos hábitos alimentares modificaram o perfil epidemiológico das doenças trazidas por alimentos. Mas essas doenças continuam sendo uma das principais causas de doenças em muitos países (BERNARDES *et al.*, 2018).

A subnotificação de casos de intoxicação ainda é muito comum, principalmente porque na maioria das vezes a comida não tem gosto, cheiro ou aparência diferente do normal e os sintomas costumam ser leves, obrigando as pessoas a procurar ajuda quando se agravam. Quando há demanda por atendimento médico, a maioria dos casos de DTHA passa despercebida (BARRETO; SILVA, 2013).

Quando um surto é relatado, alguns órgãos, como a ANVISA, devem ser notificados para que ações específicas possam ser tomadas, como coletar informações básicas para controlar o surto diagnosticar a doença e identificar a etiologia. o agente e a provável fonte de

contaminação. Os principais agentes biológicos são vírus, protozoários, bactérias, parasitas, fungos e toxinas microbianas (DA CÂMERA; DE MELO, 2015).

A ingestão de toxinas presentes nos alimentos representa um risco à saúde pública. É uma substância termoestável e pode permanecer nos alimentos mesmo após o cozimento, favorecendo o aparecimento de intoxicações, na tabela 1 foi exposta as principais toxinas envolvidas na intoxicação alimentar e de interesse nesta pesquisa (BARRETO; SILVA, 2013).

#### 1.4.1 *Salmonella* spp

*Salmonella* spp é um gênero pertencente à família Enterobacteriaceae que vive no trato gastrointestinal de animais. São bacilos Gram-negativos, não esporulados, anaeróbios facultativos e definidos pela composição de antígenos de superfície, antígenos somáticos (Oligopolissacarídeos), flagelados (proteína H) e cápsulas (GOMIDES; RIBEIRO, 2021).

Seu pH ideal para reprodução é em torno de 7,0 e a temperatura fica entre 35 e 37°C, com mínima de 5°C e máxima de 47°C (são bactérias sensíveis ao calor a pasteurização é suficiente para manter suas células desnaturadas, e as baixas temperaturas dificultam sua multiplicação, que pode ser diferente para cada sorovar. Três grupos comuns de doenças são febre tifóide (*Salmonella* Typhi), febre intestinal (*S. Paratyphi* A, B e C) e salmonelose (outros sorovares) (COSTA *et al.*, 2017).

Para alimentos, o método de diagnóstico mais utilizado é o método microbiológico tradicional, que leva cinco dias para obter o resultado, mas essa técnica gera algumas dúvidas, pois *Salmonella* spp está sujeita a grandes variações bioquímicas e mutações genéticas. Novas técnicas de triagem estão sendo desenvolvidas e investigadas para a triagem de *Salmonella* spp. em alimentos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e técnicas imunológicas como o imunoensaio enzimático (ELISA), que é o método mais simples, rápido, sensível, específico, baixo -custo e alta especificidade (SILVA, 2019).

#### 1.4.2 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* é uma bactéria Gram-negativa da família Enterobacteriaceae, não esporulada, anaeróbia facultativa, fermentativa, predominantemente móvel (flagelo peritríquico), crescem entre 18 e 44 ° C, sendo 37 ° C a temperatura ideal. e pertencente à microbiota intestinal de mamíferos e aves. Existem cepas de *E. coli* patogênicas que causam

DTHA, são encontradas nas fezes e embora em pequeno número, podem ser encontradas em ambientes onde os alimentos são manipulados (GOMES et al., 2016).

Essas bactérias usam d-glicose e outros carboidratos como fonte de energia e produzem ácidos e gases como produtos metabólicos. A espécie presente na microbiota intestinal dos animais de sangue quente é a *Escherichia coli* comensal (ALLOCATI, 2013).

A patogenicidade está associada à diversidade antigênica associada a componentes estruturais. (lipopolissacarídeo - LPS, cápsula), adesão (adesinas) e invasão (exotoxinas). Estes sorotipos têm sido associados a infecções do trato urinário, sepse, meningite neonatal e gastroenterite, os principais grupos patogênicos~são *Escherichia coli* enteropatogênica (EPEC), *Escherichia coli* enterotoxigênica (ETEC), *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) (VILA, 2016).

#### 1.4.3 *Bacillus cereus*

*Bacillus cereus* pertence à família Bacillaceae. É uma bactéria Gram-positiva (G+) em forma de bastonete, tem características aeróbicas, caracterizada pela capacidade de formar esporos subterminais. Apresenta excelente crescimento em temperaturas entre 28 e 35 °C, o tempo de geração varia entre 18-27 minutos, tolera ampla faixa de pH entre 4,9 e 9,3, atividade de água ( $a_w$ )  $\geq 0,95$  e tem crescimento reduzido em concentração salina de 7,5 % (EHLING-SCHULZ; LERECLUS; KOEHLER, 2019).

Eles são transmitidos através de alimentos e os esporos bacterianos são altamente resistentes ao calor, radiação ultravioleta (UV), dessecação, valores de pH altos ou baixos, produtos químicos tóxicos e outros estresses ambientais. Devido à sua boa resistência fisiológica e à sua capacidade de produzir ampla gama de enzimas que degradam muitos substratos orgânicos, esse microrganismo está amplamente distribuído no meio ambiente, sendo o solo seu reservatório natural (ROZEAU et al., 2020).

Acredita-se que após a ingestão de células vegetativas, as enterotoxinas são formadas no intestino delgado, a hemolisina BL (HBL) contém um componente ligante (B) e dois componentes líticos, L1 e L2, formados pelos genes *hblA*, *hblD* e *hblC*, respectivamente. Todos os três genes são necessários para a atividade máxima. O complexo NHE também consiste em três proteínas diferentes, *nheA*, *nheB* e *nheC*, que são codificadas pelos três genes *nheA*, *nheB* e *nheC* (EHLING SCHULZ; FRENZEL; GOHAR, 2015).

As características da síndrome diarreica são dor abdominal, diarreia e náusea que podem ocorrer de 12 a 24 horas após a ingestão do alimento contaminado. A doença envolve múltiplas

enterotoxinas, incluindo enterotoxinas BL hemolíticas (HBL) e enterotoxinas não hemolíticas (NHE) (GRIFFITS; SCHRAFT, 2017).

### **1.5 Justificativa**

A análise de alimentos a granel, que sofrem mais com exposição e constante manipulação, são produtos que têm risco potencial de desencadear doenças transmitidas por alimentos devido a presença de bactérias. Dessa forma, os resultados do presente estudo podem contribuir com dados para futuras pesquisas, assim como para ações de vigilância sanitária, a fim de evitar surtos e agravos à saúde, oferecendo assim segurança alimentar para a população.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Realizar análises microbiológicas de farinhas comercializadas a granel no Estado do Rio de Janeiro.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Pesquisar *Salmonella* spp. em farinhas;
- Realizar a contagem de *Bacillus cereus* e *Escherichia coli* em farinhas;
- Verificar a porcentagem de cada microrganismo encontrado nas amostras.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 30 amostras de farinhas no período de 12 de julho a 03 de setembro de 2022, as amostras de farinhas foram de origens diversas, listadas a seguir: beringela, arroz, banana verde, kibe, maca peruana, amêndoas, chia, linhaça, grão de bico, uva, tribulus terrestris, avelã, maracujá, trigo, rosca, soja, glúten, castanha de caju, coco, aveia, acarajé, ora-pro-nóbis, psyllium, semolina, mandioca, açaçá, centeio, amora, nozes e castanha do Pará.

Foram realizadas as seguintes análises: pesquisa de *Salmonella* spp. e enumeração de *Escherichia coli* conforme os procedimentos descritos no *Bacteriological Analytical Manual*, 8ª ed. online; e Contagem e Identificação presuntiva de *Bacillus cereus* conforme os procedimentos descritos pela *International Standards Organization* 21871:2006.

#### 3.1 Pesquisa de *Salmonella*

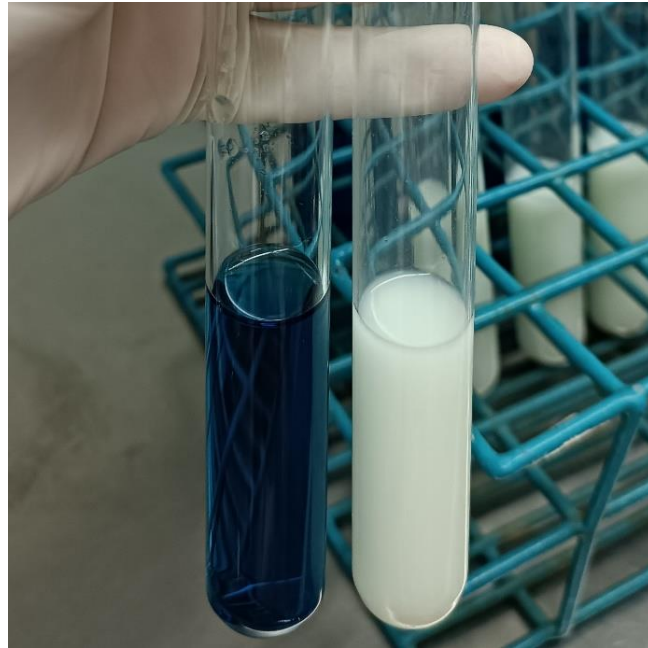
##### 3.1.1 Pré - enriquecimento

Foram pesados 25g da amostra em saco plástico estéril e acrescentado 225mL de caldo lactosado. Foi deixado em temperatura ambiente por 60 min sem homogeneizar e incubado a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h.

##### 3.1.2 Enriquecimento Seletivo

Após 24h, a amostra foi homogeneizada vagarosamente e, em seguida foi transferido 0,1mL para um tubo contendo 10mL de meio Rappaport-Vassiliadis (RV) e 1 mL para tubo contendo 10mL de caldo tetrionato (TT) adicionado de 0,1mL de uma solução verde brilhante a 0,1%, 0,2mL de uma solução de iodo-iodeto de potássio (Figura 1). O meio RV foi incubado a  $42 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h e o caldo TT a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h.

Figura 1 – Meio Rappaport – Vassiliadis e Caldo Tetratation



Fonte: Do autor, 2023.

### 3.1.3 Isolamento

Após 24h de incubação, de cada meio de enriquecimento seletivo foi semeado por esgotamento na superfície de dois meios seletivos indicadores: ágar entérico Hektoen (HK) e ágar xilose lisina desoxicolato (XLD). Em seguida, as placas foram incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h.

### 3.1.4 Leitura e Seleção das colônias

Foram consideradas colônias suspeitas de *Salmonella* spp. as culturas que apresentaram colônias verde-azuladas, com ou sem centro negro brilhoso em ágar Hektoen e as culturas que apresentaram colônias vermelhas transparentes, com ou sem centro negro brilhoso no ágar XLD.

### 3.1.5 Triagem bioquímica

Cada colônia suspeita foi semeada em ágar tríplice açúcar ferro (TSI), ágar lisina ferro (LIA) e ágar ureia inclinado e incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h. Foram consideradas suspeitas de *Salmonella* spp. as culturas que apresentaram no TSI: superfície inclinada alcalina (vermelha)



e base ácida (amarela), com ou sem produção de H<sub>2</sub>S, no LIA: reação alcalina (roxo) na base e na superfície inclinada do tubo com ou sem produção de H<sub>2</sub>S e no ágar ureia: reação de urease negativa (não muda a coloração no meio)

Cada colônia suspeita foi semeada em ágar nutriente inclinado e incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h.

### 3.1.6 Sorologia polivalente

Foram adicionados 0,5 mL de solução de cloreto de sódio a 0,85% no crescimento do ágar nutriente e homogeneizado até obter uma suspensão bacteriana. Uma gota desta suspensão obtida foi depositada em uma placa de Petri estéril e uma gota de solução de cloreto de sódio a 0,85% também foi acrescentada na placa. Homogeneizou-se essas gotas para observar a presença de auto aglutinação. A sorologia foi prosseguido somente com as culturas que não aglutinaram com a solução de cloreto de sódio a 0,85%. Em outra placa de Petri estéril, uma para cada colônia, foi depositada uma gota da suspensão obtida e uma gota do antissoro polivalente. Após homogeneizar essas duas gotas, foram consideradas como *Salmonella* spp. as que apresentaram grumos.

## 3.2 CONTAGEM E IDENTIFICAÇÃO PRESUNTIVA DE *Bacillus cereus*

### 3.2.1 Preparo do homogenato

Foram pesados 25g de cada amostra em saco plástico estéril e foi adicionado 225mL de solução salina peptonada 0,1%. Em seguida, foi homogeneizado em velocidade 2 durante 1 minuto no aparelho homogeneizador.

### 3.2.2 Preparo das diluições

A partir do homogenato (diluição  $10^{-1}$ ) foram preparadas diluições decimais transferindo uma alíquota de 1mL da última diluição para um tubo de ensaio contendo 9mL de solução salina peptonada 0,1%. As diluições foram realizadas até  $10^{-3}$  seguindo o limite de contaminação estabelecido pela legislação vigente de padrões microbiológicos para farinhas.

### 3.2.3 Plaqueamento

Foi semeado uma alíquota de 1mL da diluição  $10^{-1}$  distribuída em 3 placas (0,3; 0,3 e 0,4mL) contendo ágar manitol gema de ovo com polimixina (MYP) e semeado alíquotas de 0,1mL de cada diluição previamente homogeneizada na superfície de 2 placas de MYP, o inóculo foi espalhado com alça de Drigalsky até completa absorção e as placas foram incubadas em posição invertida a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 24h.

### 3.2.4 Contagem e Seleção das colônias

Foram selecionadas placas de mesma diluição que continham de 15 a 150 colônias com coloração rosa (manitol negativas), rodeadas por halo opaco resultante da precipitação da lecitina, característicos de *Bacillus cereus* no Ágar MYP (Figura 2). Em seguida, cada colônia selecionada foi semeada em um tubo contendo ágar nutriente e incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 24h.

Figura 2 – *Bacillus cereus* em ágar MYP

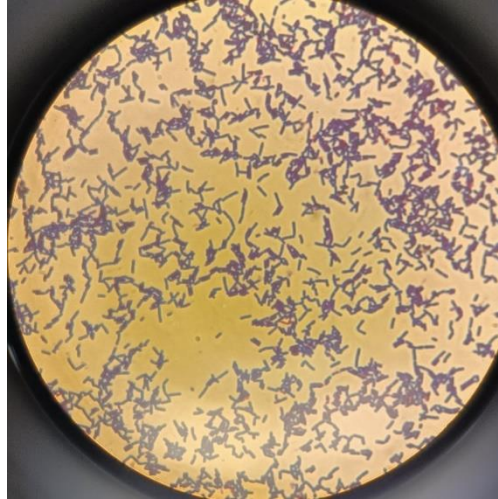


Fonte: Do autor, 2023.

### 3.2.5 Ensaio presuntivo para identificação de *Bacillus cereus*

Foram verificadas as características morfológicas das culturas em ágar nutriente através do método de coloração de Gram. Colônias características se apresentam como bacilos gram positivos esporulados (Figura 3).

Figura 3 – Método de Coloração de Gram apresentando bacilos gram positivos, colônia característica de *B. cereus*

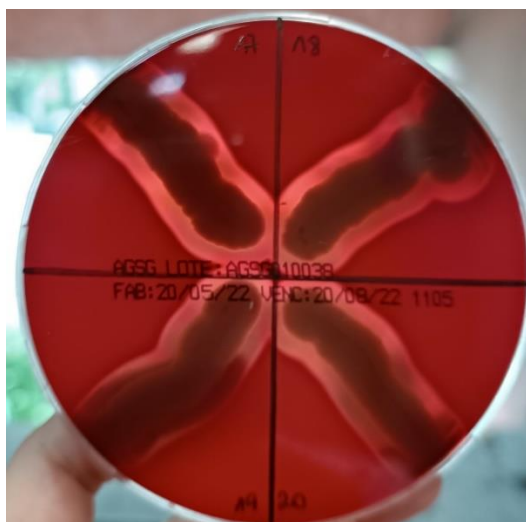


Fonte: Do autor, 2023.

### 3.2.6 Prova de Atividade Hemolítica

Após a coloração de Gram, foi semeada uma alçada do ágar nutriente de cada colônia em placa contendo ágar sangue de carneiro 5% e incubada a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 24h. Após este tempo, as culturas que apresentaram presença de uma zona de hemólise do tipo beta ao redor do crescimento foram identificadas como *Bacillus cereus* presuntivo (Figura 4). Amostras que apresentaram contagem de *B. cereus* presuntivo  $> 10^3 \cdot \text{g}^{-1}$  foram consideradas acima do padrão microbiológico permitido pela legislação.

Figura 4 – *Bacillus cereus* em ágar Sangue de carneiro 5%



Fonte: Do autor, 2023.

### 3.3 ENUMERAÇÃO DE *Escherichia coli*

Enumeração de *E. coli* pelo método do Número mais Provável (NMP) é a técnica recomendada Já que a legislação de farinhas estabelece limite de contaminação por *E.coli* igual a  $10^2.g^{-1}$ .

#### 3.3.1 Preparo do homogenato e das diluições

Foram pesados aproximadamente 50 g da amostra em saco plástico estéril. Foi adicionado aproximadamente metade do volume total de 450 mL de tampão fosfato de Butterfield no saco plástico; foi homogeneizado a mostra no homogeneizador em velocidade 2 durante 1 minuto e acrescentado o restante do tampão fosfato de Butterfield no saco plástico e homogeneizar manualmente.

A partir do homogenato (10-1) foram preparadas quatro diluições decimais transferindo uma alíquota de 1mL da diluição  $10^{-1}$  para tubo de ensaio contendo 9 mL de tampão fosfato de Butterfield. As diluições preparadas foram homogeneizadas em agitador tipo vortex.

#### 3.3.2 Ensaio presuntivo para e.coli

Foram semeadas alíquotas de 1mL da diluição  $10^{-1}$  e das diluições subsequentes em séries de 3 tubos contendo 10 mL de caldo lauril sulfato triptose (LST) com tubo de Durham em concentração simples. Agitou suavemente os tubos semeados e incubados a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 48h.

#### 3.3.3 Leitura dos tubos

Após 48h verificou-se a turvação do caldo LST e a presença de gás nos tubos de Durham ou efervescência quando agitado gentilmente (Figura 5). Os tubos que apresentaram resultado positivo foram submetidos aos ensaios confirmatórios.

Figura 5 – Caldo LST com presença de gás no tubo de Durham

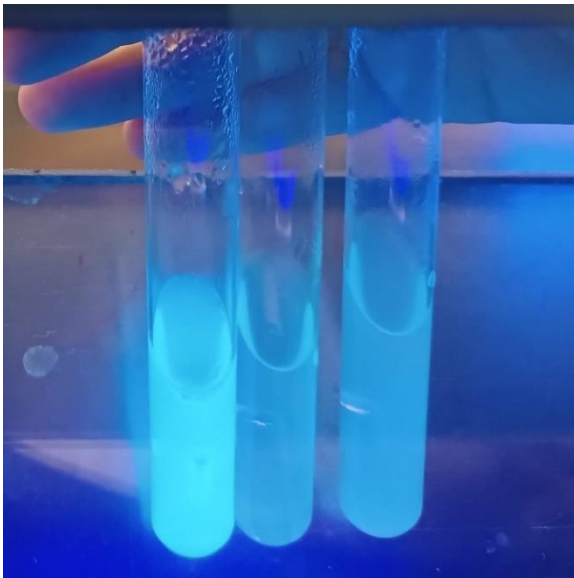


Fonte: Do autor, 2023.

#### 3.3.4 Ensaio confirmatório para E.coli

Foi transferido com o auxílio de uma alça bacteriológica o crescimento da cada tubo positivo de caldo LST para tubo contendo 10mL de caldo EC-MUG com tubo de Durham. Os tubos de caldo EC-MUG foram incubados em banho termostático com sistema de circulação de água a  $44,5 \pm 0,2^\circ\text{C}$  por 48h. Após 48h, verificou-se a turvação do caldo EC-MUG, a presença de gás nos tubos de Durham e avaliar a fluorescência sob luz UV (365nm) (Figura 6).

Figura 6 – Caldo EC-MUG em fluorescência sob luz UV



Fonte: Do autor, 2023.

#### 4 RESULTADO E DISCUSSÃO

Das 30 amostras de farinhas analisadas, oito apresentaram uma contagem de *Bacillus cereus* presuntivo acima do padrão preconizado pela legislação e uma amostra apresentou presença de *Salmonella* spp. Não foi detectada presença de *Escherichia coli*, ou seja, as amostras atenderam ao padrão estabelecido pela legislação para este parâmetro.

A amostra que apresentou presença de *Salmonella* foi a de farinha de acaçá e o isolado foi enviado para ser devidamente identificado a nível de sorovar pelo Laboratório de Enterobactérias (LABENT) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz) que é Referência Nacional de *Salmonella*. Resultado ainda não recebido. Não há relatos na literatura acerca da *Salmonella* em produtos farináceos.

A microbiota da farinha é relativamente baixa, uma vez que alguns agentes do branqueamento reduzem a contaminação. Quando as condições da atividade de água favorecem o crescimento, como por exemplo, a umidade alta do ambiente, as bactérias do gênero *Bacillus* se desenvolvem e se estiverem presentes em alimentos prontos, podem desencadear DTHA. Estas bactérias têm o solo como reservatório, entretanto, devido à resistência de seus esporos, a bactéria pode ser isolada de uma grande variedade de pontos, estando amplamente distribuída na natureza. Por esta razão, contamina facilmente os alimentos.

Lopes e Franco (2017), analisaram amostras de crostas de três moinhos produtores de farinha de trigo, dois destes moinhos apresentaram contagem de *B. cereus* presuntivo acima de  $10^3$  UFC/g. Este resultado demonstra que a contaminação pode estar ligada ao preparo da farinha. No presente trabalho, 30% das amostras apresentaram contaminação por *B. cereus* acima do padrão permitido pela legislação.

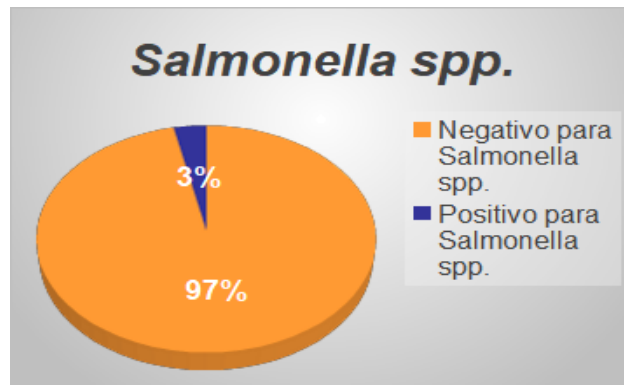
Vale ressaltar os benefícios do branqueamento, visto a problemática do estudo, o branqueamento, é um processo cujo objetivo principal é a inativação de enzimas que normalmente provocavam degradação de nutrientes e/ou apodrecimento de alimentos durante o preparo, também é responsável pela redução da carga microbiana da superfície, aumentando a qualidade e o prazo de validade.. O branqueamento não é considerado um processo de conservação em si, mas um pré-tratamento que confere ao alimento maior durabilidade e qualidade de suas características sensoriais (SOARES; JOSÉ, 2013).

Vale ressaltar que um dos motivos de contaminação de alimentos a granel é erros primários relacionados a manipulação dos alimentos, o armazenamento inadequado, onde o recipiente onde fica a farinha não é higienizado constantemente e adequadamente, configurando assim falta de higiene na manipulação.

Em um estudo realizado por Kemper e Colaboradores (2020) mostra que o controle da qualidade microbiológica de alimentos vendidos a granel onde três estabelecimentos analisados, somente um se enquadrou nos critérios estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Tendo os outros dois estabelecimentos apresentado valores superiores ao permitido para o consumo humano, onde foi encontrado a presença de fungos causadores de micotoxinas. Os pesquisadores ressaltam a necessidade de maior controle das condições higiênico-sanitárias durante todo o processamento dos alimentos, principalmente na manipulação dos alimentos a granel pelos estabelecimentos, de maneira a manter a qualidade do produto final, visando assim à saúde da população (KEMPER et al., 2020).

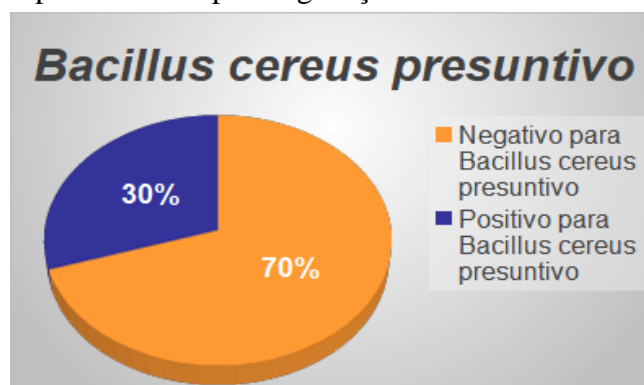
No gráfico 1 foi demonstrada a porcentagem de amostras que estavam fora dos padrões preconizados pela legislação (IN 161/2022) para *Salmonella* e no gráfico 2, para amostras de *Bacillus cereus* fora dos padrões preconizados pela legislação (IN 161/2022).

Gráfico 1 - Porcentagem de amostras para pesquisa de *Salmonella* spp fora dos padrões preconizados pela legislação



Fonte: A autora, 2023.

Gráfico 2 - Porcentagem de amostras para pesquisa de *Bacillus cereus* presuntivo fora dos padrões preconizados pela legislação



Fonte: A autora, 2023.

## 5 CONCLUSÃO

Dentre as 30 amostras de farinhas e foi constatado a presença de *Salmonella* spp e o *Bacillus cereus*. Ressalta-se a importância de se identificar os pontos do ambiente que possam representar fontes de contaminação, de forma a orientar medidas de controle dos patógenos, em particular nos processos de higienização e prevenção da contaminação cruzada, visando a produção e consumo de um alimento nutritivo e seguro para a população.



## REFERÊNCIAS

- ANDREWS, W. H.; JACOBSON, A.; HAMMACK, T. Salmonella. *In: BACTERIOLOGICAL Analytical Manual Online*. FDA, 2011. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-5-salmonella>. Acesso em: 20 de jan. de 2023.
- ALLOCATI, Nerino *et al.* Escherichia coli na Europa: uma visão geral. **Revista Internacional de Pesquisa Ambiental e Saúde Pública**, v. 10, n. 12, p. 6235-6254, 2013.
- ARAGÃO, Antônio Augusto; NETO, Henrique Fernandes Câmara; JÚNIOR, José Luiz Correia Araújo. Cenário da vigilância sanitária através da aplicação do método delphi ajustado. **SANARE-Revista de Políticas Públicas**, v. 21, n. 1, 2022.
- BERNARDES, Nicole Blanco *et al.* Intoxicação alimentar: um problema de saúde pública. **Revista de psicologia**, v. 12, n. 42, p. 894-906, 2018.
- BARRETTO, Junaura Rocha; SILVA, Luciana Rodrigues. Intoxicações alimentares. **Pronto atendimento em pediatria**, v. 2, 2013.
- BRASIL. Portaria 1997, Pub SVS/MS nº 326, de 30 de julho 1997. Regulamento Técnico sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores/industrializadores de alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 1997. 1 ago 1. pt.1.
- BRASIL. Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 60, de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 133, 26 dez. 2019b.
- CHISTÉ, Renan Campos *et al.* Estudo das propriedades físico-químicas e microbiológicas no processamento da farinha de mandioca do grupo d'água. **Food Science and Technology**, v. 27, p. 265-269, 2007.
- CINTRÃO, Rosângela Pezza. Segurança alimentar, riscos, escalas de produção-desafios para a regulação sanitária. **Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 5, n. 3, p. 3-13, 2017.
- COSTA, Yasmim *et al.* Salmonella typhi: uma abordagem clínica e microbiológica. **Mostra Científica em Biomedicina**, v. 1, n. 1, 2017.
- EHLING-SCHULZ, Monika; LERECLUS, Didier; KOEHLER, Theresa M. O grupo Bacillus cereus: espécies de Bacillus com potencial patogênico. **Espectro de microbiologia**, v. 7, n. 3, p. 7.3. 6, 2019.

EHLING-SCHULZ, Monika; FRENZEL, Elrike; GOHAR, Michel. Interação alimento-bactéria: patometabolismo de *Bacillus cereus* emético. **Fronteiras em microbiologia**, v. 6, p. 704, 2015.

FENG, P.; WEAGANT, S.D.; GRANT, M.A; BUTKHARDT, W. Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria. *In*: BACTERIOLOGICAL analytical manual online. FDA, 2002. Chapter 4. Disponível em: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>. Acesso em: 20 de jan. de 2023.

FERREIRA, Cássia Thaís Pessoa de Albuquerque. Condições higiênico-sanitárias e sua importância para a prevenção de surtos de doenças transmitidas por alimentos ocasionadas por *salmonella* spp. **Alimentos: Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente**, v. 2, n. 4, p. 41-65, 2021.

FIGUEIREDO, Ana Virgínia Almeida; RECINE, Elisabetta; MONTEIRO, Renata. Regulação dos riscos dos alimentos: as tensões da Vigilância Sanitária no Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 2353-2366, 2017.

FIGURESE, Mônica Lady *et al.* Treinamento dos manipuladores de alimentos e responsabilidade sobre a saúde pública dos comensais. **EXTENDERE**, v. 2, n. 2, 2014.

FLORES, Ariadna Milena Pessoa da Câmara; DE MELO, Cristiano Barros. Principais bactérias causadoras de doenças de origem alimentar. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 37, n. 1, p. 65-72, 2015.

GALLO, Lorenza Rodrigues dos Reis. **Gel de chia**: vida de prateleira e substituição de ovo. 2015. 70 f. Dissertação (Mestrado em Nutrição Humana) - Universidade de Brasília, Brasília, 2015.

GERMANOVA, Antónia Vilhem. **O papel do consumidor e as tendências da alimentação**: de que forma influenciam a segurança alimentar. 2018. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia e Inovação) - Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Porto, 2018.

GOMIDES, Eduardo Tavares; RIBEIRO, Laryssa Freitas. Determinação de microrganismos deteriorantes em linguiça calabresa, antes e após o cozimento. **Revista GeTeC**, v. 10, n. 29, 2021.

INTERNACIONAL STANDARD. **ISO 21871**: microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of low numbers of presumptive *Bacillus cereus* – Most probable number technique and detection method. Switzerland, Genève: ISO, 2006. 14 p.

KEMPER, Milena *et al.* Análise microbiológica de produtos funcionais vendidos a granel. **Anuário Pesquisa e Extensão Unoesc Videira**, v. 5, p. e24067-e24067, 2020.

LEAL, J. **A memória do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do INCQS e sua contribuição no cenário do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária**. 2017. Dissertação (Mestrado Profissional em Vigilância Sanitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2017.

LIMA, Bruna Evangelista de *et al.* Efeitos da maca peruana (*lepidium meyenii*) no diabetes mellitus tipo 2. *In: Conexão Unifametro 2019 - Fortaleza- CE, 2019.*

LOPES, Ellen Almeida; FRANCO, B. D. G. M. Influência do controle da etapa de molhagem dos grãos na qualidade microbiológica da farinha de trigo. **Alimentos e Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 209-218, 2006.

MACHADO, T. F. **Patógenos emergentes em alimentos**. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2013. (Documentos, 159).

MALACRIDA, Amanda Milene; DIAS, Victor Hugo Cortez; LIMA, Camila Lehmckuhl de. Perfil epidemiológico das doenças bacterianas transmitidas por alimentos no Brasil. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 4, p. 158-162, 2017.

MOURA, Alexandre Carvalho de *et al.* Qualidade microbiológica de farinhas de trigo (*Triticum aestivum*) comercializadas na cidade de Cascavel (Paraná). **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 21, n. 2, p. 499-504, 2014.

NEVES, Millena Correia de Moraes. **Levantamento de dados oriundos do DATASUS relativos à ocorrências/surtos de intoxicação alimentar no Brasil de 2007-2014**. 2016. 35 f. Monografia (Graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Paraíba, 2016.

OLIVEIRA, Viviana Machado. **Entidades privadas com competências em segurança alimentar e saúde pública: enquadramento e estudo de casos**. 2017. Dissertação (Mestrado Integrado em Medicina Veterinária) - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa, 2017.

POSSETTI, Taila; DUTRA, Mariana. Produção, composição centesimal e qualidade microbiológica de farinha de berinjela (*Solanum melongena*, L.). **Revista Enciclopédia Biosfera**, v. 7, n. 13, 2011.

ROUZEAU-SZYNALSKI, Katia *et al.* Por que levar a sério o emético *Bacillus cereus*: produção de cereulide e desafios industriais. **Microbiologia de alimentos**, v. 85, p. 103279, 2020.

SANTOS, Erika Coelho. **Proposta pedagógica sobre higiene e segurança alimentar, como fator de prevenção às DTAs (doenças transmitidas por alimentos e água contaminados)**. 2018. Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2018.

SILVA, Antônia Jhanyelle Hilario da *et al.* *Salmonella* spp. um agente patogênico veiculado em alimentos. **Encontro de Extensão, Docência e Iniciação Científica (EEDIC)**, v. 5, n. 1, 2019.

SILVA, Elisia Gomes da. **A segurança alimentar e relatos de surtos alimentares por *Staphylococcus* spp.** 2014. 74 f. Monografia (Especialização em Microbiologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

SILVA, Rosalina Aparecida da. **Ciência do alimento**: contaminação, manipulação e conservação dos alimentos. 2012. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2012.

SIRTOLI, Daniela Bezerra; COMARELLA, Larissa. O papel da vigilância sanitária na prevenção das doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Revista Saúde e Desenvolvimento**, v. 12, n. 10, p. 197-209, 2018.

SOARES, Lucimara Piauí; JOSÉ, Abel Rebouças São. Compostos bioativos em polpas de mangas' rosa'e'espada'submetidas ao branqueamento e congelamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 35, p. 579-586, 2013.

SORAGNI, Larissa; BARNABE, Anderson Sena; DE CAMPOS MELLO, Tatiana Ribeiro. Doenças transmitidas por alimentos e participação da manipulação inadequada para sua ocorrência: uma revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, v. 9, n. 2, p. 19-31, 2019.

TANCREDI, Rinaldini CP; MARINS, Bianca Ramos. Evolução da higiene e do Controle de Alimentos no contexto da saúde pública. **Segurança alimentar no contexto da Vigilância Sanitária**: reflexões e práticas, p. 15-36, 2014.

VILA, Julien e cols. Escherichia coli: uma velha amiga com novas notícias. **FEMS microbiology reviews**, v. 40, n. 4, pág. 437-463, 2016.