

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA – UDESC

CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LUANA DE OLIVEIRA MARTINS YARED

**RELAÇÃO DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e BACTÉRIAS ÁCIDO
LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM DIFERENTES
PERÍODOS DE MATURAÇÃO**

LAGES, SC

2026

LUANA DE OLIVEIRA MARTINS YARED

**RELAÇÃO DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e BACTÉRIAS ÁCIDO
LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM DIFERENTES
PERÍODOS DE MATURAÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dra. Sandra Maria Ferraz

LAGES, SC

2026

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática
da Biblioteca Setorial CAV/UDESC,
com dados fornecidos pela autora.**

YARED, LUANA DE OLIVEIRA MARTINS

RELAÇÃO DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e
BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO
ARTESANAL SERRANO EM DIFERENTES PERÍODOS DE
MATURAÇÃO / LUANA DE OLIVEIRA MARTINS YARED. --
2026.

66 p.

Orientadora: SANDRA MARIA FERRAZ

Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages,
2026.

1. Maturação. 2. Enterotoxina. 3. Contaminação. I.
FERRAZ, SANDRA MARIA. II. Universidade do Estado de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias,
Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

LUANA DE OLIVEIRA MARTINS YARED

RELAÇÃO DE *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS ISOLADAS DE QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM DIFERENTES PERÍODOS DE MATURAÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina (CAV/UDESC), como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof. Dra. Sandra Maria Ferraz

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Sandra Maria Ferraz

Orientadora

Universidade do Estado de Santa Catarina

Prof. Dr. Leonardo Ereno Tadielo

Universidade Federal do Paraná

Prof^a. Dr^a. Tassiana Ramires

Universidade Federal do Pampa

Lages, 26 de fevereiro de 2026

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a pessoa de Jesus Cristo, que em momentos de incertezas se fez presente através da Eucaristia e dos amigos que cultivei pela fé. De modo semelhante, agradeço a Virgem Maria, que foi colo e carinho materno em noites escuras.

Obrigada, Bruno, meu marido compreensivo e parceiro, que várias vezes me acompanhou até o laboratório para finalizar alguma corrida de gel ou guardar amostras. Sem seu apoio o caminho seria mais árduo.

Obrigada, Angelo, Glaci e João Paulo, minha primeira família e quem me fez acreditar no meu potencial para vencer qualquer desafio desde pequena. A torcida de vocês me impulsiona.

Obrigada, Prof^a Dr^a Sandra Ferraz, Dr^a Sandra Mendes e Dr^a Stefany Arcari, mulheres que me mostraram o “caminho das pedras”, doando seu tempo e conhecimento para que a ciência em produtos de origem animal se expandisse. Vocês foram cruciais nessa pesquisa!

Obrigada, a equipe do CEDIMA pelas risadas e conversas na bancada, aos colegas de pós-graduação com quem pude aprender esses anos, também aos técnicos e colaboradores do CAV-UDESC que pude nutrir uma amizade. Em nome de Ricardo Sfaciotte e Rosane Legnaghi sintam-se todos nomeados.

Obrigada àqueles que continuam acreditando que a pesquisa brasileira causa grande impacto na vida cotidiana, melhorando-a, protegendo-a e tornando-a segura. Por isso, Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC), Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC), muito obrigada!

“Dai-me inteligência para compreender,
memória para reter, facilidade para aprender,
sutileza para interpretar e graça abundante
para falar.” (Trecho da oração de Santo
Tomás de Aquino)

RESUMO

O Queijo Artesanal Serrano (QAS) é um produto tradicional dos Campos de Cima da Serra, no Sul do Brasil, valorizado por seu sabor característico e importância cultural. Por ser produzido com leite cru e maturado em condições artesanais, gera preocupações quanto à segurança alimentar, especialmente em relação à presença de bactérias patogênicas, como *Escherichia coli* (*E. coli*) e *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Além disso, cepas de *S. aureus* podem produzir enterotoxinas, como *sea*, *sec*, e *see*, levando à intoxicação alimentar e representando um risco à saúde pública. Por outro lado, as Bactérias Ácido Lácticas (BAL), nome dado para um grande grupo de bactérias não patogênicas presentes no leite e seus derivados, são responsáveis pelas características organolépticas dos queijos, pois produzem compostos aromáticos e bacteriocinas capazes de inibir diversos patógenos além de contribuir no sabor, aroma e textura nesse alimento. Diante disso, este estudo teve como objetivo verificar a relação das BAL com *E. coli* e *S. aureus* isolados de QAS nos períodos de 0 a 63 dias de maturação, além de verificar a presença de genes produtores de enterotoxinas nos isolados de *S. aureus*. Para isso, foram coletadas amostras semanais de QAS de sete queijarias, acompanhadas em dez períodos distintos da maturação: desde o dia de produção (dia 0) até o dia 63, nos anos de 2024 e 2025. Foram realizadas análises microbiológicas para quantificar a presença dos patógenos e das BAL, utilizando técnicas de plaqueamento em meios seletivos, além de análises físico-químicas para caracterizar as condições do queijo ao longo do período. Observou-se que das 120 amostras analisadas, 40,8 % (49/120) apresentaram contaminação por *S. aureus* e 16,6 % (20/120) por *E. coli*, valores acima do permitido pela legislação. Contudo, a partir do 35º dia de maturação, houve uma tendência em diminuir a quantificação de microrganismos. Em 90,8% (107/120) dos queijos analisados houve quantificação significativa de BAL, entre 3,6 log UFC/g e 10,3 log UFC/g, sendo as de maior abundância *Enterococcus sp.* e *Lactococcus sp.*, conforme sequenciamento genético realizado. Com relação às enterotoxinas produzidas pelo *S. aureus*, 56% das amostras apresentaram genes para pelo menos uma das toxinas pesquisadas.

Palavras-chave: Enterotoxinas; intoxicação alimentar; saúde pública; legislação.

ABSTRACT

Serrano Artisanal Cheese (QAS) is a traditional product from the Campos de Cima da Serra region in southern Brazil, valued for its characteristic flavor and cultural importance. Because it is produced with raw milk and matured under artisanal conditions, it raises concerns regarding food safety, especially concerning the presence of pathogenic bacteria such as *Escherichia coli* (*E. coli*) and *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Furthermore, strains of *S. aureus* can produce enterotoxins, such as sea, sec, and see, leading to food poisoning and representing a risk to public health. On the other hand, Lactic Acid Bacteria (LAB), a name given to a large group of non-pathogenic bacteria present in milk and its derivatives, are responsible for the organoleptic characteristics of cheeses, as they produce aromatic compounds and bacteriocins capable of inhibiting various pathogens, in addition to contributing to the flavor, aroma, and texture of this food. Given this, this study aimed to verify the relationship between LAB and *E. coli* and *S. aureus* isolated from QAS during maturation periods from 0 to 63 days, as well as to verify the presence of enterotoxin-producing genes in *S. aureus* isolates. To this end, weekly samples of QAS were collected from seven cheese dairies, monitored during ten distinct maturation periods: from the day of production (day 0) to day 63, in the years 2024 and 2025. Microbiological analyses were performed to quantify the presence of pathogens and LAB, using plating techniques on selective media, in addition to physicochemical analyses to characterize the cheese conditions throughout the period. It was observed that of the 120 samples analyzed, 40,8% (49/120) showed contamination by *S. aureus* and 17,5% (21/120) by *E. coli*, values above those permitted by legislation. However, from the 35th day of maturation onwards, there was a tendency for the quantification of microorganisms to decrease. In 90,8% (107/120) of the cheeses analyzed, there was a significant quantification of LAB, between 3.6 log CFU/g and 10.3 log CFU/g, with *Enterococcus* sp. and *Lactococcus* sp. being the most abundant, according to genetic sequencing performed. Regarding enterotoxins produced by *S. aureus*, 56% of the samples presented genes for at least one of the toxins investigated.

Keywords: Enterotoxins; food poisoning; public health; legislation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 Localização das 7 queijarias certificadas pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, localizadas nas cidades de Lages, Bom Retiro, São Joaquim, Ponte Alta e Capão Alto.....	31
Figura 2 Linha de tendência de <i>Escherichia coli</i> ($\log_{10}$ UFC g ⁻¹) durante período de maturação do Queijo Artesanal Serrano.....	36
Figura 3 Decaimento exponencial de <i>Staphylococcus aureus</i> ($\log_{10}$ UFC·g ⁻¹) durante período de maturação em Queijo Artesanal Serrano.....	37
Figura 4 Linha de tendência de BAL ($\log_{10}$ UFC·g ⁻¹) durante período de maturação em Queijo Artesanal Serrano.....	38
Figura 6 Contagem de Bactérias ácido lácticas ($\log_{10}$ UFC·g ⁻¹) de acordo com os dias de maturação 0 e 63 em QAS, das seis queijarias com inspeção municipal da Serra Catarinense.....	49
Figura 7 Matriz de correlações de espécies isoladas no QAS no dia 0 de maturação.....	53
Figura 8 Matriz de correlação de espécies no QAS no dia 63 de maturação.....	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Sequência de primes para identificar enterotoxinas	35
Tabela 2 Frequência e média de E. coli em QAS em 2024 e 2025.	36
Tabela 3 Frequência e média de S. aureus em QAS em 2024 e 2025.....	38
Tabela 4 Média de BAL em QAS em 2024 e 2025.	41
Tabela 5 Comparativo de médias de crescimento bacteriano em E. coli, S. aureus e BAL em QAS.	43
Tabela 6 Abundância relativa dos cinco (5) gêneros de BAL presentes em dois períodos de maturação (0 e 63 dias) em amostras de QAS.	58
Tabela 7 Valores de umidade e atividade de água em Queijo Artesanal Serrano com 0 e 63 dias de maturação.	64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAL	Bactérias Ácido Láticas
BPA	Boas Práticas Agropecuárias
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CAV	Centro de Ciências Agroveterinárias
CEDIMA	Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IN	Instrução Normativa
PCR	Reação de polimerase em cadeia
QAS	Queijo Artesanal Serrano
RS	Rio Grande do Sul
SC	Santa Catarina
<i>sp.</i>	espécie
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
UDESC	Universidade do Estado de Santa Catarina
UFC	Unidades Formadoras de Colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Queijo Artesanal Serrano: origem e características	16
2.2 Princípios de segurança na produção do QAS.....	16
2.3 Processos bioquímicos de maturação.....	16
2.4 Microbiologia e segurança alimentar em queijos artesanais	18
2.4.1 <i>Escherichia coli</i>	20
2.4.2 <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.4.3 Bactérias Ácido Láticas	22
2.5 Fatores intrínsecos e extrínsecos no QAS	24
2.6 Interação dos microrganismos no QAS.....	25
3 REFERÊNCIAS.....	27
4 OBJETIVOS.....	29
4.1 GERAL	29
4.2 ESPECÍFICO.....	29
5 INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS, <i>Escherichia coli</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> NO QUEIJO ARTESANAL SERRANO NO PERÍODO DE 0 E 63 DIAS DE MATURAÇÃO.....	30
5.1 RESUMO.....	30
5.2 INTRODUÇÃO	30
5.3 MATERIAL E MÉTODOS	32
5.3.1 Seleção das propriedades e amostragem	32
5.3.2 Análise microbiológica.....	34
5.3.3 Pesquisa de genes de enterotoxinas em isolados de <i>Staphylococcus aureus</i>	34
5.3.4 Análise estatística.....	36
5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.5 CONCLUSÃO.....	45
5.6 AGRADECIMENTOS.....	46
5.7 REFERÊNCIAS.....	47
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
7. CORRELAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS NO QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM DIFERENTES PERÍODOS DE MATURAÇÃO.....	51
7.1 RESUMO.....	51

7.2 INTRODUÇÃO	51
7.3 MATERIAL E MÉTODOS	53
7.3.1 Amostragem e seleção das propriedades	53
7.3.2 Análise microbiológica	54
7.3.3 Análises físico-químicas	54
7.3.4 Sequenciamento genético	55
7.3.5 Análise estatística.....	55
7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
7.5 CONCLUSÃO.....	64
7.6 AGRADECIMENTOS.....	64
7.7 REFERÊNCIAS.....	65
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	67

1 INTRODUÇÃO

O queijo artesanal serrano (QAS), é um produto tradicional elaborado há mais de dois séculos na região dos Campos de Cima da Serra de Santa Catarina e do Rio Grande do Sul a partir de saber fazer trazido pelos açorianos que colonizaram a região (EMATER, 2019). É classificado como um queijo semigordo, de média umidade (massa semidura), de crosta amarelada ou amarelo palha, de média espessura, lisa e sem trincas, com massa compacta e macia, de consistência elástica, tendendo à untuosidade, contendo pequenas olhaduras mecânicas e/ou propiônicas, ou sem olhaduras (Decreto nº 54.199/2018).

O QAS é fabricado a partir do uso de leite cru, ou seja, não passa por nenhum tratamento térmico com o objetivo de eliminar microrganismos, como a pasteurização, por isso exige dos produtores muito mais rigor na aplicação das boas práticas de fabricação (BPF) para garantir a qualidade dos queijos e a segurança aos consumidores (EMATER, 2019). Dessa forma, falhas nas condições higiênico-sanitárias refletem diretamente na qualidade microbiológica do QAS, o que é corroborado por estudos que apontam a ocorrência de microrganismos indicadores e patogênicos acima dos limites estabelecidos pela legislação vigente. Isto posto, Pontarolo (2014) e Dalmina (2018) demonstraram valores acima do permitido pela legislação de *E. coli* e *S. aureus* no QAS produzido em Santa Catarina.

Os parâmetros microbiológicos descritos na Instrução Normativa nº 161 (BRASIL, 2022) indicam que queijos são classificados como seguros quando apresentarem valor máximo de 1×10^3 UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva e *E. coli*, e ausência de enterotoxinas estafilocócicas. Assim, esses valores serão usados como referência no presente estudo.

O Decreto nº1238 (SANTA CATARINA, 2017) afirma que a maturação aceita até o momento é de no mínimo 60 dias, contudo poderá ser alterada quando trabalhos técnico-sanitários comprovados cientificamente demonstrarem a qualidade e inocuidade do QAS com menor período.

Estudos relatam a produção de enterotoxinas estafilocócicas (EE) quando a contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva, incluindo *S. aureus*, atinge valor equivalente ou superior a 10^5 UFC/g. As EE são proteínas globulares de baixo peso

molecular, capazes de resistir a tratamentos térmicos e a meios ácidos. São causadores de doença de origem alimentar levando a êmese, tontura e diarreia (Lopes, 2023).

Entre os fatores intrínsecos que podem influenciar a redução de patógenos no queijo destaca-se a dinâmica de sucessão microbiana durante a maturação, na qual microrganismos mais adaptados, como as BAL, tendem a predominar em decorrência das alterações de pH, atividade de água e disponibilidade de nutrientes

Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica do QAS por meio de coletas realizadas entre 0 e 63 dias de maturação, para realizar a quantificação de *E. coli*, *S. aureus* e BAL. Assim como identificar as espécies de BAL e avaliar a sua influência em relação aos períodos de maturação e as características físico-químicas como atividade de água, umidade, dureza, elasticidade, resiliência, coesividade e mastigabilidade no QAS.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Queijo Artesanal Serrano: origem e características

Segundo informações da EMBRAPA (2021), o início da produção de queijos artesanais no Brasil remonta ao século XVIII, através da vinda dos portugueses. Em todo o país a produção artesanal de queijos se expandiu e se diversificou, carregando em sua origem uma mistura de povos, saberes e histórias. Atualmente, os queijos artesanais são produzidos em toda a extensão do território brasileiro, predominantemente por pequenos produtores rurais e suas famílias, tendo grande importância econômica, cultural e social. Mesmo que a produção de queijos artesanais já ocorresse, apenas em 2019 houve a regulamentação por meio da Lei nº13.860, possibilitando a comercialização em todo o país.

Sendo o queijo serrano um produto artesanal, de pequena escala, fabricado com o leite cru integral da propriedade, em sua maioria de vacas de corte, tendo como base de alimentação as pastagens nativas, é um alimento regional considerado identitário de um determinado grupo. O queijo serrano é um produto que independente de receita, inclui outros fatores fundamentais para sua produção como clima, temperatura, solo, altitude, vegetação, enfim, características que tornam a região serrana de Santa Catarina (SC) e os Campos de Cima da Serra do Rio Grande do Sul (RS) ambientes singulares na fabricação do QAS (CÓRDOVA, 2014).

2.2 Princípios de segurança na produção do QAS

Com o intuito de produzir um alimento seguro ao consumidor, o produtor deve se atentar a alguns princípios de segurança, como: a qualidade da matéria-prima, as Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação, o controle de tempo e temperatura, a maturação como barreira sanitária, o controle microbiológico, além da capacitação do produtor. Temas esses que serão abordados concomitantemente as análises microbiológicas e físico-químicas no QAS.

2.3 Processos bioquímicos de maturação

Durante o período de maturação, microrganismos e enzimas atuam nos queijos, promovendo transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas sobre os principais componentes do leite, como os açúcares, as proteínas, as gorduras. Esse

processo produz uma complexa combinação de novos compostos que influenciam diretamente sobre o sabor, o aroma, a textura, a consistência e a aparência dos queijos (EMATER, 2019).

Segundo ATASEVER e MAZLUM (2024) as reações bioquímicas podem ser categorizadas em primária e secundária. As reações primárias envolvem o metabolismo da caseína do leite em peptídeos e aminoácidos, a conversão da lactose em ácido láctico e a quebra de triglicerídeos em ácidos graxos. As reações secundárias resultam na formação de aminas, aldeídos, compostos de enxofre e CO₂ a partir de aminoácidos e ácidos orgânicos, com os ácidos graxos sendo posteriormente metabolizados em álcoois secundários.

A Cartilha de boas práticas de fabricação na produção do Queijo Artesanal Serrano (2019), elucida alterações bioquímicas primárias que ocorrem nos queijos durante o período de maturação, como: Lipólise - Reação química que transforma a gordura em compostos mais simples, denominados ácidos graxos, que são os responsáveis pelo desenvolvimento de aroma nos queijos. Os aromas desenvolvidos durante a maturação podem ser agradáveis, ou desagradáveis, dependendo dos agentes indutores da lipólise. Proteólise - Reação química que transforma a proteína em substâncias mais simples, como aminoácidos e peptídeos, os quais realçam o sabor e o aroma dos queijos durante a mastigação. A proteólise também altera a textura do queijo. Glicólise - Reação química de conversão da lactose em lactato durante a maturação. Esse processo tem pouco efeito sobre o desenvolvimento de aroma nos queijos, mas influencia diretamente na sua acidez.

A interação destes diversos fatores ocasiona mudanças secundárias que determinam as características sensoriais nos queijos, como explicam ATASEVER e MAZLUM (2024). Os eventos bioquímicos secundários são: Catabolismo de lactato e citrato, ambos servem como substrato para a formação do sabor no queijo. Cerca de 90% do conteúdo de citrato do leite é solúvel e amplamente perdido com o soro. Metabolizar as pequenas quantidades de citrato restantes após a produção do queijo geralmente resulta na formação de propriedades organolépticas; Catabolismo de ácidos graxos livre, particularmente os ácidos acético, octanoico e decanoico, conferem sabor diretamente ao queijo. No entanto, os subprodutos voláteis de seu catabolismo, como metil cetonas, álcoois secundários, aldeídos de cadeia linear, lactonas e ésteres, têm um impacto profundo no sabor do queijo; e Catabolismo de

aminoácidos livres que afeta significativamente o desenvolvimento do sabor e dos atributos texturais do queijo. Os principais produtos são aldeídos, álcoois, ácidos carboxílicos, aminas e compostos de enxofre.

Para essas transformações acontecerem é preciso maturar corretamente os queijos, o produtor precisa manter o ambiente de maturação equilibrado. Para o QAS, a temperatura ideal para a maturação situa-se entre 10 °C e 18 °C para favorecer o desenvolvimento dos microrganismos mesófilos, responsáveis por reações que geram produtos que caracterizam o queijo. E a umidade relativa do ar ideal situa-se entre 70% e 80% (EMATER, 2019). O Decreto nº1238 (SANTA CATARINA, 2017) declara que a maturação aceita até o momento é de no mínimo 60 dias, contudo poderá ser alterada quando trabalhos técnico-sanitários comprovados cientificamente demonstrarem a qualidade e inocuidade do QAS com menor período.

As transformações físico-químicas descritas anteriormente, associadas às condições ambientais e às práticas artesanais, moldam o perfil sensorial e microbiológico do QAS, tornando-o um produto complexo, onde coexistem microrganismos benéficos e potencialmente patogênicos. Por isso, compreender a microbiota envolvida e os parâmetros de segurança faz-se essencial para garantir a qualidade e inocuidade do produto.

2.4 Microbiologia e segurança dos alimentos em queijos artesanais

Sistemas alimentares englobam elementos sociais (pessoas) e naturais (ambientais) e suas complexas interações. Assim, no futuro, a fim de garantir a segurança alimentar mundial de todos, desde produtores às cadeias de abastecimento e consumidores, os setores público e privado deverão adotar uma abordagem de Saúde Única para que os alimentos sejam seguros para consumo (VARELLA, 2022).

Para garantir a segurança dos consumidores, o QAS, assim como qualquer outro queijo, precisa atender a determinados requisitos microbiológicos (EMATER, 2019). Indicadores da qualidade microbiológica são microrganismos ou produtos de seu metabolismo, cuja presença em determinados alimentos, e em certos níveis, costuma ser utilizada para avaliar a qualidade, estabelecendo a vida de prateleira do produto (PONTAROLO, 2014).

O Decreto nº 1238 (SANTA CATARINA, 2017) sinaliza parâmetros microbiológicos que devem ser avaliados para algumas bactérias relacionadas a problemas de saúde pública. Onde indica valores de tolerância de 5×10^2 UFC/g para Coliformes Termotolerantes, grupo em que a *E.coli* é pertencente e 1×10^3 UFC/g para *Staphylococcus* Coagulase positiva, grupo em que *S. aureus* é pertencente.

Contudo, a IN nº 161 (BRASIL, 2022) traz parâmetros atualizados e nomenclaturas mais relacionadas ao presente trabalho, por isso será usada como referência. Dessa forma, as amostras de QAS serão classificadas como seguras quando apresentarem valor máximo de 1×10^3 UFC/g para *Staphylococcus* coagulase positiva e *E. coli*, e ausência de enterotoxinas estafilocócicas.

Para evitar a presença dos microrganismos patogênicos estudados nesse trabalho é essencial que os queijeiros conheçam as Boas Práticas Agropecuárias (BPA) e as Boas Práticas de Fabricação (BPF). A IN nº 73 (BRASIL, 2019) estabelece o Regulamento Técnico de Boas Práticas Agropecuárias destinadas aos produtores rurais fornecedores de leite para a fabricação de produtos lácteos artesanais, alguns exemplos são: teste anual para diagnóstico de brucelose e tuberculose no rebanho, conforme preconizado no Plano Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose, realizar testes de detecção e controle de mastite clínica e subclínica de acordo com procedimentos pré-estabelecidos, ordenhador deve manter práticas adequadas de higiene pessoal, como unhas limpas, cortadas e sempre lavar as mãos e os braços antes do início do procedimento. A Cartilha de Boas Práticas de Fabricação na Produção de Queijo Artesanal Serrano, publicada pela Emater em 2019 elucida os cuidados necessários como construção de estruturas específicas para a fabricação, denominadas microqueijarias, que são ambientes adequados para a produção de queijos microbiologicamente seguros e livre de contaminantes físicos e químicos. Para que sejam preparados, manipulados e embalados em temperatura adequada (entre 10°C e 18°C) e umidade relativa do ar para a maturação (entre 70% e 80%).

A busca por diminuir o tempo de maturação dos queijos artesanais desperta interesse em pesquisadores de diversos países, o desafio está em fazê-lo sem alterar as características organolépticas do produto. Por isso a utilização de Bactérias ácido lácticas autóctones está sendo mais estudada.

Dessa forma, compreender a relação entre as BAL e os patógenos é fundamental para entender como a microbiota natural pode influenciar a qualidade e a segurança do QAS. Pois, entre os microrganismos indicativos e patogênicos mais relevantes para o controle de qualidade de queijos artesanais, destacam-se *E. coli* e *S. aureus*, frequentemente detectados em produtos elaborados com leite cru.

2.4.1 *Escherichia coli*

Assim, se faz necessário realizar análises que demonstrem a contaminação por *E. coli*, a fim de não chegarem ao consumidor final e ser causa de doenças veiculadas por alimentos. *E. coli* é uma bactéria pertencente à família *Enterobacteriaceae*, bacilo Gram-negativo, que fermenta a glicose e outros açúcares, e é oxidase-negativa. Também é classificada como catalase positiva, não formadora de esporos e anaeróbia facultativa. Essa família é formada por mais de 40 gêneros, os quais contêm mais de 180 espécies (QUINN, et al. 2019).

De acordo com Quinn et al. (2019), existem vários patótipos de *E. coli* que causam doenças entérica e sistêmicas em animais, como *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* produtora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* patogênica aviária (APEC), *E. coli* septicêmica, *E. coli* uropatogênica e subgrupos de origem ambiental associados a infecções locais. A colonização do trato intestinal de mamíferos por *E. coli* a partir de fontes ambientais ocorre logo após o nascimento, e esses microrganismos persistem como membros importantes da microbiota normal do intestino por toda a vida.

As cepas de *E. coli* possuem capacidade zoonótica e são transmitidas através do contato direto com os humanos, como visto na pesquisa que TARR et al. (2025) conduziram. Sendo uma análise epidemiológica genômica sobre a dinâmica multihospedeira de *E. coli* O157:H7 em uma região do Canadá com alta incidência e identificou múltiplas linhagens com evolução local transmitidas entre bovinos e humanos. Essas linhagens foram persistentemente associadas a doenças causadas por *E. coli* pelo período de 13 anos. Ou através do consumo de alimentos contaminados, onde Freitas et al. (2024) verificou cepas de EPEC, STEC e *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC) em queijo fresco a partir de leite cru.

Conforme Costanzo et al. (2020), durante a ordenha, o leite cru pode ser contaminado por fezes ou por portadores assintomáticos, permitindo a entrada de

cepas de *E. coli* e *S. aureus* no leite. A sobrevivência e a proliferação desses microrganismos no queijo dependem das condições intrínsecas da matriz, como pH e atividade de água, e da presença de microflora competidora como as BAL. (CHACÓN-FLORES ET AL., 2023).

Em estudo de avaliação da qualidade microbiológica de 62 amostras de QAS na Serra Catarinense, Pontarolo (2014) comparou dois períodos de maturação e o impacto da umidade na contagem de coliformes totais. Verificando 74,19% e 64,52% das amostras acima do limite disposto na legislação para coliformes totais em 14 e 28 dias de maturação, respectivamente. De mesma forma, encontrou irregularidade em amostras analisadas para *E. coli*, quantificando 45,16% e 48,39% das amostras de QAS com contagem superior ao aceitável no período de 14 e 28 dias de maturação, respectivamente.

2.4.2 *Staphylococcus aureus*

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram-positivos e catalase positiva, formam agregados celulares irregulares, semelhantes a cachos de uvas. Os estafilococos podem ser comensais na pele e membranas mucosas, alguns atuam como patógenos oportunistas, causando infecções piogênicas (QUINN et al., 2019).

As enterotoxinas estafilocócicas (EE) são proteínas globulares de baixo peso molecular, capazes de resistir à tratamentos térmicos e à meios ácidos (LOPES, 2023). São produzidas por algumas cepas de *S. aureus* que contaminam alimentos e são os verdadeiros agentes causadores de intoxicação alimentar estafilocócica (Le Loir e Hennekinne, 2014). Além disso, as enterotoxinas estafilocócicas são solúveis em água e soluções salinas, altamente estáveis e resistentes a condições ambientais que destruiriam facilmente a célula vegetativa produtora. Elas são resistentes a enzimas proteolíticas (por exemplo, tripsina, pepsina) e coagulantes (por exemplo, papaína, renina, quimotripsina), além de valores baixos de pH, persistindo durante o processo de fabricação de queijo e na acidez do trato gastrointestinal após a ingestão (LE LOIR E HENNEKINNE, 2014 IN AGUIAR, 2022)

A produção de EE é dependente de “quorum sensing” e ocorre quando a contagem de linhagens enterotoxigênicas atinge valores equivalentes ou superiores a 10^5 UFC/g e o ambiente apresenta condições favoráveis à expressão dos genes que

determinam a formação das toxinas, como pH entre 7 e 8, atividade de água superior a 0,87 e concentração de NaCl inferior à 12% (LOPES, 2023)

A detecção de “quorum sensing” é um processo pelo qual as bactérias sintetizam pequenas moléculas conhecidas como autoindutores, que são liberadas passiva ou ativamente no espaço extracelular. Essas moléculas se acumulam extracelularmente e sua concentração é detectada pelas bactérias por meio de receptores especializados. Ao atingir uma concentração limite, os autoindutores desencadeiam cascatas de transdução de sinal bem descritas em muitas espécies bacterianas e que regulam processos como formação de biofilme, virulência, competência e esporulação, ou nesse caso, a produção de enterotoxinas. (MORENO-GÁMEZ, HOCHBERG, VAN DOORN. 2023)

Na revisão realizada por Aguiar (2022) foi inoculado *S. aureus* produtor de EE (A, B, C) em amostras de leite e, em seguida, aplicaram tratamento térmico a temperaturas de 72, 85 e 92 °C por 15 segundos. Após o processamento térmico, as taxas de detecção de enterotoxinas estafilocócicas variaram de 45 a 87%. Dessa forma, demonstra que o tratamento térmico foi ineficaz na destruição de enterotoxinas.

Por isso, a utilização de microrganismos com potencial antimicrobiano, como as bactérias ácido lácticas (BAL), surge como alternativa natural para controlar esses patógenos e suas enterotoxinas.

2.4.3 Bactérias Ácido Lácticas

Por outro lado, dentro do QAS também crescem bactérias benéficas, chamadas de BAL. O termo se refere a um grupo diverso de bactérias Gram-positivas tradicionalmente classificadas com base em suas características fisiológicas (YILMAN et al, 2025). BAL pertencem principalmente à ordem *Lactobacillales*, classe *Bacilli*, que inclui bactérias não formadoras de esporos de gêneros como *Streptococos*, *Leuconostoc*, *Pediococos*, *Lactococos*, *Lactobacilos* e *Enterococos*. Essas bactérias são amplamente empregadas em várias indústrias, incluindo laticínios, panificação, carne, vegetais e produção de bebidas alcoólicas (YILMAZ, 2025). As BAL são bem conhecidas por seu papel na fermentação de alimentos, onde produzem ácido láctico como um produto metabólico primário (ALEKSANYAN et al., 2024). Durante a fermentação do ácido láctico, as BAL sintetizam uma gama diversificada de

compostos chamados pós-bióticos que contribuem para atributos sensoriais como sabor, cheiro, cor e textura, além de bacteriocinas com propriedades antimicrobianas, que inibem o crescimento de microrganismos.

Notavelmente, as bacteriocinas produzidas por BAL demonstraram atividade antimicrobiana e encontram aplicação em vários produtos alimentícios, incluindo alimentos prontos para consumo, laticínios e produtos pesqueiros (RATHOD et al., 2021). BAL desempenham um papel crucial na garantia da segurança dos alimentos e no prolongamento da vida útil ao inibir o crescimento de bactérias patogênicas e de deterioração (ALEKSANYAN et al., 2024).

No Brasil, um dos estudos mais recentes (Margalho, 2021) avaliou a bioprospecção de 220 BALs isoladas de queijos artesanais Serrano, do Araxá, do Campo das Vertentes, Canastra, Cerrado, Serro, Coalho, Manteiga, Caipira, Colonial, para seleção de potencial probiótico, aspectos de segurança e biopreservação usando microqueijos. Os resultados foram 20 isolados que satisfizeram os principais critérios *in vitro* para serem considerados probióticos e uma cepa que demonstrou a capacidade de reduzir a contagem de *S. aureus* em 21 dias de maturação.

As BAL podem ser adicionadas deliberadamente como culturas iniciais ou ocorrer como microbiota nativa natural do leite cru selecionada pelas condições do processo de fermentação, permitindo a diversidade microbiana e contribuindo para as diferenças significativas nas características organolépticas encontradas nos queijos de leite cru (TREJO-GONZÁLEZ L, et al. 2022). Por isso a importância de relacionar as BAL com análises físico-químicas (atividade de água, umidade) e análises tecnológicas (dureza, elasticidade, resiliência, mastigabilidade).

Existem mais de 30 tipos de queijos artesanais legalizados no Brasil, e cada um tem a sua sucessão microbiana de acordo com tempo de maturação, localização geográfica e processo de fabricação. O Queijo Minas, recebe o “pingo” que é a adição de cultura lática natural e tem como gênero mais abundantes: *Streptococcus* (32,7%), *Lactococcus* (30,6%), *Corynebacterium* (15,6%) (FERREIRA, 2020). Camargo et al. (2021) realizaram um estudo com o Queijo “Entre Serras” avaliaram quatro queijarias em sete períodos diferentes não produzindo um valor médio, contudo os gêneros mais abundantes foram *Lactococcus spp.*, *Streptococcus spp.* e *Klebsiella spp.* Seixas (2014) realizou sequenciamento de BAL em QAS onde identificou *Lactobacillus spp.*,

Lactococcus spp. e *Leuconostoc spp.* em 49,3%, 38,3%, 6,3% das amostras, respectivamente. Contudo, não foi estudada uma estimativa da dinâmica interna no QAS entre dias conhecidos de maturação, como será realizado no presente estudo a fim de conhecer melhor a sucessão microbiana.

De acordo com Trejo González et al. (2022), o Brasil é o país que mais produz artigos com estudo de bacteriocina até o momento da publicação. Cita-se nessa revisão que a Pediocina possui ação antilisterial, de acordo com grupo de estudo brasileiro acerca do Queijo Minas. Bem como, ação contra *E.coli* e *S.aureus* como visto em trabalho de pesquisadores mexicanos sobre o Queijo Cotija de Michoacán.

A ação das BAL e a sobrevivência de patógenos em queijos estão intimamente relacionadas às condições do produto e do ambiente de maturação, conhecidas como fatores intrínsecos e extrínsecos, que determinam a dinâmica microbiana durante o processo.

2.5 Fatores intrínsecos e extrínsecos no QAS

Os fatores intrínsecos e extrínsecos são características internas e externas, respectivamente, que atuam modificando a dinâmica de um alimento ou ser vivo, por exemplo. Com relação ao QAS, cita-se alguns fatores que podem ser moldados a fim de dificultar o crescimento de bactérias patogênicas como *E. coli* e *S. aureus* ou estimular que as BAL continuem em manutenção.

Conforme explicado por Hosseini, et al. (2024) há fatores extrínsecos que dificultam o crescimento de *E. coli* como: presença de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, em decorrência da produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio; temperaturas baixas de armazenamento, em torno de 4°C; substâncias como peróxido de hidrogênio podem regular negativamente genes de virulência; atmosferas modificadas com baixos níveis de oxigênio (2%) e altos níveis de dióxido de carbono (7%) podem inibir a expressão de genes relacionados à motilidade, adesão e estresse oxidativo em *E. coli*.

Além destes, Hosseini, et al. (2024) citam fatores intrínsecos como: pH baixo, resultado da produção dos ácidos acético, láctico e clorídrico, por exemplo; presença de glicose em baixas concentrações; contato com produtos das reações de Maillard; contudo alerta sobre a capacidade de tolerar condições osmóticas elevadas, mantendo a patogenicidade das cepas de *E.coli*

Ainda de acordo com estudo de Hosseini, et al. (2024), a redução da atividade de água, como o uso de sal, pode limitar o crescimento do *S. aureus*. Contudo, essa bactéria pode se adaptar a condições de pH ácido ou alcalino, o que pode influenciar sua sobrevivência e expressão de genes de virulência. Da mesma forma que acontece com a *E.coli*, a presença de probióticos como *Lactobacillus sp.* podem inibir o crescimento e regular negativamente a expressão de genes de virulência, como *sea*. Além de ser regulado pelas baixas temperaturas e pelo contato com desinfetantes químicos, que, no caso de *S.aureus* está relacionado ao benzil isotiocianato, capaz de atuar negativamente sobre a expressão da enterotoxina *sea*.

2.6 Interação dos microrganismos no QAS

Durante o período de maturação as bactérias presentes na microbiota do queijo interagem entre si de forma benéfica, prejudicial ou neutra. A depender da concentração da bactéria e do estado da matéria em que se encontram podem inibir o crescimento umas das outras e se beneficiar da mudança de pH, atividade da água e salinidade no decorrer do tempo. Essa interação é vista entre as espécies de BAL, *E.coli* e *S.aureus*.

As BAL desempenham papel fundamental no queijo pois são responsáveis pela acidificação durante a coagulação e maturação, pelas características sensoriais de textura, sabor e aroma além de sintetizarem compostos antimicrobianos como as bacteriocinas, que podem inibir o crescimento de microrganismos patogênicos e contribuir para a segurança do alimento (FERREIRA, 2020).

E. coli é uma das mais importantes e frequentes bactérias envolvidas em surtos de doenças de origem alimentar no Brasil (BRASIL, 2024). Algumas cepas podem causar diarreia em humanos através do consumo de leite e produtos lácteos, como o queijo, produzidos em condições inadequadas (Ribeiro et al., 2024). Através da competição por nutriente as BAL utilizam lactato produzem ácido lático e acidificam o meio, que é uma importante forma de inativar as bactérias patogênicas (Ströher et al, 2023).

S. aureus é frequentemente isolado em queijos artesanais e possui a capacidade de expressar genes codificadores de EE responsáveis por quadros de intoxicação alimentar. A produção dessas enterotoxinas geralmente ocorre quando a população bacteriana atinge níveis em torno de 10^5 UFC/g de alimento. Essas toxinas

são proteínas globulares termoestáveis e resistentes a condições ácidas, podendo permanecer ativas mesmo após tratamentos térmicos que eliminem as células bacterianas. Nesse contexto, a adoção rigorosa de BPF e BPA é fundamental para impedir que o microrganismo atinja populações críticas capazes de produzir toxinas. Embora as BAL possam contribuir para o controle de *S. aureus* por meio da redução do pH, competição por nutrientes e produção de bacteriocinas, sua ação é direcionada às células bacterianas viáveis. Uma vez produzidas, as EE não são inativadas pela atividade antimicrobiana das BAL, reforçando que o controle deve ser preventivo e baseado na limitação do crescimento microbiano antes que o limiar de 10^5 UFC/g seja alcançado.

Essas relações microbianas influenciam diretamente a segurança alimentar, as características sensoriais e mudanças físico-químicas do QAS. O conhecimento dessas interações permite selecionar culturas iniciadoras que mantenham a identidade regional do produto, inibindo as bactérias indesejáveis e garantindo um alimento inócuo ao consumidor.

3 REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa – IN nº 73, de 23 de dezembro de 2019. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2022

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa – IN nº 161, de 1º de julho de 2022. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2022.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e ambiente.** Surtos de doenças de transmissão hídrica e alimentar no Brasil: informe 2024. 2024. Apresentação em PowerPoint. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/situacao-epidemiologica/surtos-de-doencas-de-transmissao-hidrica-e-alimentar-no-brasil-informe-2024.pdf>>. Acesso em: 02 jan. 2026.

DALMINA, K. A.. **Avaliação do período mínimo de maturação para comercialização do queijo artesanal serrano de Santa Catarina.** 2018. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Lages, 2018. Disponível em: https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/4413/KARINE_ANDREZZA_DALMINA_174359957351_4413.pdf. Acesso em: 6 mai. 2025.

EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO RIO GRANDE DO SUL (EMATER/RS-ASCAR). Cartilha: boas práticas de fabricação na produção de queijo artesanal serrano. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2019. 38 p.

LOPES, L. R. Ocorrência de enterotoxina estafilocócica em queijo artesanal produzido na Serra Geral-MG. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2023.

MORENO-GÁMEZ, S.; HOCHBERG, M. E.; VAN DOORN, G. S. Quorum sensing as a mechanism to harness the wisdom of the crowds. **Nature Communications**, v. 14, p. 3415, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37950-7>

PONTAROLO, G. H. **Qualidade e inocuidade do queijo artesanal serrano, do leite e da água utilizados em sua produção, em Santa Catarina.** 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014. Disponível em: https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/4420/Disserta_o_MCA_Giane_HelenitaPontarolo174377562029844420.pdf Acesso em: 5 mai. 2025.

RIBEIRO, L.F. et al. Epidemiology, virulence and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from small brazilian farms producers of raw milk fresh cheese. **Microorganisms**. v.12, n.8, 1739, 2024. DOI: 10.3390/microorganisms12081739.

RIO GRANDE DO SUL (Estado). Decreto nº 54.199, de 24 de agosto de 2018. Dispõe sobre a produção e a comercialização do queijo artesanal serrano no Estado do Rio Grande do Sul. Diário Oficial do Estado do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 27 ago. 2018.

SANTA CATARINA (Estado). Decreto nº 1.238, de 19 de julho de 2017. Regulamenta a Lei nº 17.003, de 2015, que dispõe sobre a produção e a comercialização do queijo artesanal serrano no Estado de Santa Catarina. Diário Oficial do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 19 jul. 2017.

TARR, Gillian A. M. et al. Persistent cross-species transmission systems dominate Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 epidemiology in a high incidence region: a genomic epidemiology study. **eLife**, v. 13, e97643, 2025. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.976433>

TREJO-GONZÁLEZ, L., et al. Bacteriocins Produced by LAB Isolated from Cheeses within the Period 2009–2021: a Review. **Probiotics and Antimicrobial Proteins**. v.14,p.238-251, 2022. DOI: 10.1007/s12602-021-09825-0

VARELLA, A. C. Abordagem de saúde única na pesquisa. Embrapa, [s.l.], [s.d.]. Disponível em: <https://www.embrapa.br/visao-de-futuro/integracao-de-conhecimentos-e-de-tecnologias/sinal-e-tendencia/abordagem-de-saude-unica-na-pesquisa> . 2022. Acesso em: 7 nov. 2025.

4 OBJETIVOS

4.1 GERAL

Verificar a relação das Bactérias Ácido Lácticas com a presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* isolados de Queijo Artesanal Serrano entre os períodos de 0 e 63 dias de maturação.

4.2 ESPECÍFICO

- Identificar e quantificar a presença de *Escherichia coli* em queijos artesanais serrano (QAS) nos períodos entre 0 e 63 dias de maturação;
- Identificar e quantificar a presença de *Staphylococcus aureus* de QAS nos períodos entre 0 e 63 dias de maturação;
- Identificar e quantificar a presença de Bactérias Ácido Lácticas encontradas na microbiota de QSA, nos períodos entre 0 e 63 dias de maturação;
- Verificar a correlação entre as bactérias ácido lácticas, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* no QSA, nos períodos entre 0 e 63 dias de maturação;
- Pesquisar genes produtores de enterotoxinas de *Staphylococcus aureus* isolados no QAS.
- Verificar se o período de maturação e as bactérias ácido lácticas influenciam nas alterações físico-químicas do QSA.

5 INTERAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* NO QUEIJO ARTESANAL SERRANO NO PERÍODO DE 0 E 63 DIAS DE MATURAÇÃO

5.1 RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a interação entre BAL, *E. coli* e *S. aureus* isolados de QAS no período entre 0 e 63 dias de maturação. As amostras de QAS foram oriundas de queijarias certificadas, com inspeção oficial, no estado de Santa Catarina. Foram analisadas 120 amostras de QAS em sete (7) propriedades pertencentes as cidades de Lages, Bom Retiro, São Joaquim, Ponte Alta e Capão Alto, coletada semanalmente durante as dez (10) semanas de maturação. Os queijos foram embalados em embalagens estéreis e acondicionados em caixas isotérmicas para o transporte até o Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) da UDESC em Lages, para as análises quantitativas de *E. coli*, *S. aureus*, BAL e pesquisa de *S. aureus* produtores de enterotoxinas do tipo *seA*, *seC* ou *seE*. Observou-se que das 120 amostras analisadas, 40,8 % (49/120) apresentaram contaminação por *S. aureus* e 16,6 % (20/120) por *E. coli*, valores acima do permitido pela legislação. Contudo, a partir do 35º dia de maturação, houve uma tendência em diminuir a quantificação de microrganismos. Em 90,8% (107/120) dos queijos analisados houve quantificação significativa de BAL, entre 10,3 log UFC/g e 3,6 log UFC/g. Ainda, através da técnica de Reação de Polimerase em cadeia (PCR) identificou-se que 56% das amostras de *S. aureus* possuem os genes de enterotoxinas do tipo *seA*, *seC* ou *seE*.

Palavras-chave: enterotoxinas; contaminação.

5.2 INTRODUÇÃO

O QAS é um produto que independente de receita, inclui outros fatores fundamentais para sua produção como clima, temperatura, solo, altitude e vegetação. Características que tornam os Campos de Cima da Serra de SC e RS ambientes singulares na fabricação do queijo artesanal serrano. É um produto artesanal, de pequena escala, fabricado com o leite cru integral da propriedade, em sua maioria de

vacas de corte, tendo como base de alimentação as pastagens nativas, é um alimento regional considerado identitário de um determinado grupo (CÓRDOVA, 2014).

De modo geral, os queijos artesanais produzidos com leite cru estão associados a riscos microbiológicos devido à possível presença de bactérias patogênicas (SILVA, M. R. et al. 2024) Especificamente na região sul do Brasil, pesquisas realizadas sobre o queijo artesanal serrano indicam ocorrência de *E. coli* e *S. aureus* relacionada ao período de maturação (MELO, 2013) (PONTAROLO, 2014).

Os isolados de *E. coli* apresentam reconhecida capacidade zoonótica, com transmissão ocorrendo tanto por contato direto entre animais e humanos quanto pela via alimentar. No estudo conduzido por Tarr et al. (2025), por meio de análise epidemiológica genômica, foi demonstrada a circulação multihospedeira de *E. coli* O157:H7, evidenciando linhagens com evolução local e transmissão persistente entre bovinos e humanos ao longo de vários anos, o que reforça o papel dos ruminantes como reservatórios. De forma complementar, Ribeiro et al. (2024) identificaram em queijo fresco produzido com leite cru a presença de patótipos diarreiogênicos (EPEC e STEC) e de *E. coli* patogênica extraintestinal (ExPEC), demonstrando que produtos lácteos podem atuar como veículos de disseminação tanto de cepas entéricas quanto de linhagens associadas a infecções sistêmicas.

Já os *Staphylococcus* spp. podem ser comensais na pele e membranas mucosas, alguns atuam como patógenos oportunistas, causando infecções piogênicas (QUINN et al., 2019). As EE são proteínas globulares de baixo peso molecular, capazes de resistir a tratamentos térmicos e a meios ácidos (LOPES, 2023). São produzidas por algumas cepas de *S. aureus* que contaminam alimentos e são os verdadeiros agentes causadores de intoxicação alimentar estafilocócica (Le Loir e Hennekinne, 2014). Tanto as bactérias patogênicas quanto a presença de cepas enterotoxigênicas em queijos artesanais brasileiros são extremamente preocupantes. Ambas as situações devem ser controladas para que consumir esse tipo de produto não seja um risco potencial à saúde pública.

As BAL pertencem principalmente a ordem *Lactobacillales*, classe *Bacilli*, que inclui bactérias não formadoras de esporos de gêneros como *Streptococos*, *Leuconostoc*, *Pediococos*, *Lactococos*, *Lactobacilos* e *Enterococos*. Essas bactérias são amplamente empregadas em várias indústrias, incluindo laticínios, panificação,

carne, vegetais e produção de bebidas alcoólicas (YILMAZ, 2025). Por meio da fermentação do ácido láctico, as BAL sintetizam uma gama diversificada de compostos que contribuem para atributos sensoriais como sabor e textura, além de compostos com propriedades antimicrobianas, que impedem o crescimento de microrganismos (AHANSAZ, 2023).

Neviani et al. (2025) explanam sobre como durante o período de maturação as bactérias presentes na microbiota do queijo interagem entre si de forma benéfica, prejudicial ou neutra. A depender da concentração da bactéria e do estado da matéria em que se encontram podem inibir o crescimento umas das outras e se beneficiar da mudança de pH, atividade da água e salinidade no decorrer do tempo.

Apesar dos avanços no conhecimento sobre a microbiota de queijos artesanais, ainda são escassos os estudos que avaliaram simultaneamente a presença de bactérias patogênicas, benéficas e o tempo de maturação em queijo artesanal serrano, evidenciando a necessidade de investigações que contribuam para a segurança e valorização desse produto. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi verificar a correlação entre BAL, *E. coli* e *S. aureus* isolados de QAS em queijarias certificadas em SC, nos períodos entre 0 e 63 dias de maturação. Além de verificar a presença de genes de enterotoxinas estafilocócicas em isolados de *S. aureus*.

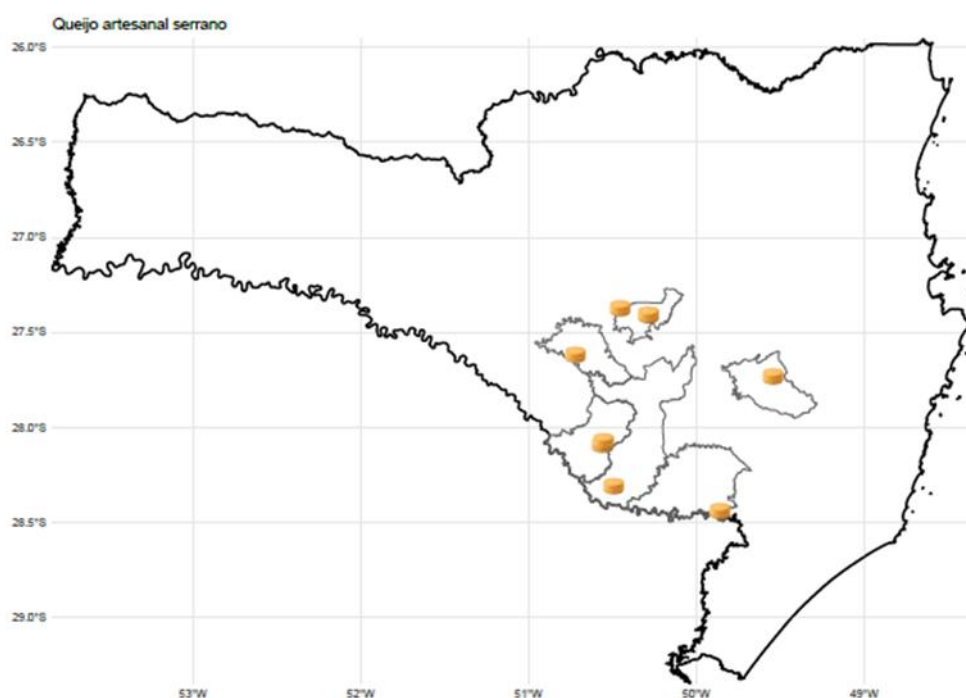
5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 Seleção das propriedades e amostragem

A área territorial em que o QAS é produzido possui características edafoclimáticas únicas, atuando diretamente nas características peculiares do produto. Localiza-se entre as coordenadas geográficas de latitudes 27°13'15,683"S e 29°33'22,896"S e as longitudes 51°42'20,251"W e 49°13'49,955"W, com área total de 34.372,7 km². Compreende as regiões do Planalto Sul Catarinense e Nordeste do Rio Grande do Sul (VIEIRA; DORTZBACH, 2017). No entanto, esse estudo foi executado exclusivamente em território catarinense. A pesquisa foi realizada em sete (7) queijarias certificadas, localizadas nas cidades de Lages, Bom Retiro, São Joaquim,

Ponte Alta e Capão Alto (Figura 1) que foram selecionadas por possuírem o selo oficial de Indicação Geográfica (IG).

Figura 1 Localização das 7 queijarias certificadas pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, localizadas nas cidades de Lages, Bom Retiro, São Joaquim, Ponte Alta e Capão Alto.



Fonte: Própria autoria (2026)

Nas queijarias foram coletadas amostras de QAS de aproximadamente 500 gramas, em diferentes tempos de maturação: 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 54 e 63 dias e em dois períodos, na primavera de 2023 e de 2024, para a pesquisa de *E. coli*, *S. aureus* e BAL. No primeiro ano (2024) participaram do projeto sete (7) queijarias, sendo recebidas sete (7) amostras semanais durante 10 semanas, totalizando 70 amostras de QAS. Já no segundo ano (2025), apenas cinco (5) propriedades participaram do projeto, sendo recebidas cinco (5) amostras por 10 semanas, totalizando 50 amostras de QAS. Desta forma, foram analisadas um total de 120 amostras de QAS durante todo o estudo. Ainda, 55 cepas de *S. aureus* foram testadas para genes produtores de enterotoxinas A, C e E.

Os queijos foram embalados em embalagens estéreis, identificados e acondicionados em caixas isotérmicas para o transporte ao laboratório de bacteriologia do Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) da UDESC em Lages, para as análises quantitativas de *E. coli*, *S. aureus*, BAL e pesquisa de genes para enterotoxinas nos isolados de *S. aureus*.

5.3.2 Análise microbiológica

Para identificação e quantificação de *E. coli* e *S. aureus* foram utilizados Petrifilm® específicos para estes microrganismos. Para isso, foram pesados 25 g de cada amostra do QAS, homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada 1%. Após foi realizada diluição decimal seriada até 10^5 em tubos contendo 9mL de solução salina (0,85%) estéril para a contagem. Para isso, inoculou-se 1mL da amostra nas diluições 10^1 , 10^3 e 10^5 em Petrifilm®, incubada a 35°C por 48h para *E. coli* e 24h para *S. aureus*. Os isolados de *S. aureus* foram inoculados em caldo Brain Heart Infusion (BHI) e cultivados a 37°C por 24 horas, conservados a -20°C, para posterior pesquisa de genes de enterotoxinas.

Para identificação e quantificação BAL foi baseada na metodologia realizada por Tietz (2017) com modificações. Foram pesados 25 g de cada amostra do QAS, homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada 1%. Após realizou a diluição decimal seriada até 10^9 em tubos contendo 9mL de solução salina (0,85%) estéril. Para a contagem foi realizada a técnica de “spread plate” em ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS), onde inoculou-se 0,1mL da amostra diluída em 10^7 , 10^8 e 10^9 e espalhada com auxílio da alça de Drigalski. Após as placas foram incubadas em anaerobiose a 37°C por 72h e realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

5.3.3 Pesquisa de genes de enterotoxinas em isolados de *S. aureus*

5.3.3.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada conforme descrito em Parussolo, Sfaciotte, Dalmina (2019). As cepas de *S. aureus* foram reativadas em caldo BHI e incubadas a 37°C por 24 horas. Posteriormente, o volume de 200 µl de cada isolado foi transferido

para microtubo, sendo misturados com 500 µl da solução de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), incubado em banho maria a 56 °C, por 30 minutos. Após esse período, os microtubos foram centrifugados a 12.000 rpm por 10 minutos, sendo que ao término, o sobrenadante foi transferido para um novo microtubo estéril. Então adicionou-se 600µl de álcool 70 °, passando por uma nova etapa de centrifugação, a 13.500 rpm, por 20 minutos. Ao término da centrifugação, o sobrenadante foi gentilmente descartado por inversão, aguardando a completa secagem do material. Somente então foi adicionado 200 µl de água Milli-Q. A mensuração da concentração de DNA realizou-se pelo equipamento Nanodrop (Thermofisher, Waltham, USA). Para a técnica de PCR, a concentração de DNA foi ajustada para 15-100 ng/µL

5.3.3.2 Reação da Cadeia de Polimerase (PCR)

Para os isolados de *S. aureus* avaliou-se a presença de genes que codificam as enterotoxinas A , C e E, conforme Melo (2020). Para isso, utilizou-se a técnica de PCR - Multiplex com modificações. As reações foram constituídas de 2 ng de DNA extraído, 0,4 pmol de cada primer, 200mM de cada dNTP, ajustando o volume final de 25 uL. A desnaturação ocorreu a 94°C por 5 minutos, seguido de 30 ciclos com as etapas de desnaturação a 94 °C por 2 minutos, anelamento a 56 °C por 2 minutos e extensão a 72 °C por 3 minutos, terminando em uma etapa final de extensão a 72 °C por 7 minutos. *S. aureus* ATCC 13565 (*sea*), ATCC 19095 (*sec*) e ATCC 27664 (*see*) foram usados como controle positivo (Tabela 1). Os amplicons de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 2%, realizada a 100 V e 300 mA por 40 minutos, e a visualização das bandas foi efetuada sob luz ultravioleta.

Tabela 1 Sequência de primers para identificar enterotoxinas

Primer	Sequência 5'-3'	Tamanho do amplicon	Referência
sea	F – GGT TAT CAA TGT GCG GGT GG R – CGG CAC TTT TTT CTC TTC GG	102pb	Melo et al. (2020)
sec	F - AGA TGA AGT AGT TGA TGT GTA TGG R – CAC ACT TTT AGA ATC AAC CG	451pb	
see	F – AGG TTT TTT CAC AGG TCA TCC R – CTT TTT TTT CTT CGG TCA ATC	209pb	

5.3.4 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software R. A organização e manipulação dos dados foram conduzidas com o pacote dplyr, enquanto a visualização gráfica foi realizada por meio do pacote ggplot2. Para a modelagem da dinâmica microbiana ao longo do tempo de maturação, foram ajustados modelos lineares e exponenciais de decaimento utilizando funções do pacote MASS. O modelo linear foi empregado quando os dados apresentavam tendência aproximadamente linear após transformação logarítmica, enquanto o modelo exponencial foi utilizado para descrever o comportamento não linear de redução microbiana, mais compatível com processos biológicos de inativação. A escolha do modelo leva em conta a qualidade do ajuste estatístico e a coerência microbiológica dos parâmetros estimados.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 120 amostras de QAS analisadas neste estudo, foram obtidos 20 isolados de *E. coli* com valores acima do permitido pela IN nº 161 (BRASIL, 2022). Dessa forma 16,6% amostras de QAS possuíam mais de 1×10^3 UFC/g de *E. coli*, equivalente a 3 log UFC/g. Os dados referentes a frequência e interação com tempo de maturação encontram-se na tabela 2. Foi calculada média das doze amostras semanais.

Tabela 2 Frequência e média de *E. coli* em QAS em 2024 e 2025.

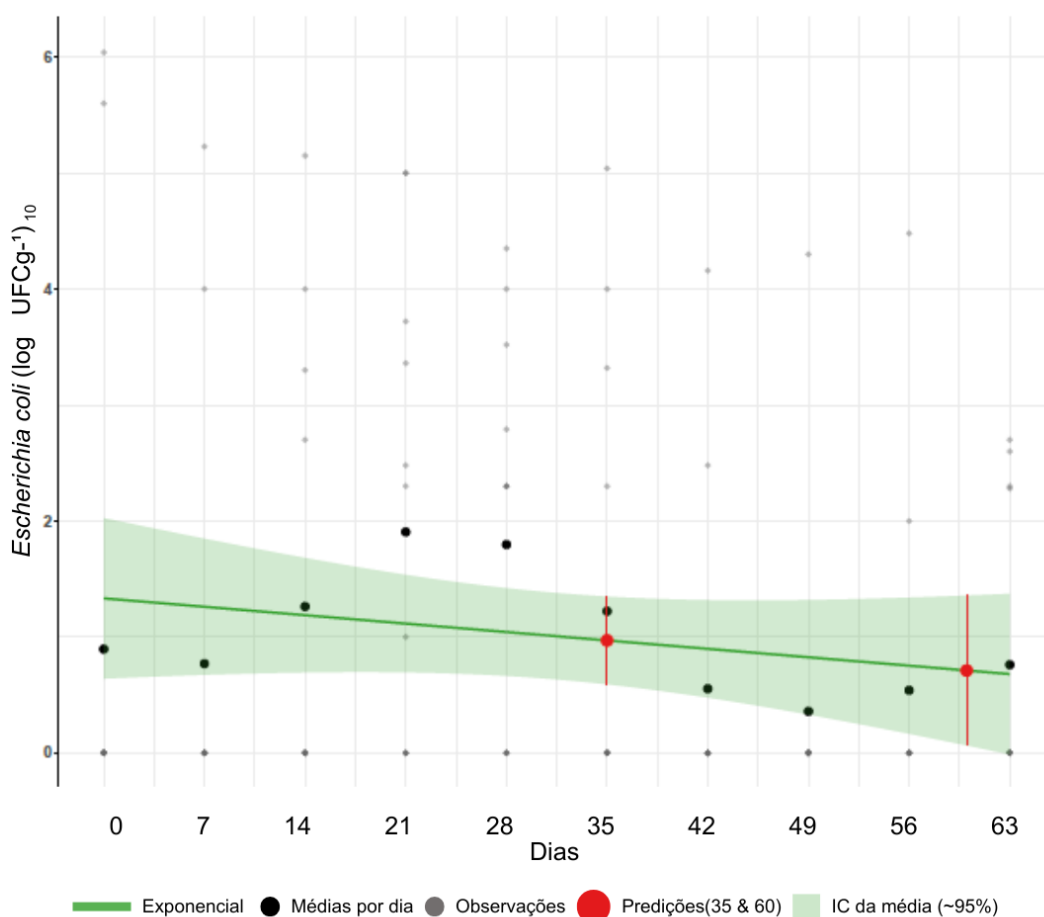
Período de maturação	<i>Escherichia coli</i>	Média (log UFC/g)
0 dias	2/12 (16,6%)	5,10
7 dias	2/12 (16,6%)	4,14
14 dias	3/12 (24,9%)	4,07
21 dias	4/12 (33,3%)	4,20
28 dias	3/12 (24,9%)	3,49
35 dias	3/12 (24,9%)	4,01
42 dias	1/12 (8,3%)	3,09
49 dias	1/12 (8,3%)	3,22
56 dias	1/12 (8,3%)	3,40
63 dias	0/12 (0%)	0
Total	20/120 (16,6%)	3,47

Fonte: Própria autoria (2025)

‘ Observa-se que houve redução significativa da população de *E.coli* a partir de 35º dias de maturação, pois a partir desse dia foi identificada apenas uma amosta com

valor acima do permitido por período, sendo possível visualizar a ausência total do microrganismo com 63 dias. Através da análise de regressão linear (figura 2) pode-se avaliar a relação entre a quantificação média de *E.coli* e os dias de maturação do queijo. O valor do coeficiente de regressão encontrado, $-0,010367$, indica leve tendência ao decaimento, porém não mostrou uma relação estatisticamente significativa ($p= 0.232$). Ou seja, o tempo de maturação isoladamente não explica de forma robusta a variação desse microrganismo patogênico.

Figura 2 Linha de tendência de Escherichia coli (log10 UFCg⁻¹) durante período de 0 e 63 dias de maturação do Queijo Artesanal Serrano



Fonte: Própria autoria (2026)

Estudo desenvolvido por Hosseini et al. (2024), descreve alguns fatores que inibem *E.coli* como as BAL, com foco na presença do gênero *Lactobacillus* em decorrência da produção de ácidos orgânicos, bacteriocinas e peróxido de hidrogênio. A presença de BAL consequentemente impacta no pH, tornando-o mais ácido e auxiliando na inibição. Felix et al. (2025), visualizaram outra interação importante a

partir de dados analisados em queijo coalho, onde amostras com baixa atividade de água e alta concentração de sal apresentavam menor número de cepas de *E.coli*, por isso, a importância de realizar bem as etapas de dessoragem e salga, pois são dois elementos críticos na permanência desse patógeno no QAS.

Da mesma forma, 49 amostras de QAS foram isolados *S. aureus* acima do valor permitido pelo IN nº 161 (BRASIL, 2022). Assim, 40,8% das amostras possuíam mais de 1UFC x 10³/g (equivalente a 3,00 log UFC/g) na quantificação de *Staphylococcus* coagulase positiva, grupo em que a *S. aureus* é pertencente. Os dados referentes a frequência e interação com tempo de maturação encontram-se na tabela 3.

Tabela 3 Frequência e média de S. aureus em QAS em 2024 e 2025.

Período de maturação	<i>Staphylococcus aureus</i>	Média (log UFC/g)
0 dias	11/12 (91,63%)	6,10
7 dias	9/12 (74,9%)	5,93
14 dias	7/12 (58,3%)	5,28
21 dias	4/12 (33,3%)	4,61
28 dias	6/12 (49,9%)	4,78
35 dias	3/12 (24,9%)	4,13
42 dias	4/12 (33,3%)	5,22
49 dias	3/12 (24,9%)	4,74
56 dias	1/12 (8,3%)	4,40
63 dias	1/12 (8,3%)	4,85
Total	49/120 (40,8%)	5,05

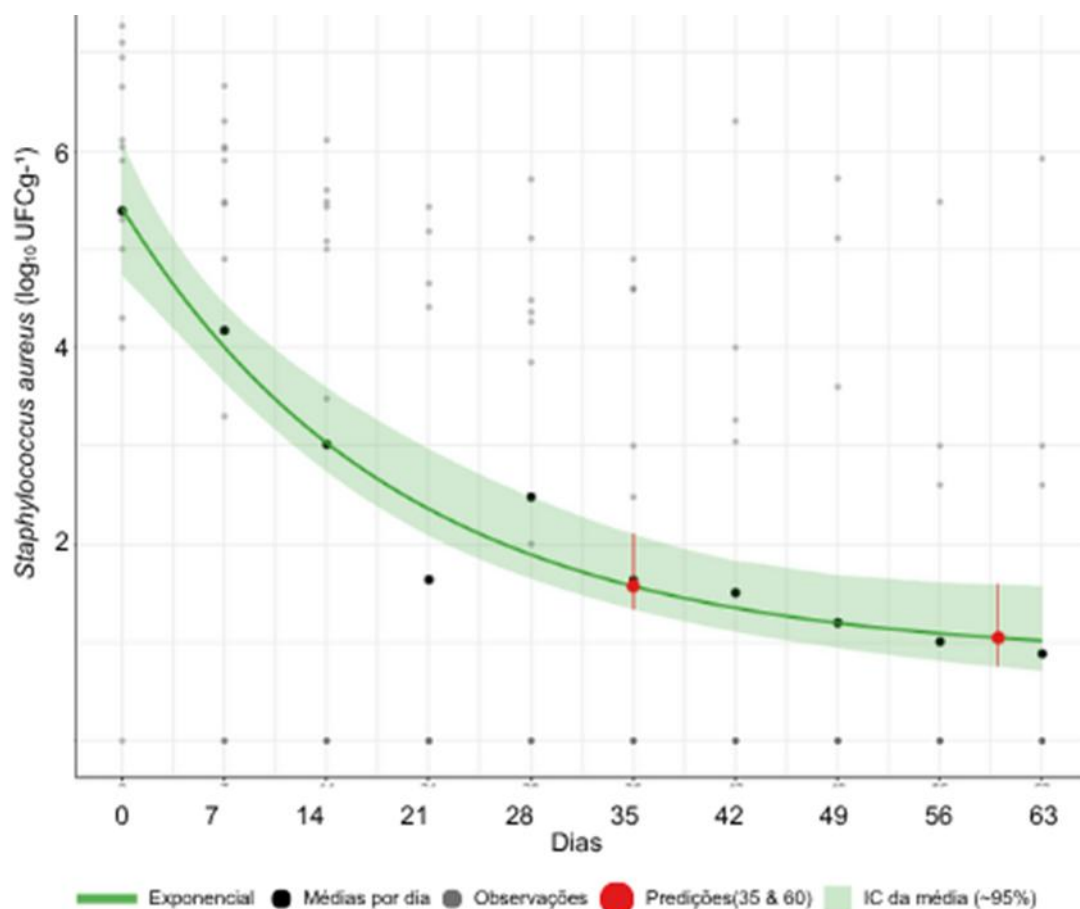
Fonte: Própria autoria (2025)

Observa-se que a frequência de *S.aureus* no queijo era elevada nos primeiros dias de maturação (11/12) mas diminuiu de forma significativa com 63 dias de maturação (1/12). Diferentemente da *E.coli*, o *S.aureus* apresenta alta tolerância ao estresse por salinidade permanecendo viável em alimentos com até 20% de NaCl e com baixa atividade de água (FENG et al., 2022). Contudo um fator importante é a inibição do patógeno por meio da ação antimicrobiana das BAL presentes no queijo, relatado por Aleksanyan et al. (2024). Afirmativa que corrobora com a figura 3, onde os dados indicam um modelo de decaimento exponencial para *S.aureus*

A previsão formada pela linha de tendência estatística para o 35º dia mostra uma diminuição na quantidade de *S.aureus* com valor de 1.57 log UFC/g. Embora tenha sido observada uma contagem média de *S. aureus* de 4,13 log UFC/g aos 35º dias de maturação, a estimativa estatística indicou uma tendência global de declínio ao longo do tempo. Esses resultados são compatíveis, uma vez que o valor observado

representa um ponto específico do processo, enquanto o modelo descreve o comportamento médio da população microbiana ao longo da maturação. Esse valor indica que apenas o tempo de maturação não é suficiente para baixar a quantificação de *S. aureus* dentro dos limites legais, fato que reforça a importância de aprimoras as BPA e BPF.

Figura 3 Decaimento exponencial de *Staphylococcus aureus* ($\log_{10}$ UFC·g⁻¹) durante período de 0 e 63 dias de maturação em Queijo Artesanal Serrano.



Fonte: Própria autoria (2026)

Al-Nabulsi *et al.* (2020) realizaram análise de queijo branco em diferentes porcentagens de sal (0%, 10%, 15%), concluiu que a relação entre a concentração de NaCl e a atividade de água no crescimento de *S. aureus* é inversamente proporcional. Ou seja, o melhor resultado foi obtido em 15% de sal e o aumento da concentração de NaCl diminui a atividade de água, reduzindo, consequentemente, o crescimento de *S. aureus* e a produção de enterotoxina. Em contrapartida, não há uma determinação na legislação atual com relação a porcentagem de sal que deve ser adicionada no QAS. Contudo, Ceolin *et al.* (2025) verificaram que o nível de cloreto em QAS de 30

dias de maturação variou entre 0,0470 e 3,040 g/100g, ou seja, menos que 1%. Demonstrando que provavelmente essa relação não explica o decréscimo de *S.aureus* no QAS com a receita atual.

Tendo em vista a preocupação com intoxicações alimentares, pesquisou-se a presença de genes para produção de EE s dos isolados de *S. aureus* do QAS. Foram analisados 55 isolados de *S. aureus*, dentre eles 31 apresentaram pelo menos um dos genes de enterotoxinas investigados (*sea*, *sec* ou *see*), correspondendo a 56% do total de isolados. Essa porcentagem demonstra que mais da metade demonstram potencial genotípico de produção de enterotoxinas envolvidas em intoxicações alimentares. Corroborando com os achados de Margalho *et al.* (2023) que avaliou a presença de genes de enterotoxinas em 585 cepas de *S. aureus* coletadas dos queijos artesanais brasileiros: Coalho, Manteiga, Colonial, Serrano, Caipira, Marajó e queijos artesanais de Minas. Foram pesquisados os tipos *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *sei*, *sej*, *ser* e 92,6% das cepas apresentava pelo menos um dos genes. O número é elevado e causa preocupação, uma vez que as enterotoxinas não respondem de maneira satisfatória ao tratamento térmico, no caso dos queijos que permitem esse controle microbiológico.

Os genes clássicos de enterotoxinas foram encontrados em isolados coletados em diferentes dias de maturação, variando do dia 0 até o 56º dia. A associação entre a presença de genes de enterotoxinas e potencial epidemiológico de intoxicação alimentar está documentada em pesquisas que investigam tanto o componente genotípico quanto os fatores ambientais que influenciam a expressão desses genes. Wiśniewski *et al.* (2024) sinaliza que a expressão de enterotoxinas por *S. aureus* depende de fatores como carga bacteriana crítica, condições de temperatura e tempo de armazenamento, e atividade de água no produto. Mesmo que a presença de genes não assegure toxicidade imediata, ela representa um marcador de risco significativo quando condições permissivas de crescimento bacteriano ocorrerem durante a produção ou conservação do alimento. Cardoso (2013) realizou um estudo com queijo Serro Minas, também produzido com leite cru, e visualizou que duas amostras do mesmo produtor, uma com 30 dias de maturação e uma com 60 dias de maturação, continham a enterotoxina seC. Embora a quantidade de estafilococos coagulase-positivos no queijo com 60 dias fosse inferior a 3 log UFC/g, a seC foi encontrada em uma amostra de queijo. A hipótese levantada é que essa enterotoxina provavelmente

se formou no início do período de maturação, quando a quantidade de estafilococos coagulase-positivos no queijo era alta. O resultado sugere que o processo de maturação não é eficaz na eliminação de enterotoxinas estafilocócicas do queijo.

Em contrapartida, de fato há estudos indicando que a presença de um gene em *Staphylococcus* spp. não é sinônimo da capacidade de produção de enterotoxinas. Ampliando a perspectiva sobre o assunto, Wiśniewski et al. (2024) realizou um trabalho na Polônia onde isolou 36 amostras com genes que codificam enterotoxinas estafilocócicas clássicas e apenas 1 dos isolados testados (2,8%) teve essa capacidade confirmada. Tratava-se de um isolado de *S. aureus* obtido de uma amostra de queijo de leite cru, que possuía o gene para produção de seA e seD. Verificou-se que esse isolado possuía a capacidade de produzir apenas a enterotoxina seD.

Em relação à pesquisa de BAL, as 120 amostras analisadas obtiveram crescimento do microrganismo. Como não há tipificado na legislação a quantidade mínima de BAL necessárias no QAS, todos os valores fizeram parte da mensuração das médias (tabela 4). Nota-se que houve aumento expressivo BAL até o 14º dia de maturação, esse comportamento é típico da fazer exponencial inicial e favorecido pelo microbioma do queijo com alta atividade de água, pH alcalino, e alta disponibilidade de lactose.

Tabela 4 Média de BAL em QAS em 2024 e 2025.

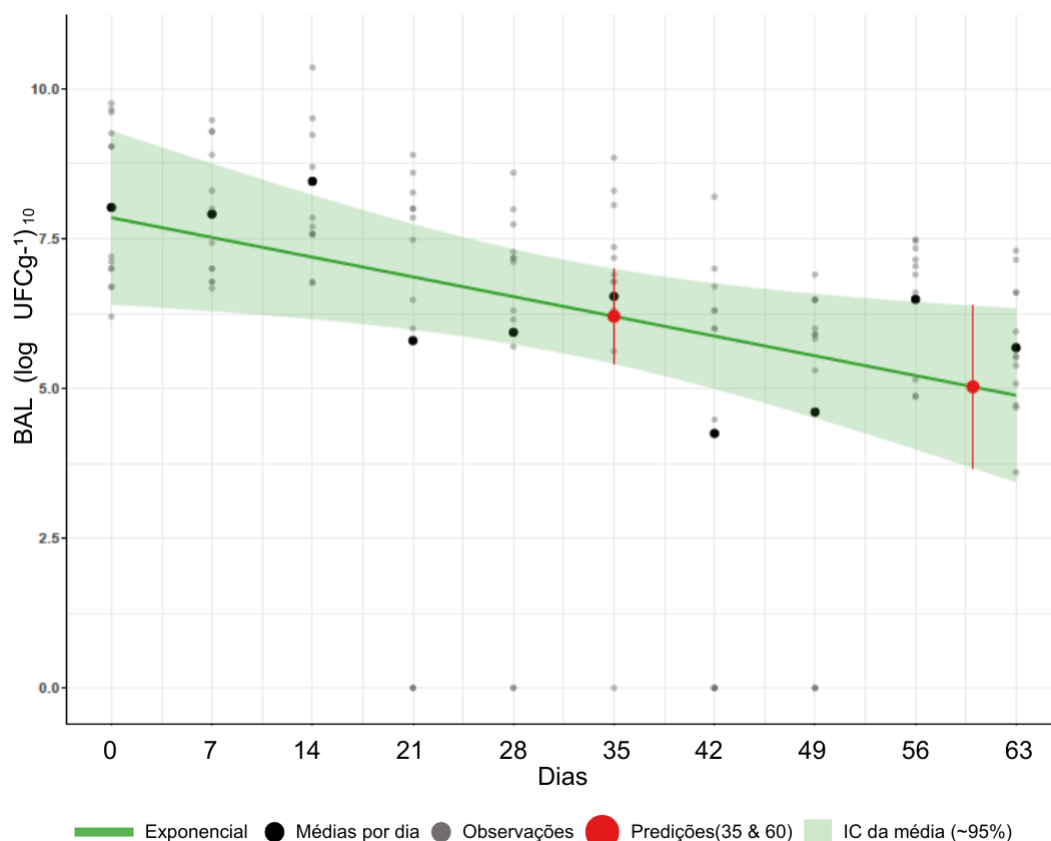
Período de maturação	Médias de crescimento bacteriano (log₁₀ UFC·g⁻¹)
0 dias	9,07
7 dias	8,83
14 dias	10,80
21 dias	8,11
28 dias	7,68
35 dias	7,95
42 dias	7,18
49 dias	6,23
56 dias	7,02
63 dias	6,53

Fonte: Própria autoria (2026)

Nesse estudo também foi analisada a dinâmica de manutenção de BAL durante o período de maturação, a figura 4 demonstra a capacidade de se manterem em altos

valores no QAS. Uma vez que a média foi de 9,07 ($\log_{10}$ UFC·g⁻¹) no dia 0 e de 6,53 UFC/g ($\log_{10}$ UFC·g⁻¹) no dia 63.

Figura 4 Linha de tendência de BAL ($\log_{10}$ UFC·g⁻¹) durante período de 0 e 63 dias de maturação em Queijo Artesanal Serrano.



Fonte: Própria autoria (2026)

Na tabela 5 é possível visualizar que independentemente da quantidade de dias de maturação, nenhum período apresentou maior número de *E. coli* ou *S. aureus* com relação a BAL.

Na produção do QAS os principais patógenos que precisam ser controlados por legislação são *E. coli* e *S. aureus*. Felizmente, as BAL possuem várias características desejáveis para auxiliar na inocuidade do produto em que se encontram, aumentando a segurança alimentar e prolongando sua vida útil. Essas características são propriedades inibitórias que dependem da espécie de BAL, da carga bacteriana patogênica e dos processos sanitários como BPF e BPA.

Tabela 5 Comparativo de médias de crescimento bacteriano em E. coli, S. aureus e BAL em QAS.

Período de maturação	Médias de crescimento bacteriano ($\log_{10}$ UFC·g ⁻¹)		
	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	BAL
0 dias	5,10	6,60	9,07
7 dias	4,14	5,93	8,83
14 dias	4,07	5,28	10,80
21 dias	4,20	4,61	8,11
28 dias	3,49	4,78	7,68
35 dias	4,01	4,13	7,95
42 dias	3,09	5,22	7,18
49 dias	3,22	4,74	6,23
56 dias	3,40	4,40	7,02
63 dias	0	4,85	6,53

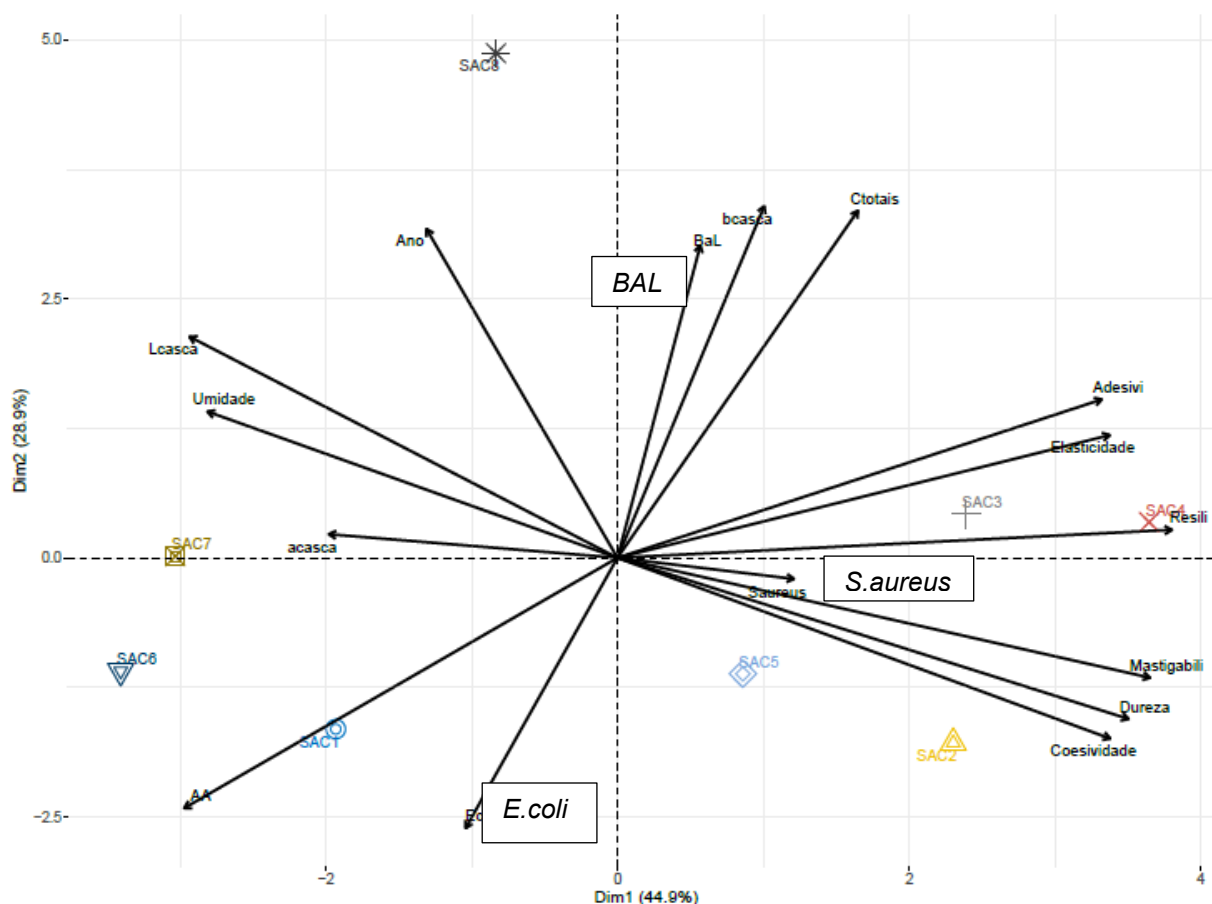
Fonte: Própria autoria (2026)

A interação das bactérias foi realizada através da análise de componentes principais (PCA). Na figura 5 são visualizadas 16 variáveis pois o presente artigo faz parte de um projeto em que foram coletados dados amostrais adicionais como características da casca, coliformes totais, atividade de água, mastigabilidade, dureza, entre outros. Porém, as análises se concentram na interação entre *E. coli*, *S. aureus* e BAL, mesmo que essas características físico-químicas embasem algumas explicações. De acordo com a estatística, a Dimensão 1 equivale a 44,9% e a Dimensão 28,9%, juntas explicam 73,8% da variabilidade total.

O vetor de BAL está situado no quadrante superior direito, é relativamente longo e tem forte carga positiva em Dim1 e Dim2. Possui oposição clara com *E.coli*, pois são vetores opostos, sugerindo que onde há maior crescimento de BAL tende a haver ambiente mais fermentativo, ácido e desfavorável à *E.coli*. Em concordância, Pujato *et al.* (2024) comenta que as BAL são essenciais na fermentação do leite, produzem uma variedade de compostos antimicrobianos, notadamente bacteriocinas, que exibem atividade antimicrobiana de amplo ou estreito espectro, sendo, portanto, promissoras na conservação de alimentos. Nesse mesmo pensamento, Coelho, Malcata e Silva (2022) citam que além das bacteriocinas, os compostos

antibacterianos produzidos por BAL incluem vários ácidos orgânicos, como ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico e ácido propiônico, bem como outros compostos como diacetil, acetona, peróxido de hidrogênio e reuterina.

Figura 5 Análise de componentes principais (PCA) em QAS



Ctotaís = coliformes totais; Adesivi = adesividade; Resili = resiliência; Mastigabi = mastigabilidade; Umidade = teor de umidade; Aa = atividade de água; SAC = queijaria, Lcasca = luminosidade casca; bcasca = variação cromática casca. Fonte: Própria autoria (2026)

O vetor *E.coli* está no quadrante inferior esquerdo, com carga negativa em Dim1 e Dim2. Ao lado está posicionado o vetor de atividade de água (AA), indicando correlação positiva, onde a água disponível no queijo torna propício o crescimento de *E.coli*. A situação contrária também é verdadeira, pois no trabalho de Chacón-Flores et al. (2023) com queijo Chihuahua se constatou que a redução da atividade de água da coalhada o mais rápido possível apresentou-se como a ferramenta mais eficaz para inibir o desenvolvimento de *E.coli* durante o processo de fabricação do produto.

O vetor *S. aureus* está no quadrante inferior direito, indicando correlação negativa moderada as BAL no eixo Dim1 e associação com *E. coli* no eixo Dim2. Indica

que ambientes com valor de BAL elevados podem não favorecer o crescimento de *S. aureus*. Contudo, a seta curta demonstra que a variável é pouco explicada pelas dimensões, porém continua sendo importante biologicamente.

Diante de seus benefícios, as BAL são classificadas como organismos probióticos uma vez que podem proteger o hospedeiro de doenças intestinais inibindo a produção de toxinas, produzindo compostos antibacterianos, bloqueando sítios de adesão de patógenos, competindo por nutrientes e estimulando a imunidade (COELHO; MALCATA. SILVA, 2022).

Um dos compostos relevantes para conhecer a relação entre bactérias é o peróxido de hidrogênio, produzido pela maioria das BAL na presença de oxigênio. Como as BAL são incapazes de produzir catalase, elas não podem degradar o peróxido de hidrogênio, então ele se acumula no meio, onde exerce um forte efeito oxidante na membrana lipídica, enquanto destrói as estruturas moleculares básicas das proteínas celulares dos organismos alvo. A ação bactericida do peróxido de hidrogênio demonstrou ser eficaz na redução de bactérias deteriorantes e patógenos como *E. coli* e *S. aureus* (COELHO; MALCATA. SILVA, 2022). O que ajuda a explicar o número decrescente das cepas desses patógenos em QAS pelo contato com as BAL durante o período de maturação. Contudo, nas condições que esse estudo foi realizado não é possível reduzir o tempo de maturação do QAS. No decorrer do tempo é possível visualizar uma diminuição na contagem bacteriana indesejada, porém as BPA e BPF precisam ser intensificadas a fim de manter a segurança do produto final.

5.5 CONCLUSÃO

O Queijo Artesanal Serrano produzido na Serra Catarinense apresenta avanços graduais em segurança microbiológica, refletidos em estudos acadêmicos e nas ações de orientação e supervisão técnica promovidas por instituições oficiais do Estado. Ainda assim, foi observado isolamento de *E. coli* e *S. aureus* em 16,6% e 40,8% das amostras, respectivamente, reforçando a necessidade de manutenção e aprimoramento das BPF e BPA. Além disso, a detecção de genes enterotoxigênicos em 56% das cepas de *S. aureus* isoladas reforça a importância do monitoramento contínuo desse microrganismo no QAS. E até o momento não foi possível diminuir o tempo de maturação do produto.

5.6 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Estado de Santa Catarina (FAPESC) - 2022TR002039 . Bem como por meio do apoio da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e do Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC).

5.7 REFERÊNCIAS

AHANSAZ, N. et al. Lactic Acid Bacteria in Dairy Foods: Prime Sources of Antimicrobial Compounds. **Fermentation** , v. 9, n. 11, pág. 964, 2023.

AL-NABULSI, AA et al. Factors affecting the viability of *Staphylococcus aureus* and production of enterotoxin during processing and storage of white-brined cheese. **Journal of Dairy Science** , v. 103, n. 8, p. 6869–6881, 2020.

ALEKSANYAN, T. et al. Chapter 1 - Important properties of lactic acid bacteria and their role in industry. In: SINGH R.P., MANCHANDA G., SANSAN S., KUMAR A., PANOSYAN H., **Microbial Essentialism**. 2024. p. 1–46.

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

CEOLIN, LV et al. Avaliação da concentração de cloretos (sal) em queijo artesanal serrano da região dos Campos de Cima da Serra. In: **SIMPÓSIO DE QUEIJOS ARTESANAIS DO BRASIL**, 5., 2025, Brasília. Anais eletrônicos [...] . Brasília:Galoá, 2025. Disponível em: <<https://proceedings.science/simposioqueijosartesanais2025/trabalhos/avaliacao-de-concentracao-de-cloretos-sal-em-queijo-artesanal-serrano-da-regiao?lang=pt-br>> Acesso em: 4 dez. 2025.

CHACÓN-FLORES, NA et al. Effect of Water Activity, pH, and Lactic Acid Bacteria to Inhibit *Escherichia coli* during Chihuahua Cheese Manufacture. **Foods** , v. 12, p. 3751, 2023. DOI: 10.3390/foods12203751.

COELHO, MC; MALCATA, FX; SILVA, CCG. Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. **Foods** , v. 11, n. 15, p. 2276, 2022. DOI: 10.3390/foods11152276.

CÓRDOVA, UA; SCHLICKMANN, AFMBF; PINTO, CE A contribuição do queijo artesanal serrano para o desenvolvimento regional e preservação dos campos de altitude do sul do Brasil. **Desenvolvimento Regional em Debate**, v. 2, p. 103–114, 2014. DOI: 10.24302/drd.v4i2.727

FÉLIX, MTA et al. Contaminação por coliformes e *Escherichia coli* associada às características físico-químicas de queijo coalho artesanal e industrial. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 32, 2025. DOI: 10.20396/san.v32i00.8678428.

FENG, Y. et al. The Response and Survival Mechanisms of *Staphylococcus aureus* under High Salinity Stress in Salted Foods. **Foods** , v. 11, p. 1503, 2022. DOI: 10.3390/foods11101503.

HOSSEINI, H. et al. Effects of intrinsic and extrinsic growth factors on virulence gene

expression of foodborne pathogens in vitro and in food model systems; a review **Food Science & Nutrition** , v. 12, p. 6093–6107, 2024. DOI: 10.1002/fsn3.4281.

LE LOIR, Y.; HENNEKINNE, J.-A. *Staphylococcus*, Detection of Staphylococcal Enterotoxins. In: BATT, CA; TORTORELLO, ML (ed.). **Encyclopedia of Food Microbiology** ed. 2. Amsterdã: Elsevier, 2014. p. 494–500. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00319-0>

LOPES, L. R. **Ocorrência de enterotoxina estafilocócica em queijo artesanal produzido na Serra Geral-MG**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2023. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/items/b0ee6400-5c85-46a0-9884-94b5c485256a> Acesso em: 15 out. 2025.

MARGALHO, LP et al. Enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in Brazilian artisanal cheeses: Occurrence, counts, phenotypic and genotypic profiles **Food Microbiology** , v. 121, p. 104531, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2024.104531>

MELO, F. D. **Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com o período de maturação**. 2013. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2013. Disponível em: https://www.cav.udesc.br/arquivos/id_submenu/756/dissertacao_fernanda_melo.pdf Acesso em: 5 mai. 2025.

MELO F.D. et al. 2020. Enterotoxigenic potential of *Staphylococcus* spp. isolates recovered from raw milk and artisanal cheese. **Anais da Academia Brasileira de Ciências** 92: e20180925. Rio de Janeiro, v. 92, n. 3, e20180925, 2020. Disponível em: DOI 10.1590/0001- 3765202020180925. Acesso em 5 mai. 2025.

NEVIANI, E. et al. Microbiota of Cheese Ecosystems: A Perspective on Cheesemaking. **Food** , v. 14, n. 5, p. 830, 2025.

PARUSSOLO, L. et al. Detecção de genes de virulência e perfis de resistência antimicrobiana de isolados de *Escherichia coli* de leite cru e queijo artesanal no sul do Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 40, n. 1, p. 163–179, 2019.

PONTAROLO, G. H. **Qualidade e inocuidade do queijo artesanal serrano, do leite e da água utilizados em sua produção, em Santa Catarina**. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2014. Disponível em: https://www.udesc.br/arquivos/cav/id_cpmenu/4420/Disserta_o_MCA_Giane_HelenitaPontarolo174377562029844420.pdf Acesso em: 5 mai. 2025.

PUJATO, SA et al. Bacteriocins from lactic acid bacteria: strategies for the bioprotection of dairy foods. **Frontiers in Food Science and Technology**, v. 4, 2024.

DOI: <https://doi.org/10.3389/frfst.2024.1439891>

QUINN, P. J. et al. Microbiologia veterinária essencial. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

SANTA CATARINA (Estado). Decreto nº 1.238, de 19 de julho de 2017. Regulamenta a Lei nº 17.003, de 2015, que dispõe sobre a produção e a comercialização do queijo artesanal serrano no Estado de Santa Catarina. Diário Oficial do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 19 jul. 2017.

SILVA, MR et al. Possíveis riscos microbiológicos do consumo de queijos artesanais com leite cru. In: COSTA, FF et al. (org.). Gestão, qualidade e inovações tecnológicas: produções acadêmicas em ciência e tecnologia do leite e resultados. Juiz de Fora: Editar, 2024.

TARR, GAM et al. Persistent cross-species transmission systems dominate Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 epidemiology in a high incidence region: A genomic epidemiology study. **eLife**, v. 13, 2025. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.97643>

TIETZ, P. R. **Isolamento e identificação molecular de linhagens probióticas isoladas de derivados lácteos**. 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição). – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017. Disponível em: https://pergamum.ufpel.edu.br/pergamumweb/vinculos/0000d7/0000d7a3.pdf?utm_source=chatgpt.com Acesso em 10 out. 2025

VIEIRA, F.; DORTZBACH, D. Caracterização ambiental e delimitação geográfica dos Campos de Cima da Serra. Florianópolis: Epagri, 2017.

WIŚNIEWSKI, P. et al. Identification of the Enterotoxigenic Potential of *Staphylococcus* spp. from Raw Milk and Raw Milk Cheeses. **Toxins**, v. 16, p. 17, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins16010017>

YILMAZ, N. et al. Isolation, characterization and antibiotic resistance of lactic acid bacteria from dairy and seafood sources. **Food Bioscience**, v. 64, p. 105895, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.105895>

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesse trabalho indicam melhora na inocuidade do Queijo Artesanal Serrano, contudo há presença de bactérias patogênicas em amostras analisadas. Ainda, a presença de genes produtores de enterotoxinas seA, seC e seE causa preocupação à saúde dos consumidores desse produto.

7. DIVERSIDADE MICROBIANA E CORRELAÇÃO ENTRE BACTÉRIAS ÁCIDO LÁTICAS E CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS NO QUEIJO ARTESANAL SERRANO EM DIFERENTES PERÍODOS DE MATURAÇÃO

7.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar a correlação entre espécies de BAL e características físico-químicas apresentadas pelo QAS. Foram coletadas 12 amostras em queijarias certificadas, com inspeção municipal no estado de Santa Catarina em dois diferentes períodos de maturação, no dia 0 e aos 63 dias. Os queijos foram embalados em saquetas estéreis e acondicionados em caixas isotérmicas para o transporte até o CEDIMA da UDESC em Lages, para as análises quantitativas de BAL. Um fragmento destas amostras de QAS foram enviadas ao Laboratório de Bromatologia do IFSC, Campus São Miguel, para análises físico-químicas como umidade, atividade de água, dureza, elasticidade, resiliência e mastigabilidade. Da mesma forma, fragmentos dos queijos foram enviados para sequenciamento em laboratório privado. Observou-se que a média da contagem de BAL no dia 0 foi de $9,39 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$, reduzindo para $6,60 \log_{10} \text{ UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ no dia 63, sendo as de maior abundância *Enterococcus sp.* e *Lactococcus sp.*, conforme sequenciamento genético realizado. Através do mapeamento de calor evidenciou-se correlação positiva entre atividade de água e as bactérias *E.durans*, *L.pantarum*, *L.brevis*. Bem como correlação negativa entre *E.durans*, *L.pantarum* e elasticidade. Além de correlação negativa entre *E.pseudoavium* e as bactérias *E.durans*, *L.pantarum*.

Palavras-chave: queijo; Santa Catarina; *Enterococcus*; *Lactococcus*.

7.2 INTRODUÇÃO

O QAS é um produto que independente de receita, inclui outros fatores fundamentais para sua produção como clima, temperatura, solo, altitude, vegetação, características que tornam a região dos Campos de Cima da Serra do RS e SC ambientes singulares na sua fabricação. É um produto artesanal, de pequena escala, fabricado com o leite cru integral da propriedade, em sua maioria de vacas de corte, tendo como base de alimentação as pastagens nativas, é um alimento regional considerado identitário de um determinado grupo (CÓRDOVA, 2014).

O Decreto nº1238 (2017) afirma que o queijo artesanal serrano é um queijo com matéria gorda entre 25% e 44,9%, umidade de até 35,9%, cor amarelo ou amarelo-palha uniforme, consistência elástica tendendo a untuosidade, crosta de média espessura, lisa e sem trincas, de formato redondo, quadrado ou retangular, podendo possuir pequenas olhaduras mecânicas bem distribuídas ou sem olhaduras.

Ainda, o Decreto nº1238 (2017) declara que a maturação aceita até o momento é de no mínimo 60 dias, contudo poderá ser alterada quando trabalhos técnico-sanitários comprovados cientificamente demonstrarem a qualidade e inocuidade do QAS com menor período. Durante o período de maturação, microrganismos e enzimas atuam nos queijos, promovendo transformações físicas, bioquímicas e microbiológicas sobre os principais componentes do leite, como os açúcares, as proteínas, as gorduras. Esse processo produz uma complexa combinação de novos compostos que influenciam diretamente sobre o sabor, o aroma, a textura, a consistência e a aparência dos queijos (EMATER, 2019).

Microrganismos de relevância no processo de maturação do queijo serrano, as BAL pertencem principalmente à ordem Lactobacillales, classe Bacilli, que inclui bactérias não formadoras de esporos de gêneros como *Streptococos*, *Leuconostoc*, *Pediococos*, *Lactococos*, *Lactobacilos* e *Enterococos*. Essas bactérias são amplamente empregadas em várias indústrias, incluindo laticínios, panificação, carne, vegetais e produção de bebidas alcoólicas (YILMAZ, 2025).

As BAL são bem conhecidas por seu papel na fermentação de alimentos, onde produzem ácido láctico como um produto metabólico primário (ALEKSANYAN et al., 2024). Durante a fermentação do ácido láctico, as BAL sintetizam uma gama diversificada de compostos chamados pós-bióticos que possuem propriedades que impedem o crescimento de microrganismos (MORADI, MOLAEI, GUIMARÃES, 2021). Além disso, os produtos da fermentação das BAL contribuem para atributos sensoriais, especialmente o sabor, e textura do alimento, melhorada pela produção de expolissacarídeos (HOSKEN, et al. 2023).

De acordo com Teso-Pérez (2024) durante o período de maturação as bactérias presentes na microbiota do queijo interagem entre si de forma benéfica, prejudicial ou neutra. A depender da concentração dos microrganismos e do estado da matéria em que se encontram podem inibir o crescimento umas das outras e se beneficiar da

mudança de pH, atividade da água e salinidade no decorrer do tempo. Essa interação é vista entre as espécies de BAL, *E. coli* e *S. aureus*.

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi identificar e conhecer a dinâmica de manutenção das BAL que crescem naturalmente no QAS em dois períodos de maturação, no dia 0 e aos 63 dias, e correlacionar com as características físico-químicas dos queijos.

7.3 MATERIAL E MÉTODOS

7.3.1 Amostragem e seleção das propriedades

. O estado de Santa Catarina tem uma área de 95.730.684 km² está localizado na região Sul do Brasil, fazendo fronteira com Paraná ao Norte, Rio Grande do Sul ao Sul e com a Argentina a Oeste. Santa Catarina está situada entre os paralelos 25° 57' 41" S e 29° 23' 55" S e entre os meridianos 48° 19' 37" O e 53° 50' 00" O, na zona temperada meridional do planeta (SANTA CATARINA, 2016). Geograficamente o estado foi dividido em seis mesorregiões pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2022), sendo Grande Florianópolis, Vale do Itajaí, Norte Catarinense, Sul Catarinense, Serrana e Oeste Catarinense. A pesquisa foi realizada em seis (6) queijarias certificadas, com inspeção oficial municipal, pertencentes à Associação de Produtores de Queijo Artesanal Serrano da Serra Catarinense, localizadas nas cidades de Lages, Bom Retiro, São Joaquim, Ponte Alta e Capão Alto

Foram coletadas amostras de queijo de aproximadamente 500 gramas, em dois diferentes períodos de maturação, no dia 0 e aos 63 dias, totalizando 12 amostras do QAS, para a pesquisa de bactérias ácido lácticas, análises físico-químicas e sequenciamento genético. Os queijos foram embalados em saquetas estéreis, identificados e acondicionados em caixas isotérmicas para o transporte ao laboratório de bacteriologia do Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) da UDESC em Lages, para as análises quantitativas de Bactérias Ácido Lácticas.

De cada amostra de QAS foram retiradas porções de 250 g, aproximadamente, e enviadas ao Laboratório de Bromatologia do Instituto Federal de Santa Catarina (IFSC), Campus São Miguel, para análises físico-químicas como umidade, atividade de água, dureza, elasticidade, resiliência e mastigabilidade. Além disso, amostras de

100 g de cada queijo foram obtidas assepticamente e reservadas para realização de sequenciamento genético para identificação dos gêneros e espécies.

7.3.2 Análise microbiológica

Para identificação e quantificação de BAL foram pesados 25 g de cada amostra do QAS, homogeneizadas em 225 mL de água peptonada tamponada 1%. Após realizou a diluição decimal seriada até 10^9 em tubos contendo 9mL de solução salina (0,85%) estéril. Para a contagem foi realizada a técnica de “spread plate” em ágar Man, Rogosa e Sharpe (MRS), onde inoculou-se 0,1 mL das diluições 10^7 , 10^8 e 10^9 e espalhada com auxílio da alça de Drigalski. Após as placas foram incubadas em anaerobiose a 37 °C por 72h e realizada a contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC). Metodologia realizada por Tietz (2017) com modificações.

7.3.3 Análises físico-químicas

Para a determinação de textura, do interior das amostras de queijo foram obtidos cilindros medindo 2 cm de altura e 2 cm de diâmetro, com o auxílio de um molde cortador, para padronização. As amostras foram analisadas em temperatura padronizada de 5 °C. O perfil instrumental de textura (TPA) foi determinado em texturômetro TAXT plus (Stable Micro Systems-227 42305 – UK) com probe cilíndrico de alumínio de 40 mm de diâmetro. Foram analisados os parâmetros de elasticidade, mastigabilidade e firmeza, conforme metodologia adaptada de Todescatto (2014). Os parâmetros definidos para esta análise foram os seguintes: perfil de textura em modo de compressão; velocidade pré-teste: 2,0 mm/s; velocidade de teste: 1,0 mm/s; velocidade de pós-teste: 2,0 mm/s; 50 % de compressão e um período de repouso de 5 segundos entre os dois ciclos; força de gatilho; 5,0 g; e taxa de aquisição de dados de 200 pontos por segundo. Para se obter uma boa estimativa de textura, as análises foram realizadas com dez replicatas.

Para a determinação de umidade, amostras de 5 gramas de queijo triturado foram adicionadas a cadinhos limpos e dessecados durante duas horas na estufa a 105 °C, pesados e tarados em balança analítica com quatro casas decimais. Depois da pesagem das amostras de queijo, os cadinhos foram colocados em estufa a $102 \pm$

2 °C até massa constante. A pesagem dos cadinhos depois da evaporação da água foi realizada depois da manutenção das amostras em dessecador por, pelo menos, 30 minutos. A determinação do teor de umidade foi realizada em triplicata.

A determinação de atividade de água foi realizada em triplicata, colocando amostras de queijos triturados até a cobertura total do fundo do recipiente de amostragem, realizando-se após a leitura no equipamento LAbMAster-AW, marca Novasina.

7.3.4 Sequenciamento genético

As amostras de 100 g foram enviadas ao laboratório privado, submetidas a extração de DNA e sequenciamento genético de nova geração (NGS) de amplificações de 16S rRNA com plataforma Illumina (MiSeq/NextSeq), formato paired-end e cobertura de 300 mil reads.

7.3.5 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas no software R. A organização e manipulação dos dados foram conduzidas com o pacote dplyr, enquanto a visualização gráfica foi realizada por meio do pacote ggplot2. Para a modelagem da dinâmica microbiana ao longo do tempo de maturação, foram ajustados modelos lineares e exponenciais de decaimento utilizando funções do pacote MASS. O modelo linear foi empregado quando os dados apresentavam tendência aproximadamente linear após transformação logarítmica, enquanto o modelo exponencial foi utilizado para descrever o comportamento não linear de redução microbiana, mais compatível com processos biológicos de inativação. A escolha do modelo leva em conta a qualidade do ajuste estatístico e a coerência microbiológica dos parâmetros estimados.

7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entender a dinâmica das BAL no queijo é fundamental para elaborar estratégias que visam melhorar o produto final, uma vez que através de espécies específicas

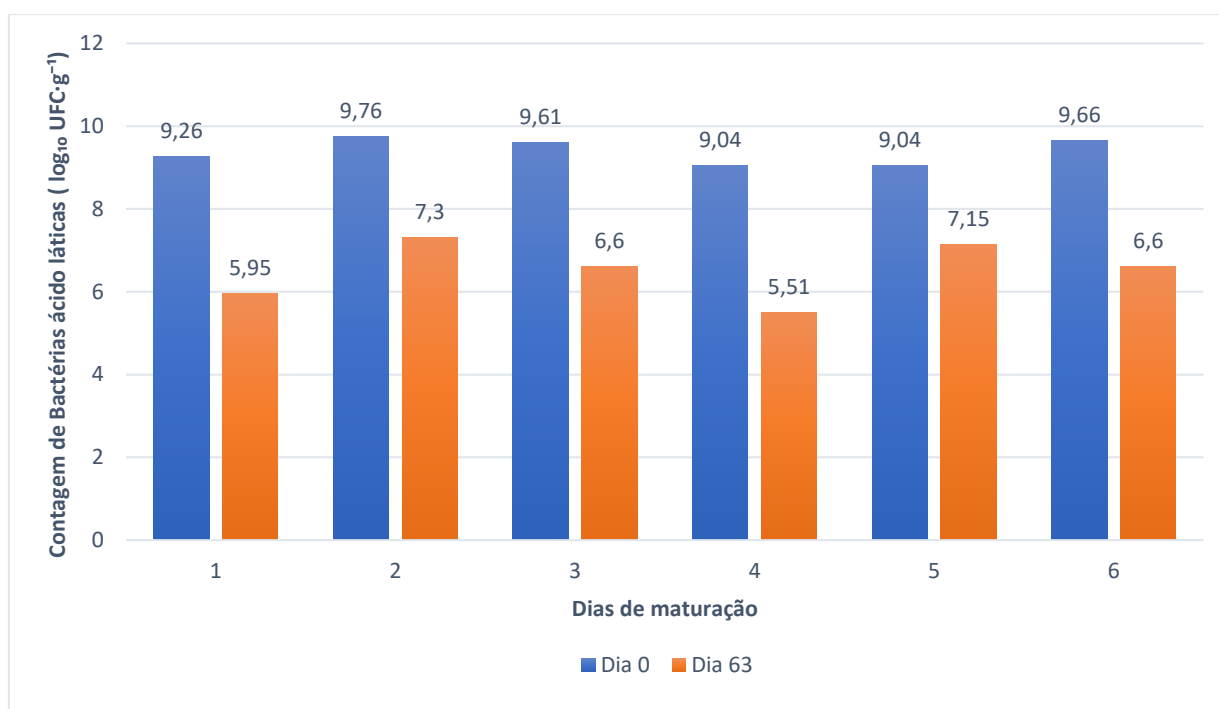
pode-se melhorar características como elasticidade, sabor e resiliência, por exemplo. O presente estudo avaliou a influência dos períodos de maturação do QAS sobre as BAL e, consequentemente, sobre as alterações físico-químicas do queijo. Os resultados da quantificação microbiológica das BAL de acordo com os dias de maturação e individuais por queijaria estão apresentados na Figura 6.

Foram avaliadas seis amostras de QAS em dois períodos de maturação, 0 e aos 63 dias. Observou-se que a média da contagem de BAL no dia 0 foi de $9,39 \log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$, reduzindo para $6,60 \log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ no dia 63. Embora há uma diminuição da contagem de BAL entre os tempos de avaliações, os níveis se mantiveram elevados, sendo um resultado relevante para microbiota do queijo. Resultados semelhantes foram descritos por Rocha (2021), o qual avaliou queijos artesanais da Serra Geral-MG provenientes de produtores com inspeção municipal, encontrando médias de $8,32 \log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ em queijo fresco e $6,06 \log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ após 60 dias de maturação. De forma concordante, Sales et al. (2025) analisaram Queijo Minas Artesanal da região da Serra da Canastra e observaram medianas de $6,77 \log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ no 1º dia e $5,89 \log_{10} \text{UFC} \cdot \text{g}^{-1}$ no 22º dia de maturação.

As BAL identificadas por sequenciamento genético nas amostras de QAS pertencem ao filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Lactobacillales e foram divididas em cinco famílias: *Enterococcaceae*, *Lactococcaceae*, *Streptococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Leuconostocaceae* e cinco gêneros *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*. Ao total 37 espécies foram identificadas na microbiota do queijo artesanal serrano: *Enterococcus avium*, *Enterococcus camelliae*, *Enterococcus devriesei*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gilvus*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus italicus*, *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus nangangensis*, *Enterococcus pseudoavium*, *Enterococcus raffinosus*, *Enterococcus rivorum*, *Enterococcus saccharolyticus*, *Enterococcus sp.*, *Enterococcus sulfureus*, *Enterococcus thailandicus*, *Enterococcus villorum*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus johnsonii*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus sp.*, *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus sp.*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus macedonicus*, *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus seminale*, *Streptococcus thermophilus*, *Streptococcus uberis*. Pode-se verificar que a

diversidade microbiana no QAS é ampla, contudo para esse estudo o foco se deu nas BAL relacionadas as características físico-químicas do queijo.

Figura 6 Contagem de Bactérias ácido lácticas ($\log_{10}$ UFC·g⁻¹) de acordo com os dias de maturação 0 e 63 em QAS, das seis queijarias com inspeção municipal da Serra Catarinense.



Fonte: Própria autoria (2025)

Na tabela 6 apresenta os gêneros bacterianos predominantes no QAS, como *Enterococcus* sp., *Lactococcus* sp. e *Streptococcus* sp. obtendo uma abundância de 14,7%, 11,6% e 6,7%, no dia de sua fabricação, respectivamente. No último dia de maturação do QAS, a predominância do gênero *Enterococcus* sp. se manteve, aumentando sua porcentagem (35,4%). Diferindo, o *Lactococcus* sp. reduziu drasticamente sua abundância (0,09%) mas permaneceu como segundo gênero em destaque. Além deste, o gênero *Streptococcus* sp. também apresentou queda na abundância relativa com 0,09%. A predominância do gênero *Streptococcus* sp. e *Lactococcus* sp., também foi observada em queijos artesanais da Serra da Canastra, Serro e Araxá (KAMIMURA et al., 2020; NERO et al., 2021; CESARIO, 2022).

Ströher et al. (2023) encontrou uma situação similar ao apresentado na tabela 1, com relação aos gêneros, porém bem distinta quanto as porcentagens. O trabalho foi realizado em QAS produzido no Rio Grande do Sul, onde testou diferentes

temperaturas de maturação. No cenário de último dia de maturação a 5°C, houve predominância dos gêneros *Lactococcus* sp. (84,88%) e *Enterococcus* sp. (14,5%); a 12,5° *Lactococcus* sp. reduziu sua presença para 5,1% enquanto *Enterococcus* sp. estava com 94%; e a 20°C apresentou um equilíbrio entre os gêneros, *Lactococcus* sp. tinha 52,73% e o *Enterococcus* sp. 45,38%.

Tabela 6 Abundância relativa dos cinco (5) gêneros de BAL presentes em dois períodos de maturação (0 e 63 dias) em amostras de QAS.

Taxonomia	Abundância relativa (0 dias de maturação)	Abundância relativa (63 dias de maturação)
<i>Enterococcus</i> spp.	14,7%	35,4%
<i>Lactococcus</i> spp.	11,6%	0,91%
<i>Streptococcus</i> spp.	6,7%	0,09%
<i>Leuconostoc</i> spp.	0,012%	0,009%
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,002%	0,013%

Fonte: Própria autoria (2026)

As BAL geralmente são classificadas por duas características: pelos metabólitos produzidos na fermentação, onde as que produzem majoritariamente ácido láctico são chamadas de homofermentativas e as que produzem além desse ácido, dióxido de carbono, diacetil e outros flavorizantes, de heterofermentativas. E pela capacidade de converter lactose em ácido láctico, onde as BAL que conseguem realizar essa mudança e acidificar o meio rapidamente são denominadas de bactérias ácido lácticas iniciadoras e as que não conseguem de bactérias ácido lácticas não iniciadoras (COELHO; MALCATA; SILVA, 2022).

As BAL iniciadoras (SLAB) são encontradas comercialmente como fermento ou cultura láctica, compostas por diversos microrganismos de diferentes gêneros e espécies. As BAL mais frequentemente utilizadas em culturas iniciadoras mesofílicas são *Lactococcus lactis*, incluindo as subespécies *L. lactis* subsp. *lactis* e *L. lactis* subsp. *cremoris*, mas iniciadoras indefinidas também podem conter cepas de *Leuconostoc* spp. para fermentação de citrato. As culturas iniciadoras termofílicas

geralmente incluem cepas de *Streptococcus thermophilus*, que são tipicamente utilizadas na produção de queijos semiduros e duros (por exemplo, variedades italianas e suíças). Cepas de *Lactobacillus* spp. (por exemplo, *Lactobacillus helveticus* e *Lactobacillus delbrueckii*) são amplamente utilizados como culturas auxiliares para o desenvolvimento de sabor (BLAYA; BARZIDEH; LAPOINTE, 2018).

As bactérias ácido lácticas não iniciadoras recebem a sigla “NSLAB” em inglês, por não serem “starter”, ou seja, não fazem parte das culturas iniciadoras usadas em produtos lácteos. Porém, podem aparecer naturalmente em alguns produtos como é o caso do QAS. São autóctones, fazem parte do ambiente de ordenha, do leite e/ou laticínio, se multiplicando durante a maturação. Esse grupo é amplo e composto por algumas espécies de *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp., *Enterococcus* sp., *Streptococcus* sp. (PEREIRA, SANTANA, SANTOS, 2020).

Ainda de acordo com Pereira, Santana, Santos (2020), a origem das NSLAB em queijos produzidos com leite cru é motivo de debate e se associa a biofilmes em equipamentos, contaminação em embalagens a vácuo e uso de leite cru na fabricação. Contudo, também se encontrou microbiota de NSBAL em queijo produzido com leite pasteurizado, indicando contaminação posterior ao tratamento. Encontrar a causa e entender a dinâmica dentro da microbiota do queijo é complexo. Porém, estudos realizados por pesquisadores da EPAMIG (2019) indicam características desejáveis nessas cepas como a capacidade de produzir gases e, consequentemente, olhaduras a partir da produção de CO² com sabor e odor agradáveis, se distanciando de defeitos como o estufamento em queijos.

Segundo Ramon e Silva (2019), NSLABs têm características probióticas, não alterando as características sensoriais do queijo, desde que sejam mantidos em baixas temperaturas. Por outro lado, Meng et al. (2018) citam que alterações nas cepas dominantes de NSLAB podem levar à formação de sabor amargo não característico do produto e aminas biogênicas, além da possibilidade de gás.

Uma forma de verificar a influência de bactérias entre si e sobre as alterações do queijo é através da matriz de correlações. Na figura 2 evidenciamos um mapa de calor que avalia a correlação entre espécies e características físico-químicas. Esse tipo de gráfico permite visualizar quais pares estão positivamente relacionados, indicado pela cor vermelha, ou negativamente relacionados, indicado pela cor azul. A

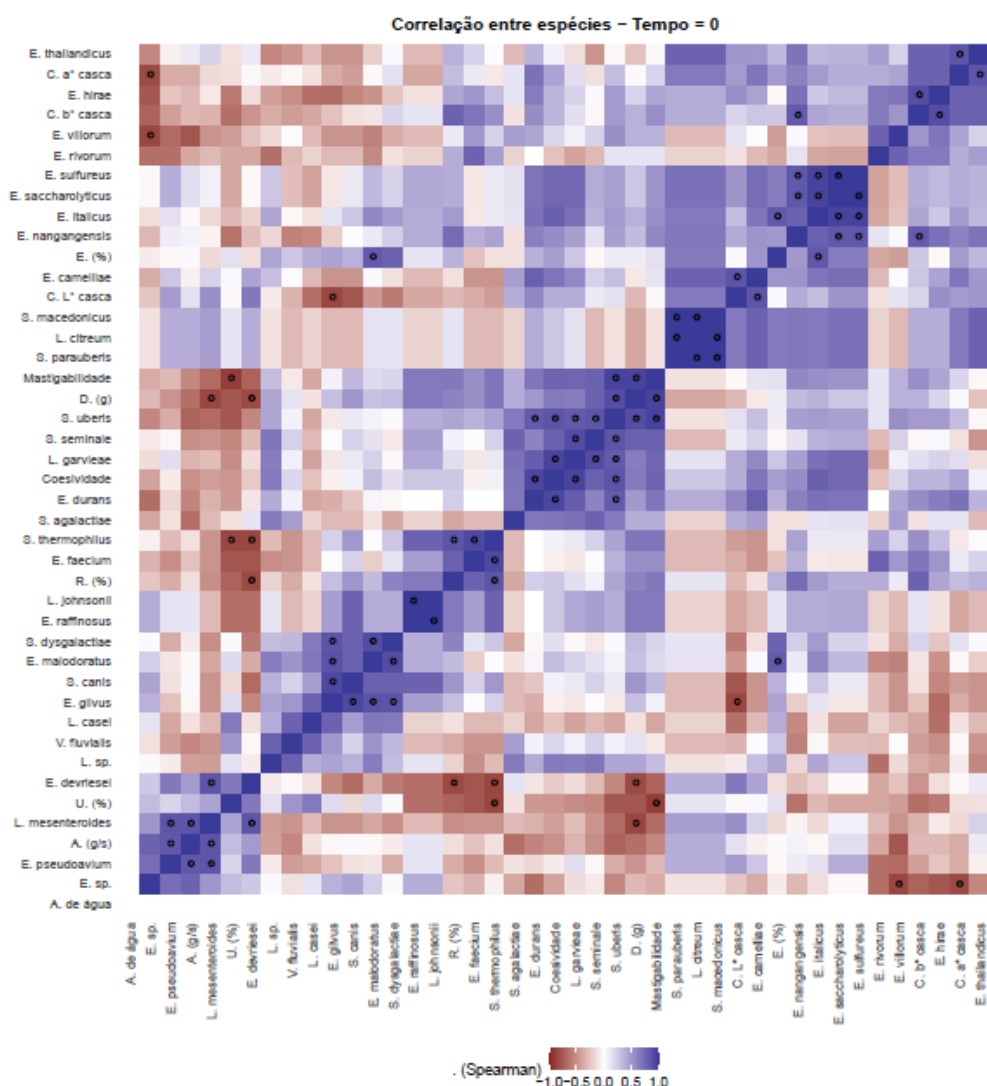
intensidade da cor está relacionada a força da correlação, quanto mais escuro, maior o valor absoluto da correlação. Os círculos dentro dos quadrados coloridos sinalizam que há correlação estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

No dia 0 de maturação é possível visualizar algumas correlações negativas como: *L. mesenteroides* e dureza, *E. devriesei* e dureza, *E. devriesei* e resiliência, *E. devriesei* e *S. thermophilus* (figura 7). De acordo com os estudos de Jurásková et al. (2024), as cepas de *L. mesenteroides* apresentam alta tolerância ao NaCl, são capazes de produzir polissacarídeos extracelulares que atuam na alteração da textura de produtos lácteos, explicando porque está relacionada a dureza. Uma vez que quanto mais esses microrganismos estão presentes, menor é a dureza do queijo. Da mesma maneira, *S. thermophilus* e umidade, umidade e mastigabilidade, estão correlacionados negativamente. No que tange a umidade, quando essa característica estiver maior, menor será a força de mastigação necessária.

O representante do gênero *Enterococcus spp.* no dia 0, *E. devriesei* apresentou correlação positiva com características relacionadas a textura do queijo. Nesse sentido Ordiales et al. (2013) avaliaram o queijo espanhol “Torta del Casar” e perceberam que o grupo em que foi isolado maior quantidade de cepas de *L. lactis subsp. cremoris* e *E. devriesei* apresentou maior cremosidade em comparação ao grupo que não apresentou em ambas as bactérias. Embora muitos gêneros de *Streptococcus sp.* sejam patogênicos, o *S. thermophilus* possui o status GRAS (Geralmente Reconhecido como Seguro), é frequentemente isolado de culturas “starter” e provoca rápida diminuição do pH.

Na figura 7, é possível visualizar que a atividade de água e *E. durans* estão correlacionadas positivamente, ou seja, ao diminuir a atividade de água, se diminui também a abundância de *E. durans*. O mesmo ocorre para *L. plantarum* e *L. brevis*, ambas caracterizadas como BALs explicando o decréscimo na contagem desse grupo ao final do tempo de maturação, reforçando o papel da maturação como barreira adicional de segurança. Sionek et al. (2021) citam que alimentos com alta atividade de água promovem o crescimento geral de microrganismos.

Figura 7 . Matriz de correlações de espécies isoladas no QAS no dia 0 de maturação.



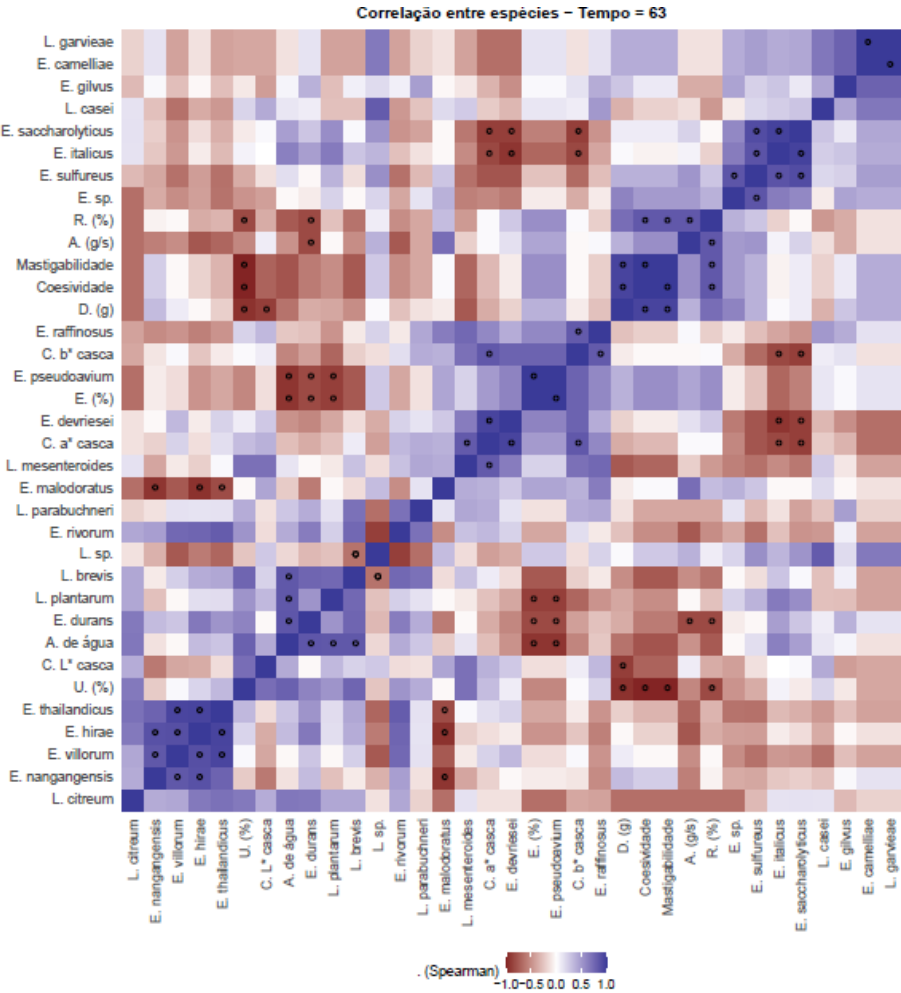
A = atividade de água; E. sp. = *Enterococcus* sp.; U = umidade; R = resiliência; D = dureza; E = elasticidade. Fonte: Própria autoria (2025)

Depois de 63 dias de maturação a configuração de correlação dentro do ecossistema do QAS foi modificada, aparecendo novas espécies correlacionadas positivamente como: *E. malodoratus* com *E. hirae* e *E. thailandicus*. (Figura 8). Isso indica que o cenário encontrado no queijo atua da mesma forma nessas bactérias, pois o aumento ou diminuição se dá de forma proporcional.

O *Enterococcus durans* foi o microrganismo que apresentou variadas correlações no mapeamento por calor, uma bactéria correlacionada negativamente com duas características físico-químicas: elasticidade e resiliência. Ou seja, quando

essa BAL está em pouca quantidade, essas características do queijo têm maiores valores.

Figura 8 Matriz de correlação de espécies no QAS no dia 63 de maturação.



Fonte: Própria autoria (2025)

De acordo com Paduret (2025), a elasticidade é a altura recuperada pela amostra entre as compressões, indicando sua capacidade de retornar à sua forma original. Nesse caso, o queijo se apresenta mais flexível devido a estrutura da matriz de caseína e não quebra com facilidade. No entanto, a resiliência é a razão entre a área da primeira descompressão e a área da primeira compressão, medindo a capacidade de recuperação da forma da amostra (PADURET S., 2025). Relacionado ao queijo, indica a velocidade em que a matéria retorna a forma anterior. De forma semelhante, *L. plantarum* também é negativamente relacionado a elasticidade.

Em contrapartida, *E. pseudoavium* está correlacionado positivamente a elasticidade. Isso indica de forma empírica que maior quantidade dessa espécie tornaria o QAS mais elástico. Contudo, até o momento não há outro estudo que relacione tais variáveis. Terzić-Vidojević et al. (2021) citam várias características do gênero *Enterococcus* sp. que desempenham papel importante no desenvolvimento da textura do queijo, como a atividade proteolítica na degradação da caseína. Ademais, *E. pseudoavium* está negativamente correlacionado a *E. durans* e *L. plantarum*.

E. pseudoavium e *L. plantarum* são classificadas como NSLAB pois tendem a aumentar após a fase inicial da fermentação quando a lactose já foi consumida, o pH está estável e há maior disponibilidade de peptídeos e aminoácidos. Ambas as espécies toleram pH ácido, perda progressiva de umidade e altas concentrações de sal, cenário comum no final da maturação do QAS. Essas bactérias fazem uso complementar de nutrientes, o que reduz a competição direta. Uma vez que *L. plantarum* utiliza lactato, citrato e açúcares residuais, enquanto *E. pseudoavium* pode metabolizar aminoácidos e produtos da proteólise.

O QAS é classificado como queijo semiduro e com umidade de até 35,9%. Contudo na tabela 7 as amostras avaliadas indicaram umidade baixa, onde a média no 63º dia foi 21,8% que indica possível declínio de microrganismo mais sensíveis à perda de água e favorecimento dos que se adaptam a essa mudança. No mesmo sentido se explica a correlação positiva entre outras espécies desse gênero, como *E. devriesei* com *E. italicus* e *E. saccharolyticus*. Ainda nesse grupo de bactérias, Abarquero et al. (2024) isolaram cepas de *E. malodoratus*, *E. italicus*, *E. gilvus*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. casseliflavus* e *E. faecalis* de um queijo tradicional espanhol de leite cru de cabra. Verificaram que a atividade proteolítica das cepas pesquisadas pode ajudar a reduzir o tempo de maturação, visto que o principal efeito de uma maior intensidade de proteólise se dá na textura e na formação de compostos aromáticos.

Com o passar dos dias a desidratação do queijo se intensifica, ocorre maior compactação da massa, diminuição da atividade de água e maior pressão seletiva sobre a microbiota. *E. durans* tem correlação positiva com atividade da água e correlação negativa com resiliência.

Tabela 7 Valores de umidade e atividade de água em Queijo Artesanal Serrano com 0 e 63 dias de maturação.

AMOSTRAS	DIA 0		DIA 63	
	UMIDADE (%)	ATIV. DE ÁGUA	UMIDADE (%)	ATIV. DE ÁGUA
1	53,2%	0,94	20,4%	0,85
2	48,2%	0,94	16,3%	0,76
3	46,6%	0,94	19,8%	0,84
4	52,6%	0,94	26,8%	0,88
5	49,9%	0,94	23,8%	0,85
6	52,7%	0,94	23,8%	0,83
MÉDIA	50,5%	0,94	21,8%	0,83

Fonte: Própria autoria (2025)

7.5 CONCLUSÃO

De acordo com os achados do presente trabalho o Queijo Artesanal Serrano produzido em Santa Catarina apresentou três gêneros principais em abundância: *Enterococcus sp.*, *Lactococcus sp.* e *Streptococcus sp.* Por meio de mapeamento de calor foram visualizadas correlações entre espécies isoladas do QAS e características físico-químicas. Com 63 dias de maturação houve queda na umidade, com média de 21,8% e consequente diminuição da atividade de água. A desidratação progressiva do QAS, alteração de abundância e modificações bioquímicas atuam no comportamento das BAL. Através do mapeamento de calor evidenciou-se correlação positiva entre atividade de água e as bactérias *E.durans*, *L.pantarum*, *L.brevis*. Bem como correlação negativa entre *E.durans*, *L.pantarum* e elasticidade. Além de correlação negativa entre *E.pseudoavium* e as bactérias *E.durans*, *L.pantarum*. A associação da redução da atividade de água com queda de determinadas espécies também reforça o papel da maturação como barreira adicional de segurança.

7.6 AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da FAPESC, bem como colaboração científica e tecnológica da EPAGRI, CAPES e IFSC.

7.7 REFERÊNCIAS

- ABARQUERO, D. et al. Advantages and disadvantages of autochthonous enterococci strains for their potential use in cheese ripening: a preliminary study. **International Journal of Food Science and Technology**, v.59, p. 5675–5689, 2024. DOI:10.1111/ijfs.17295
- ALEKSANYAN, T. et al. Chapter 1 - Important properties of lactic acid bacteria and their role in industry. In: SINGH R.P., MANCHANDA G., SANSAN S., KUMAR A., PANOSYAN H., **Microbial Essentialism**. 2024. p. 1–46.
- BLAYA J., BARZIDEH Z., LAPOINTE G., Symposium review: Interaction of starter cultures and nonstarter lactic acid bacteria in the cheese environment¹, **Journal of Dairy Science**, v. 101,n. 4, 2018, p. 3611-3629, DOI: 10.3168/jds.2017-13345.
- CESARIO, B. I. R. **Sucessão microbiana no processo de maturação do queijo minas artesanal produzido na região de Araxá- MG, com a presença de mofo branco**. 2022. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2022 Disponível em: <https://repositorio.ufla.br/items/97796b07-7965-49be-9084-a431a7adbb9c> Acesso em 22 out. 2025
- COELHO M. C., MALCATA F.X., SILVA C.C.G. Lactic Acid Bacteria in Raw-Milk Cheeses: From Starter Cultures to Probiotic Functions. **Foods**. v. 11, n. 15, p. 2276, 2022 DOI: 10.3390/foods11152276.
- CÓRDOVA, UA; SCHLICKMANN, AFMBF; PINTO, CE A contribuição do queijo artesanal serrano para o desenvolvimento regional e preservação dos campos de altitude do sul do Brasil. **Desenvolvimento Regional em Debate**, v. 2, p. 103–114, 2014. DOI: 10.24302/drd.v4i2.727
- EMPRESA DE ASSISTÊNCIA TÉCNICA E EXTENSÃO RURAL DO RIO GRANDE DO SUL (EMATER/RS-ASCAR). Cartilha: boas práticas de fabricação na produção de queijo artesanal serrano. Porto Alegre: EMATER/RS-ASCAR, 2019. 38 p.
- EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS (EPAMIG). Queijo Minas Artesanal - principais problemas de fabricação: manual técnico de orientação ao produtor. Belo Horizonte: EPAMIG, 2019. ISBN 978-85-99764-43-5
- HOSKEN, B.D.O.; MELO PEREIRA, G.V.; LIMA, T.T.M.; RIBEIRO, J.B.; MAGALHÃES JÚNIOR, W.C.P.D.; MARTIN, J.G.P. Potencial pouco explorado de bactérias lácticas associadas à produção artesanal de queijo no Brasil: desafios e oportunidades. **Fermentation** v.9 ,409, 2023 DOI: 10.3390/fermentation9050409
- KAMIMURA, B.A., et al. Amplicon sequencing reveals the bacterial diversity in milk, dairy premises and Serra da Canastra artisanal cheeses produced by three different farms, **Food Microbiology**, v.89, 103453, 2020 DOI: 10.1016/j.fm.2020.103453.
- MENG, Z., ZHANG, L., XIN, L., LIN, K., YI, H. X., & HAN, X. Technological characterization of Lactobacillus in semihard artisanal goat cheeses from different Mediterranean areas for potential use as non starter lactic acid bacteria. **Journal of Dairy Science**, v.101, p. 2887 – 2896, 2018.

MORADI M., MOLAEI R., GUIMARÃES J.T., A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria, **Enzyme and Microbial Technology**, v.143, 109722, 2021 DOI: 10.1016/j.enzmictec.2020.109722.

NERO, L.A. et al. Lactic microbiota of the minas artisanal cheese produced in the serro region, Minas Gerais, Brazil. **LWT**, v. 148, 111698, 2021. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111698.

ORDIALES E. et al. Bacterial communities of the traditional raw ewe's milk cheese "Torta del Casar" made without the addition of a starter, **Food Control**, v. 33, n. 2, 2013, p. 448-454, DOI: 10.1016/j.foodcont.2013.03.027

PADURET S. Textural Evaluation of Milk Products: Instrumental Techniques, Parameters, and Challenges. **Dairy**, v.6, 58, 2025. DOI: 10.3390/dairy6050058

PEREIRA, M.T.; DOS SANTOS, J. S.; SANTANA, E. H. W. Importância das Bactérias Ácido Lácticas e Não Starter (NSLAB) na Tecnologia de Produção dos Derivados Lácteos. Ensaios e Ciência: **Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde** , [S. l.] , v. 4, pág. 348–352, 2020. DOI: 10.17921/1415-6938.2020v24n4p348-352. Disponível em: <<https://ensaioseciencia.pgsscogna.com.br/ensaioeciencia/article/view/8308>> Acesso em: 02 nov. 2025

RAMON, P. O. R.; SILVA, D. A. Bactérias de auxílio na maturação dos queijos (NSLAB) e seus benefícios para a saúde. Disponível em: <<https://www.milkpoint.com.br/colunas/adriano-gomes-da-cruz/bacterias-de-auxilio-na-maturacao-dos-queijos-nslab-e-seus-beneficios-para-a-saude-206803/>> 2019. Acesso em: 12 nov., 2025.

ROCHA, L. A. C. **Caracterização físico-química, microbiológica e de perfis de aminoácidos e de aminos bioativas livres do queijo artesanal da Serra Geral-MG**. 2021. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2021. Disponível em: <https://repositorio.ufmg.br/items/9d7b3aa2-0e75-40c7-9d21-0ed591e607f5> Acesso em: 10 out. 2025

SANTA CATARINA (Estado). Decreto nº1238, de 19 de julho de 2017. Regulamenta a Lei nº 17.003, de 2016, que dispõe sobre a produção e a comercialização do queijo artesanal serrano, no Estado de Santa Catarina. Diário Oficial do Estado de Santa Catarina, Florianópolis, 19 de julho de 2017.

SIONEK, B. et al. The Impact of Physicochemical Conditions on Lactic Acid Bacteria Survival in Food Products. **Fermentation**, v. 10, n.6, 298. DOI: 10.3390/fermentation10060298

STRÖHER, J.A. et al. The Effect of Temperature on Physicochemical and Microbiological Aspects of Serrano Artisanal Cheese Ripening. **Food/Feed Science and Technology**. V.66, p. e23220530, 2023. DOI: 10.1590/1678-4324-2023220530

TESO-PÉREZ, C. et al. Bacteriocin-producing enterococci modulate cheese microbial diversity. **Microbial Ecology**. v.87, 175, 2024. DOI: 10.1007/s00248-025-02491-7

TERZIĆ-VIDOJEVIĆ, A. Enterococci from Raw-Milk Cheeses: Current Knowledge on Safety, Technological, and Probiotic Concerns. **Foods**. v.10, n.11, 2753, 2021 DOI: 10.3390/foods10112753

TIETZ, P. R. **Isolamento e identificação molecular de linhagens probióticas isoladas de derivados lácteos**. 2017. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Nutrição). – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017. Disponível em: https://pergamum.ufpel.edu.br/pergamumweb/vinculos/0000d7/0000d7a3.pdf?utm_source=chatgpt.com Acesso em 10 out. 2025

YILMAZ, N. et al. Isolation, characterization and antibiotic resistance of lactic acid bacteria from dairy and seafood sources. **Food Bioscience**, v. 64, p.105895, 2025. DOI: 10.1016/j.fbio.2025.105895.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados nesse trabalho indicam *Enterococcus sp.*, *Lactococcus sp.* e *Streptococcus sp.* como os três principais gêneros em abundância no Queijo Artesanal Serrano produzido em Santa Catarina. E, através no mapeamento de calor, evidenciou a correlação positiva entre atividade da água com as bactérias *E.durans*, *L.pantarum*, *L.brevis*. Bem como correlação negativa entre *E.durans*, *L.pantarum* e elasticidade.