

Pesquisa em vigilância sanitária: uma abordagem na área de microbiologia de alimentos

Research in health surveillance: an approach in the food microbiology

RESUMO

Marcelo Luiz Lima Brandão* 

Mesmo com todos os esforços relacionados ao controle da qualidade de alimentos, as doenças de transmissão hídrica e por alimentos (DTHA) são importantes causas de morbidade e mortalidade no mundo, emergindo como um crescente problema econômico e de saúde pública. Este debate traz uma reflexão sobre a importância da pesquisa em vigilância sanitária na área da microbiologia de alimentos, visando a prevenção e o controle das DTHA. É discutida a importância das informações, dados e outros produtos técnico-científicos produzidos a partir da pesquisa para auxílio nas análises de risco, regulação e ações de vigilância sanitária. Também são elencadas as linhas prioritárias de pesquisa publicadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, os incentivos à pesquisa nesta área e o envolvimento e a importância dos Programas de Pós-graduação. Com base numa revisão não sistemática da literatura, são apontados alguns desafios como: 1) a necessidade de mais recursos financeiros para pesquisas voltadas ao controle microbiológico de alimentos; 2) o fortalecimento do Sistema de Informação de Agravos de Notificação para direcionamento das linhas de pesquisa, uma vez que lista os patógenos, alimentos, locais e regiões geográficas com maior ocorrência de DTHA; 3) a implantação estratégica de metodologias de sequenciamento genômico no sistema nacional de laboratórios de saúde pública, visando a caracterização molecular de patógenos de origem alimentar; e 4) o incentivo a pesquisas com abordagens interdisciplinares e a divulgação/publicação destes dados em periódicos científicos ou outros locais que aumentem o alcance das informações. Estes foram apenas alguns desafios colocados em debate, pois sabe-se que muitos outros existem para o aperfeiçoamento do controle microbiológico de alimentos.

PALAVRAS-CHAVE: Pesquisa Científica; Vigilância Sanitária; Microbiologia de Alimentos; Segurança de Alimentos; Controle de Qualidade

ABSTRACT

Even with all the efforts related to food quality control, foodborne and waterborne diseases (FWD) are important causes of morbidity and mortality worldwide, emerging as a growing economic and public health problem. This debate brings a reflection on the importance of research in Health Surveillance in food microbiology filed, aiming at the prevention and control of FWD. It is discussed the importance of information, data and other technical-scientific products produced from the research to assist in risk analysis, regulation, and actions of Health Surveillance. Also listed are the priority lines of research published by the National Health Surveillance Agency, the financial incentives for research in this field, and the involvement and importance of Graduate Programs. Based on a non-systematic review of the literature, some challenges are pointed out such as: 1) the need for more financial resources for research focused on microbiological control of food; 2) the strengthening of the Notifiable Diseases Information System for directing of the research lines, since it lists the pathogens, foods, places and geographical regions of higher occurrence of FWD; 3) the strategic implementation of genomic sequencing

Instituto de Tecnologia em
Imunobiológicos, Fundação Oswaldo
Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro,
RJ, Brasil

* E-mail: marcelo.brandao@bio.fiocruz.br

Recebido: 18 set 2022

Aprovado: 6 out 2022

Como citar: Brandão MLL. Pesquisa em vigilância sanitária: uma abordagem na área de microbiologia de alimentos. *Vigil Sanit Debate*, Rio de Janeiro. 10(4):10-19, novembro 2022. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.02118>



methodologies in the national system of Public Health laboratories, aiming at the molecular characterization of foodborne pathogens; and 4) the encouragement of research with interdisciplinary approaches and the disclosure/publication of these data in scientific journals or other places that increase the scope of information. These were just some of the challenges discussed, but it is known that many others exist for the improvement of microbiological control of food.

KEYWORDS: Scientific Research; Health Surveillance; Food Microbiology; Food Safety; Quality Control

INTRODUÇÃO

É através do ato da alimentação que todos os seres humanos garantem ao corpo a oferta de energia e nutrientes indispensáveis à manutenção da vida. A alimentação e a nutrição adequadas colaboram para promoção, proteção e recuperação da saúde, e os alimentos, quando ofertados de modo correto, contribuem ao pleno crescimento e desenvolvimento¹. Desta forma, a oferta de alimentos precisa ser adequada em relação à quantidade de nutrientes e energia, e segura sob o ponto de vista higiênico-sanitário².

A segurança do alimento oferecido é obtida através de cuidados em todas as etapas da cadeia produtiva, desde a produção até o consumidor final. Os mecanismos de regulação, controle e fiscalização da qualidade do alimento ofertado a população diferem entre os países, porém todos visam construir e aperfeiçoar sistemas seguros de produção e distribuição de alimentos^{2,3,4}.

No Brasil, segundo o artigo 6^o da Lei n^o 8.080, de 19 de setembro de 1990, estão incluídas no campo de atuação do Sistema Único de Saúde, a identificação e divulgação dos fatores condicionantes e determinantes da saúde; como a vigilância nutricional e a orientação alimentar; e as ações de vigilância sanitária e epidemiológica⁵. O controle sanitário dos alimentos é uma responsabilidade compartilhada entre órgãos e entidades da administração pública, como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), as Vigilâncias Sanitárias Estaduais, Distrital e Municipais, os Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacen) e o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz)⁶.

A Anvisa coordena, supervisiona e controla as atividades de registro, inspeção, fiscalização e controle de riscos de alimentos, sendo responsável por estabelecer normas e padrões de qualidade e identidade. Já o Mapa é responsável pela regulamentação, regulação e controle da fabricação dos alimentos de origem animal (carne, peixe, leite, queijo, ovo, mel), bebidas (refrigerante, suco, bebida alcoólica), vinagre, produtos agrícolas *in natura* e pela classificação de alimentos de origem^{6,7}.

Mesmo com todos os esforços relacionados ao controle da qualidade de alimentos, as doenças de transmissão hídrica e por alimentos (DTHA) são importantes causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo, emergindo como um crescente problema econômico e de saúde pública^{8,9}. De acordo com Draeger et al.¹⁰, a deficiência no controle da qualidade dos alimentos por parte dos órgãos públicos e privados tem um forte impacto na ocorrência dessas doenças, pois é necessária a garantia de

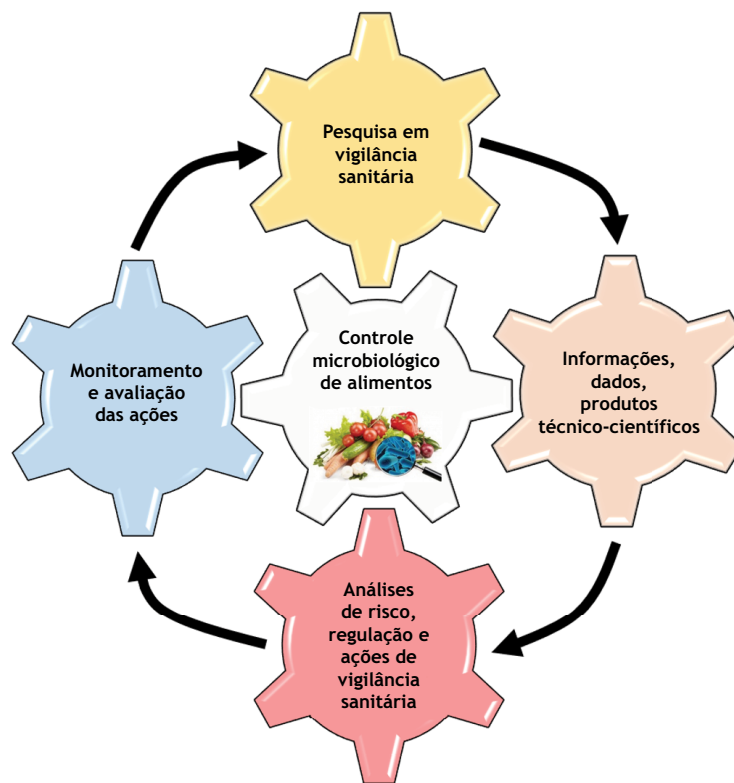
informações precisas para a base de políticas públicas eficientes, que proporcionem uma maior segurança alimentar.

A vigilância de surtos de DTHA pelo Ministério da Saúde teve início em 1999, e são classificados como eventos de saúde pública (ESP). O ESP é de notificação compulsória de acordo com a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional¹¹. Estes dados são compilados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação¹² e são de suma importância para direcionar as linhas de pesquisa, uma vez que lista os patógenos, alimentos, locais e regiões geográficas de maior ocorrência de DTHA.

A pesquisa em vigilância sanitária situa-se entre um sistema de inovação e o sistema de bem-estar social e deve articular-se intersetorialmente para consolidar a área na produção de conhecimento e na busca de respostas aos inúmeros problemas relativos aos riscos à saúde na atual sociedade¹³. Na área de microbiologia de alimentos, a pesquisa em vigilância sanitária possui importante papel para geração de dados e outros produtos técnico-científicos importantes para realização de análises de riscos, que poderão auxiliar na criação e/ou alterações de regulamentações na área ou ações de controle e fiscalização mais imediatas e eficientes, como devem ocorrer nos casos de surtos de DTHA⁹. Com base nas ações realizadas para atender as regulamentações (fiscalizações, programas de monitoramento, entre outros) e nos dados produzidos por estas, novas linhas de pesquisa poderão ser incentivadas e/ou priorizadas com o passar do tempo e o ciclo se inicia (Figura).

Em 2011, a Anvisa publicou a Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Vigilância Sanitária, que foi elaborada por um grupo de especialistas e teve como pressupostos: respeitar as necessidades nacionais e regionais de saúde e aumentar a indução seletiva para a produção de conhecimentos, bens materiais e processuais nas áreas prioritárias para o desenvolvimento das políticas sociais. A Agenda é composta por quatro temáticas de pesquisa, e 119 linhas de pesquisa. Na temática "2 - Objetivos de intervenção", alínea "1.2.3 Alimentos", estão descritas 14 dessas linhas¹³:

- Estudos sobre agricultura familiar e produção artesanal de alimentos e seus impactos na segurança alimentar;
- Avaliação da qualidade sanitária da alimentação institucional;
- Estudos de controle de qualidade, aspectos nutricionais e de rotulagem de alimentos;



Fonte: Elaborada pelo autor, 2022.

Figura. Ciclo da relação da pesquisa em vigilância sanitária com o controle microbiológico de alimentos.

- Avaliação do impacto na saúde humana do uso de produtos químicos (hormônios, antimicrobianos e outros) na criação de animais;
- Avaliação de segurança, impacto e qualidade nutricional dos organismos geneticamente modificados;
- Avaliação de técnicas de armazenagem de alimentos e preservação da qualidade nutricional;
- Estudos sobre o risco associado ao uso de aditivos na produção de alimentos industrializados;
- Estudos sobre comércio ambulante de alimentos (comida de rua) e impacto na saúde;
- Avaliação de contaminantes e resíduos associados à produção de alimentos;
- Estudos sobre doenças veiculadas por alimentos e patógenos emergentes;
- Avaliação da qualidade de metodologias analíticas através de Ensaio de Proficiência;
- Estudos sobre a produção industrial e os seus impactos na segurança alimentar;
- Estudos de eficácia, efetividade e segurança de equipamentos de uso em Unidades de Alimentação;

- Estudos sobre alimentos e nutrientes de interesse das políticas de alimentação e nutrição.

Pode-se observar que a área de microbiologia de alimentos se insere em diversas linhas de pesquisa descritas na Agenda. Este fato reforça a importância do incentivo à pesquisa nesta área, de forma a garantir a segurança dos alimentos ofertados à população.

Incentivo e pesquisa na área de controle microbiológico de alimentos

O *Codex Alimentarius* é um conjunto de padrões alimentares adotado internacionalmente e apresentado de maneira uniforme. Os objetivos das publicações desse órgão de controle de alimentos importados são proteger a saúde do consumidor e garantir práticas legais no comércio internacional de alimentos, evitando barreiras técnicas injustificadas para o comércio¹⁴.

Durante a revisão de documentos (normas, guias, códigos de práticas, entre outros), o *Codex Alimentarius* leva em conta dados levantados pelos países, além de publicações da literatura científica referentes ao tema de discussão em questão. Esses dados da literatura científica podem ter diferentes origens, como instituições de pesquisa, desenvolvimento e ensino (universidades, escolas de formação técnica, fundações), empresas públicas e privadas, institutos, entre outros. Neste contexto, os Programas de Pós-graduação que abrangem em



seu escopo o controle da qualidade de alimentos possuem destaque, uma vez que produzem trabalhos de conclusão de curso, dissertações, teses, artigos científicos, produtos tecnológicos (por exemplo: manuais, procedimentos operacionais padronizados, cartilhas e relatórios), que podem ser consultados e utilizados nestas análises. De acordo com os dados da Plataforma Sucupira, na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, existem 59 Programas de Pós-graduação com diferentes modalidades de cursos de mestrado e doutorado (Tabela).

Podemos observar que o número de programas e cursos na área acadêmica são muito superiores em relação ao profissional, ainda inexistindo um curso de doutorado profissional na área (Tabela). Contudo, existem programas de outras áreas de classificação da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior que também atuam no controle de qualidade de alimentos, como a área da Farmácia, Saúde Coletiva ou Interdisciplinar. A última citada é o caso do Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária do INCQS/Fiocruz, que possui uma atuação expressiva com pesquisas na área de microbiologia de alimentos. Desta forma, esta ferramenta não é a mais adequada para dimensionar os programas e cursos de pós-graduação no Brasil que atuam no controle microbiológico de alimentos.

Os dados produzidos na pesquisa em vigilância sanitária são de suma importância para as análises de riscos. Na área de alimentos, a análise de risco se tornou “mais importante do que nunca” com os novos modos de produção e processamento de alimentos¹⁵. As alterações nos padrões de consumo e a expansão do mercado internacional são alguns dos fatores que podem contribuir para o surgimento de novos perigos e para a urgência da solução para problemas já conhecidos¹⁶. Desta forma, a pesquisa em vigilância sanitária é uma importante ferramenta para se conhecer, entender e controlar estes “novos” perigos.

Para o desenvolvimento da pesquisa em vigilância sanitária, se faz necessário um investimento por parte do setor produtivo e dos organismos fiscalizadores¹⁷. Outra importante fonte de financiamento também ocorre por meio de órgãos de fomento nacionais e internacionais. Apesar dos Editais Universais serem lançados todos os anos pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), apenas em 2012, em parceria com a Anvisa, o primeiro edital específico voltado à área de vigilância sanitária foi lançado. Posteriormente foram lançados mais dois editais e ações específicas relacionadas ao controle

microbiológico de alimentos foram contempladas em 2012 e 2014, demonstrando a importância desta linha de pesquisa para o país (Quadro).

Mesmo com o lançamento destes editais (Quadro) que contemplaram algumas das áreas prioritárias relacionadas a alimentos que estavam elencadas na Agenda Nacional de Prioridades de Pesquisa em Vigilância Sanitária¹³, eles ainda não são suficientes para atender todas as demandas de pesquisa. A Agenda visou subsidiar os gestores das áreas de vigilância sanitária, pesquisa e inovação no sentido de ampliar o fomento às linhas de pesquisa priorizadas e contribuir para o avanço científico nesta área e para os processos regulatórios, fundamentando todas as ações pertinentes a seu vasto campo de atuação na proteção e promoção da saúde¹³. Lopes et al.¹⁷ analisaram as transferências financeiras federais para as ações laboratoriais de vigilância sanitária no Brasil no período de 2007 a 2016 e destacaram a necessidade da construção de uma política de financiamento sólida e permanente para os laboratórios públicos de vigilância sanitária do país.

Produção técnico-científica da pesquisa em vigilância sanitária aplicada ao controle microbiológico de alimentos

Uma linha de pesquisa prioritária aplicada ao controle microbiológico de alimentos foi voltada ao desenvolvimento de processos de produção de materiais de referência (MR) para ensaios de proficiência (EP) aplicados à microbiologia de alimentos¹³. Esta iniciativa teve como objetivos fortalecer a qualidade dos laboratórios que realizam EP no Brasil e diminuir a dependência externa quanto à obtenção de MR e à participação em EP¹⁸.

Inicialmente, os trabalhos foram desenvolvidos tendo a técnica de liofilização como escolha para estabilização destes materiais, sendo a matriz leite a selecionada devido às características crioprotetoras intrínsecas da matriz e por ser líquida, o que facilitava a distribuição, o envase e a posterior liofilização dos lotes^{19,20,21,22}. Posteriormente, este processo foi adaptado para outras matrizes como: queijo^{23,24,25,26}, carne bovina²⁷ e de frango²⁸, chocolate²⁹, ovo³⁰, arroz³⁰ e água³¹. Todas estas matrizes foram selecionadas com base nos alimentos mais incriminados em casos de DTHA no Brasil¹², novamente ressaltando a importância dos dados da vigilância epidemiológica das DTHA no direcionamento de linhas de pesquisa prioritárias (Figura).

Tabela. Programas e cursos de Pós-graduação avaliados e reconhecidos na área de ciência e tecnologia de alimentos cadastrados na Plataforma Sucupira.

Nome (Área de Avaliação)	Programas de pós-graduação (n = 59)						Cursos de pós-graduação (n = 91)			
	ME	DO	MP	DP	ME/DO	MP/DP	ME	DO	MP	DP
Ciência e tecnologia de alimentos (Ciência de alimentos)	18	-	9	-	32	-	50	32	9	-

Fonte: Plataforma Sucupira. Cursos Avaliados e Reconhecidos. Área de Avaliação. Área de Conhecimento. Ciência e Tecnologia de Alimentos [acesso 25 ago 2022] Disponível em: <https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/programa/quantitativos/quantitativoAreaConhecimento.xhtml?areaAvaliacao=25>.

ME: Mestrado Acadêmico; DO: Doutorado Acadêmico; MP: Mestrado Profissional; DP: Doutorado Profissional; ME/DO: Mestrado Acadêmico e Doutorado Acadêmico; MP/DP: Mestrado Profissional e Doutorado Profissional.



Quadro. Editais lançados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico específicos da área de vigilância sanitária.

Edital	Linhas prioritárias relacionadas ao controle microbiológico de alimentos	Subtemas	Objetivos
Chamada em Vigilância Sanitária nº 23/2012	Estudos sobre doenças veiculadas por alimentos e patógenos emergentes	Ocorrência de doenças veiculadas por alimentos e patógenos emergentes	Verificar a ocorrência de doenças veiculadas por alimentos e patógenos emergentes (<i>Trypanosoma cruzi</i> , norovírus e parasitas em frutas, legumes e verduras)
Chamada CNPq/Anvisa nº 05/2014 - Pesquisas em Vigilância Sanitária	Estudos sobre doenças veiculadas por alimentos e patógenos emergentes	Produção de material de referência	Produzir MRC para uso em laboratórios públicos que atuam em microbiologia de alimentos, podendo contemplar: 1) MRC para <i>Salmonella</i> sp. caracterizado (identidade) para o microrganismo e utilização em análises qualitativas (presença/ausência do microrganismo) ou 2) MRC para <i>Escherichia coli</i> com a determinação do valor quantitativo para uso em análises quantitativas
		Prevalência de espécies do gênero <i>Campylobacter</i> em alimentos	Determinar a prevalência de espécies do gênero <i>Campylobacter</i> de interesse para a saúde humana em alimentos comercializados no Brasil
		Prevalência de espécies do gênero <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica em alimentos	Determinar a prevalência de espécies do gênero <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica em alimentos comercializados no Brasil
Chamada CNPq/Anvisa nº 17/2017 - Pesquisa em Vigilância Sanitária	Não contemplado	Não contemplado	Não contemplado

Fonte: Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. CNPq. Chamadas Públicas. [Acesso 25 ago 2022] Disponível em: http://memoria2.cnpq.br/web/guest/chamadas-publicas?p_p_id=resultadosportlet_WAR_resultadoscnpqportlet_INSTANCE_0ZaM&filtro=encerradas/
CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico; Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; MRC: Material de Referência Certificado.

Com o desenvolvimento destes MR, o Programa de Ensaios de Proficiência em Produtos Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária (EP/INCQS) pode oferecer 30 rodadas de EP na área de Microbiologia de Alimentos, fortalecendo a qualidade dos laboratórios brasileiros no controle microbiológico de alimentos³⁰.

Pesquisas aplicadas à produção de materiais de referência certificados (MRC) de cepas de bactérias isoladas de alimentos também foram realizadas. Estas tiveram como objetivo a redução da dependência de laboratórios brasileiros na aquisição destes materiais para uso na garantia da validade dos ensaios realizados. Estas pesquisas foram financiadas através de editais do CNPq que priorizaram este tema (Quadro) e, posteriormente, por um edital do Programa Inova Fiocruz³². A partir destes trabalhos, foram produzidos diversos MRC contendo diferentes espécies bacterianas de interesse da área de microbiologia de alimentos³³.

Outra linha de pesquisa em vigilância sanitária aplicada na área de microbiologia de alimentos foi a dos estudos que focaram na avaliação da qualidade microbiológica de determinados grupos alimentícios de acordo com legislações nacionais e/ou internacionais vigentes, associados a alguma pesquisa de patógeno(s) ou grupos de micro-organismos adicionais de importância em saúde pública. Este tipo de “desenho experimental” acabou se tornando muito comum, pois a publicação de trabalhos em revistas científicas que realizavam apenas análises microbiológicas previstas nas legislações vigentes acabavam sendo vistas pelos editores e/ou pareceristas como atividades de rotina e sem grande relevância científica. Desta forma, muitos dados referentes às análises microbiológicas realizadas em laboratórios de

microbiologia de alimentos, incluindo os Lacen, acabam que não são publicados e compartilhados com a comunidade científica. Lopes e Seta³⁴ realizaram uma revisão integrativa de literatura no tema “laboratórios de saúde pública e vigilância sanitária” em três bases de dados: 1) Portal Capes - Banco de Teses da Capes, 2) *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e 3) *PubMed Central* (PMC). O Banco de Teses da Capes foi o que apresentou maior frequência de materiais bibliográficos em todos os temas pesquisados, incluindo alimentos. Os autores inferem que o pequeno número identificado nas bases SciELO e PMC parece ser um indicativo de que a produção de teses e dissertações nem sempre resulta em artigos científicos publicados em revistas indexadas de textos completos e acesso livre.

Pesquisas que avaliaram a presença de vírus de interesse em alimentos (por exemplo: norovírus e rotavírus) e a associaram à qualidade higiênico-sanitária prevista na legislação foram realizadas em amostras de: alface³⁵, morango³⁶, tomate³⁷, queijo³⁸ e água mineral natural³⁹. Estes estudos foram alinhados às áreas de prioridade da Anvisa (Quadro). Outros estudos avaliaram a presença de patógenos bacterianos, como: *Listeria monocytogenes* em alimentos prontos para o consumo⁴⁰, que atualmente foi incorporado como critério na legislação vigente^{41,42}, e *Cronobacter* spp. em produtos farináceos à base de milho⁴³ e água mineral natural⁴⁴.

Estudos de caracterização de patógenos isolados de alimentos aplicados ao controle microbiológico de alimentos

Outra linha de pesquisa de grande importância e explorada na área de microbiologia de alimentos são estudos voltados à



caracterização de patógenos bacterianos isolados a partir de amostras de alimentos. Neste campo, cepas isoladas em estudos de monitoramento de alimentos são colecionadas e utilizadas para caracterização, com foco na disseminação da resistência antimicrobiana, fatores de virulência associadas à contaminação na cadeia de alimentos (por exemplo: formação de biofilme, resistência a dessecação, capacidade agregativa), genética molecular, entre outros.

Pesquisas realizadas com cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas a partir de amostras de águas minerais comercializadas em galões de 20 litros demonstraram a capacidade de formação de biofilme pela maioria das cepas identificadas^{39,45,46}. Estudos extensos também foram realizados com cepas do gênero *Cronobacter*, revelando a circulação de clones patogênicos^{44,47,48}, a produção de citotoxinas⁴⁹, resistência a antimicrobianos^{43,47,50,51,52,53}, a formação de biofilme e a capacidade agregativa⁴⁸.

Durante a investigação sanitária, é fundamental a liberação de resultados em um curto tempo, além de estabelecer uma relação clonal entre as cepas identificadas, sendo possível investigar a origem de um surto alimentar e detectar focos de contaminação ao longo da cadeia de processamento de alimentos⁵⁴. A detecção rápida e precisa dos patógenos é essencial durante as investigações epidemiológicas em um caso ou surto de DTHA, sendo também fundamental para prevenir infecções de origem alimentar e garantir a segurança dos alimentos⁵⁵. Neste contexto, a biologia molecular aplicada à tipificação de bactérias associadas à DTHA tem sido uma ferramenta importante na elucidação de surtos e entendimento da cadeia de transmissão desses micro-organismos⁵⁴.

Diversas técnicas podem ser aplicadas para esta finalidade, sendo o sequenciamento do genoma completo, do inglês *Whole Genome Sequencing* (WGS), considerada a técnica atual de escolha e com maior investimento para esta finalidade^{54,56,57,58,59}. O WGS analisa toda a sequência presente no DNA genômico de uma célula, permitindo a identificação de mutações que não são possíveis de visualizar nos métodos de sequenciamento baseados em pequenas regiões codificantes do material genético. O WGS surgiu como uma técnica eficiente para realizar rastreamento de fontes de micro-organismos na indústria de alimentos por adicionar uma maior precisão na investigação, levando a uma tomada de decisão mais rápida e eficiente^{57,58}.

A *Food and Drug Administration* (FDA), que é a agência reguladora responsável pela segurança dos alimentos e outros produtos produzidos e importados nos Estados Unidos da América, por meio do *Center for Food Safety and Applied Nutrition*, estabeleceu a primeira rede de laboratório a utilizar WGS para rastrear micro-organismos transmitidos por alimentos, a *GenomeTrakr WGS Network*. Os dados são armazenados no banco de dados público no Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia (NCBI) e podem ser acessados por pesquisadores de todo o mundo. A *PulseNet* internacional também vem ao longo dos anos realizando esforços para implementar WGS dentro da rede *PulseNet* como uma ferramenta de rotina para substituir a técnica de eletroforese em gel de campo pulsado⁵⁸.

Para realizar a comparação entre dois isolados bacterianos, uma das análises que podem ser utilizadas para avaliar os dados brutos após o sequenciamento de um genoma bacteriano é o *Multi-locus sequence type* (MLST). Podem ser aplicados três níveis de discriminação: 1) a partir de um esquema que avalia até sete genes constitutivos, MLST clássico; 2) utilizando o MLST do genoma central (cgMLST, do inglês *Core genome MLST*) e 3) MLST do genoma completo (wgMLST, do inglês *Whole genome MLST*)⁵⁹.

Apesar dos benefícios desse tipo de análise, alguns fatores ainda limitam a utilização do WGS na cadeia produtiva de alimentos. Mesmo com a redução dos custos do sequenciamento ao longo dos anos, a aquisição e manutenção do equipamento, os custos dos insumos e a expertise para execução dos procedimentos e a análise dos dados gerados pelos profissionais ainda possuem um custo maior quando comparado com outros métodos moleculares e limitam a utilização da técnica de WGS. Além disso, os dados podem levar dias até que os resultados obtidos sejam curados e, para ser utilizado na rotina, é necessário pessoal especializado que saiba utilizar as ferramentas de bioinformática para o processamento dos dados⁵⁴. Desta forma, estratégias, como a criação de redes ou laboratórios sentinelas, devem ser avaliadas e implementadas de forma que a vigilância sanitária consiga dar respostas rápidas de forma a prevenir, minimizar e controlar os surtos e casos esporádicos de DTHA. Este foi o caso do Programa Nacional de Fortalecimento das Ações de Vigilância Sanitária em Portos, Aeroportos e Fronteiras, instituído pela Portaria nº 2.795, de 6 de dezembro de 2012, que institui incentivo financeiro de custeio destinado aos Lacen para ações para execução de análises laboratoriais⁶⁰. Nestas ações, coube aos Lacen do Amazonas, Bahia, Ceará, Pará, Pernambuco, Rio de Janeiro, Santa Catarina e São Paulo a execução das análises de determinação de norovírus em água e alimentos. Como a determinação de norovírus em água e alimentos demanda análises que necessitam de técnicas moleculares que não são comumente realizadas pelos laboratórios públicos⁶¹, os Lacen dos estados supracitados acabaram sendo escolhidos pela sua localização geográfica mais próxima das regiões portuárias, o que facilitaria a eficácia das ações.

A pesquisa multidisciplinar em alimentos: um desafio a ser enfrentado

Um desafio a ser enfrentado na área da pesquisa aplicada ao controle de qualidade de alimentos é a realização de trabalhos com enfoque multidisciplinar. No passado, muitos trabalhos apenas realizavam ensaios microbiológicos ou físico-químicos de forma individual. Esta abordagem acaba enfraquecendo o controle de qualidade como um todo, pois o ideal é cada vez mais se tentar realizar uma abordagem que envolva diferentes áreas do conhecimento, como análise de rotulagem, físico-químicas, microbiológicas, entre outras, de forma a se obter um panorama mais completo da qualidade e características do alimento, e permitir a correção das informações. Um exemplo é o trabalho realizado



por Meier et al.⁶², que permitiu uma avaliação da correlação de parâmetros físico-químicos de queijos artesanais com sua qualidade microbiológica.

A Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 724, de 1° de julho de 2022, que dispõe sobre os padrões microbiológicos dos alimentos e sua aplicação⁴¹, é um exemplo claro da necessidade da convergência das áreas de conhecimento para o controle microbiológico de alimentos. Esta RDC é aplicada em conjunto com a Instrução Normativa (IN) n° 161, de 1° de julho de 2022, que estabelece os padrões microbiológicos⁴². Nesta IN, foram incluídas a quantificação de histamina e enterotoxinas estafilocócicas em determinados grupos de alimentos. Para a realização destas análises, são geralmente utilizadas técnicas imunoenzimáticas⁶³ ou físico-químicas⁶⁴, que muitas vezes não estão implementadas em laboratórios de microbiologia de alimentos. Além disso, muitos profissionais não possuem qualificação técnica para a execução destes ensaios, o que demandaria treinamentos para estes grupos antes da implementação destas metodologias. Outra opção para a resolução desta questão é a formação de redes e a colaboração entre laboratórios de diferentes áreas de conhecimento, de forma a possibilitar a resolução de todos os ensaios preconizados nas legislações.

REFERÊNCIAS

1. Ministério da Saúde (BR). Política nacional de alimentação e nutrição. Brasília: Ministério da Saúde; 2013.
2. Azevedo RMMC, Jorge K, Azeredo DRP. Evolução do conceito de segurança alimentar. In: Sant'ana AS, Azeredo DRP, editores. Coleção ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição: inocuidade dos alimentos. Rio de Janeiro: Atheneu; 2017. p. 3-15.
3. Food and Agriculture Organization - FAO. Food safety risk analysis: a guide for national food safety authorities. Rome: Food and Agriculture Organization; 2006. p. 1-101.
4. Brasil. Lei N° 11.346, de 15 de setembro de 2006. Cria o sistema nacional de segurança alimentar e nutricional SISAN com vistas em assegurar o direito humano à alimentação adequada e dá outras providências. Diário Oficial União. 18 set 2006.
5. Brasil. Lei N° 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial União. 20 set 1990.
6. Rosas CO, Brandão MLL, Lopes SMR. Ações e estratégias da vigilância epidemiológica. In: Sant'ana AS, Azeredo DRP, editores. Coleção ciência, tecnologia, engenharia de alimentos e nutrição: inocuidade dos alimentos. Rio de Janeiro: Atheneu; 2017. p. 51-64.
7. Ministério da Saúde (BR). Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos série A: normas e manuais técnicos. Brasília: Ministério da Saúde; 2010.
8. Dewey-Mattia D, Manikonda K, Hall AJ, Wise ME, Crowe SJ. Surveillance for foodborne disease outbreaks: United States, 2009-2015. *MMWR Surveill Summ*. 2018;67(10):1-11. <https://doi.org/10.15585/mmwr.ss6710a1>
9. White AE, Smith KE, Booth H, Medus C, Tauxe RV, Gieraltowski L et al. Hypothesis generation during foodborne-illness outbreak investigations. *Am J Epidemiol*. 2021;190(10):2188-97. <https://doi.org/10.1093/aje/kwab118>
10. Draeger CL, Akutsu RCCA, Zandonadi RP, Silva ICR, Botelho RBA, Araújo WMC. Brazilian foodborne disease national survey: evaluating the landscape after 11 years of implementation to advance research, policy, and practice in public health. *Nutrients*. 2018;11(1):40. <https://doi.org/10.3390/nu11010040>
11. Ministério da Saúde (BR). Portaria N° 420, de 2 de março de 2022. Altera o anexo 1 do anexo V à Portaria de Consolidação GM/MS N° 4, de 28 de setembro de 2017, para incluir a síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika na lista nacional de notificação compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional. Diário Oficial União. 4 mar 2022.
12. Ministério da Saúde (BR). Surtos de doenças de transmissão hídrica ou alimentar: informe 2022. Brasília: Ministério da Saúde; 2022[acesso 17 set 2022]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dtha/arquivos/apresentacao-surtos-dtha-2022.pdf/view>

CONCLUSÕES

A pesquisa em vigilância sanitária é de grande importância para a geração de conhecimento, de forma a subsidiar ações preventivas, regulamentação de produtos e serviços, ou mesmo ações imediatas para resolução de problemas detectados. Na área de microbiologia de alimentos, esta precisa de cada vez mais incentivo pelos órgãos nacionais e internacionais de forma a acelerar a obtenção de dados de importância para a resolução dos problemas atuais e futuros. Como os recursos são escassos, a priorização dentro da área também é um desafio, pois depende de que os dados da vigilância epidemiológica das DTHA sejam contemporâneos, verdadeiros e territoriais.

Em relação a pesquisas direcionadas à caracterização molecular de micro-organismos associados a DTHA, o WGS é a técnica atual de maior escolha. Desta forma, os laboratórios de saúde pública do Brasil terão que se adequar para absorver e implementar esta metodologia em um futuro breve.

O compartilhamento dos resultados das análises dos laboratórios de microbiologia de alimentos por meio de publicação em revistas científicas, mesmo aquelas que apenas focam na avaliação da qualidade segundo parâmetros da legislação, precisa também ser incentivado.



13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Agenda nacional de prioridades de pesquisa em vigilância sanitária. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2011.
14. Food and Agriculture Organization - FAO. Codex Alimentarius International Food Standards. Rome: Food and Agriculture Organization; 2022[acesso 17 set 2022]. Disponível em: <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/en/>
15. Figueiredo A, Miranda M. Análise de risco aplicada aos alimentos no Brasil: perspectivas e desafios. Cienc Saúde Coletiva. 2011;16(4):2251-62. <https://doi.org/10.1590/S1413-81232011000400024>
16. Cho TJ, Kim SA, Kim HW, Park SM, Rhee MS. Changes in consumers' food purchase and transport behaviors over a decade (2010 to 2019) following health and convenience food trends. Int J Environ Res Public Health. 2020;17(15):1-14. <https://doi.org/10.3390/ijerph17155448>
17. Lopes RGA, Seta MH, Battesini M. Análise das transferências financeiras federais para as ações laboratoriais de vigilância sanitária no Brasil: 2007 a 2016. Vigil Sanit Debate. 2019;7(3):14-24. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.01311>
18. Rosas CO, Rodrigues JM, Cruz MHC, Lopes SMR, Solto ASS, Brandão MLL et al. Microbiological reference material (bacterial and fungal domains): definition, production rules, use and need for establishment in Brazil. Braz J Food Technol. 2019;22:1-11. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.20817>
19. Rosas CO, Brandão MLL, Bricio SML, Medeiros VM, Bernardo SPC, Cruz MHC et al. Desenvolvimento de material de referência para ensaio de proficiência em microbiologia de alimentos. Rev Inst Adolfo Lutz. 2010;69(1):15-22. <https://doi.org/10.53393/rial.2010.v69.32670>
20. Brandão MLL, Rosas CO, Bricio SML, Costa JCB, Medeiros VM, Warnken MB et al. Avaliação de crioprotetores na produção de material de referência para enumeração de coliformes em leite em pó a ser utilizado em ensaio de proficiência. Rev Inst Adolfo Lutz. 2013;72(2):124-30.
21. Brandão MLL, Rosas CO, Bricio SML, Costa JCB, Medeiros VM, Warnken MB. Produção de materiais de referência para avaliação de métodos microbiológicos em alimentos: estafilococos coagulase positiva e *Listeria* spp. em leite em pó. Analytica. 2013;11(63):60-70.
22. Brandão MLL, Rosas CO, Bricio SML, Costa JCB, Medeiros VM, Cruz MHC et al. Produção de material de referência para ensaio de proficiência de enumeração de *Bacillus cereus* em leite. Vigil Sanit Debate. 2014;2(1):39-45. <https://doi.org/10.3395/vd.v2i1.60>
23. Brandão MLL, Rosas CO, Bricio SML, Medeiros VM, Costa JCB, Pinheiro RR et al. Preparation of reference material for proficiency test for enumeration of coliforms in cheese matrix. Detection. 2013;1(1):7-12. <https://doi.org/10.4236/detection.2013.11002>
24. Brandão MLL, Costa JCB, Farias FM, Rosas CO, Bricio SML, Nascimento JS et al. Desenvolvimento de material de referência para microbiologia de alimentos contendo *Listeria monocytogenes* em matriz queijo. Cienc Rural. 2013;43(10):1905-10. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782013001000028>
25. Brandão MLL, Costa JCB, Farias FM, Rosas CO, Bricio SML, Nascimento JS et al. Desenvolvimento de material de referência para microbiologia de alimentos contendo estafilococos coagulase positiva em matriz queijo. Braz J Food Technol. 2013;16(1):73-9. <https://doi.org/10.1590/S1981-67232013005000006>
26. Costa JCB, Rosas CO, Bricio SML, Brandão MLL, Medeiros VM, Pinheiro RR et al. Preparo de itens de ensaio de proficiência em matriz queijo para a pesquisa de *Salmonella* spp. Vigil Sanit Debate. 2015;3(3):11-8. <https://doi.org/10.3395/2317-269x.00367>
27. Brandão MLL, Rosas CO, Bricio SML, Costa JCB, Vieira LR, Medeiros VM et al. Avaliação de matrizes de carne bovina na produção de itens de ensaio de proficiência para pesquisa de *Salmonella* spp. Alim Nutr. 2014b;25(1):13-18.
28. Silva IC, Costa PV, Vasconcellos L, Coimbra PT, Medeiros VM, Rosas CO et al. Produção de itens de ensaio de proficiência contendo bactérias em matriz frango utilizando a técnica de liofilização. Vigil Sanit Debate. 2021;9(2):59-67. <https://doi.org/10.22239/2317-269x.01695>
29. Silva MLC, Brandão MLL, Rosas CO, Medeiros VM, Silva CC, Tavares RDO et al. Desenvolvimento de itens de ensaio de proficiência para pesquisa de *Salmonella* spp. em matriz chocolate. Vigil Sanit Debate. 2017;5(2):106-12. <https://doi.org/10.22239/2317-269x.00838>
30. Rocha DRA. Performance analítica dos laboratórios de microbiologia de alimentos - programa de ensaios de proficiência do incqs [monografia]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2019.
31. Coimbra PT, Rosas CO, Medeiros VM, Silva IC, Vasconcellos L, Brandão MLL et al. Preparo de itens de ensaio de proficiência para contagem de bactérias mesófilas em matriz água e pesquisa de *Escherichia coli* em água. In: 6ª Jornada Científica do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde; 2017; Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2017.
32. Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz. Programa Inova Fiocruz. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2022[acesso 17 set 2022]. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/programa-inova-fiocruz-2022>
33. Rosas CO. Desenvolvimento de materiais de referência microbiológicos certificados por métodos fenotípicos e moleculares [tese]. Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz; 2018.
34. Lopes RGA, Seta MH. Integração laboratórios-vigilância sanitária: uma revisão. Vigil Sanit Debate. 2017;5(2):97-105. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.00908>
35. Brandão ML, Almeida DO, Bispo FC, Bricio SM, Marin VA, Miagostovich MP. Assessment of microbiological contamination of fresh, minimally processed, and ready-to-eat lettuces (*Lactuca sativa*), Rio de Janeiro State, Brazil. J Food Sci. 2014;79(5):M961-6. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12459>



36. Melgaço FG, Victoria M, Corrêa AA, Ganime AC, Malta FC, Brandão ML et al. Virus recovering from strawberries: evaluation of a skimmed milk organic flocculation method for assessment of microbiological contamination. *Int J Food Microbiol.* 2016;217:14-9. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.005>
37. Melgaço FG, Corrêa AA, Ganime AC, Brandão MLL, Medeiros VM, Rosas CO et al. Evaluation of skimmed milk flocculation method for virus recovery from tomatoes. *Braz J Microbiol.* 2018;49(Suppl.1):34-9. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.04.014>
38. Melgaço FG, Luz IS, Assis MRS, Caldas MS, Maranhão AG, Silva DAF et al. Assessment of viral and bacterial contamination of fresh and ripened semi-hard cheeses. *Fems Microbiol Lett.* 2018;365(20):1-7. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny225>
39. Luz IDS, Vasconcellos L, Medeiros VM, Miranda CAC, Rosas CO, Pimenta MMA et al. Assessment of the microbiological quality of natural mineral waters according to the manufacturing time of 20 L returnable packs in Brazil. *Fems Microbiol Lett.* 2020;367(15):1-9. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa120>
40. Silva D, Carvalho C, Brandão ML, Rosas C, Medeiros V, Tavares R et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e identificação dos sorovares em alimentos prontos para o consumo comercializados no estado do Rio de Janeiro. *R Científica UBM.* 2017;19(36):47-50. <https://doi.org/10.52397/rcubm.v19i36.1000>
41. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. RDC Nº 724, de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Diário Oficial União. 6 jul 2022.
42. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa. Instrução normativa Nº 161, de 1 de julho de 2022. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. Diário Oficial União. 6 jul 2022.
43. Costa PV, Vasconcellos L, Silva IC, Medeiros VM, Forsythe SJ, Brandão MLL. Multi-locus sequence typing and antimicrobial susceptibility profile of *Cronobacter sakazakii* and *Cronobacter malonaticus* isolated from corn-based fermented foods commercialized in Brazil. *Food Res Int.* 2020;129:108805. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108805>
44. Vasconcellos L, Medeiros VM, Rosas CO, Forsythe SJ, Romão CMCPA, Brandão MLL. Occurrence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Cronobacter* species in commercially available 20 l bottled drinking water sold in Rio de Janeiro State, Brazil. *Lett Appl Microbiol.* 2019;69(6):431-7. <https://doi.org/10.1111/lam.13235>
45. Pedrosa AP, Brandão MLL, Medeiros VM, Rosas CO, Bricio SML, Almeida AECC. Pesquisa de fatores de virulência em *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. *Rev Ambient Água.* 2014;9(2):313-24. <https://doi.org/10.4136/ambi-agua.1359>
46. Vasconcellos L, Miranda CA, Costa P, Silva I, Romão CM, Brandão M. Caracterização molecular e avaliação da formação e tolerância a biocida do biofilme de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de águas minerais naturais. *R Cientif UBM.* 2021;23(44):193-205. <https://doi.org/10.52397/rcubm.v23i44.878>
47. Brandão MLL, Umeda NS, Jackson E, Forsythe SJ, Filippis I. Isolation, molecular and phenotypic characterization, and antibiotic susceptibility of *Cronobacter* spp. from Brazilian retail foods. *Food Microbiol.* 2017;63:129-38. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2016.11.011>
48. Umeda NS, Filippis I, Forsythe SJ, Brandão MLL. Phenotypic characterization of *Cronobacter* spp. strains isolated from foods and clinical specimens in Brazil. *Food Res Int.* 2017;102:61-67. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.083>
49. Costa PV, Siqueira RM, Guimarães ACR, Vasconcellos L, Midlej V, Conceição GMS et al. Cytotoxicity profile of *Cronobacter* species isolated from food and clinical specimens in Brazil. *J Appl Microbiol.* 2021;130(5):1758-69. <https://doi.org/10.1111/jam.14890>
50. Vasconcellos L, Carvalho CT, Tavares RO, Medeiros VM, Rosas CO, Silva JN et al. Isolation, molecular and phenotypic characterization of *Cronobacter* spp. in ready-to-eat salads and foods from Japanese cuisine commercialized in Brazil. *Food Res Int.* 2018;107:353-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.02.048>
51. Silva JN, Vasconcellos L, Forsythe SJ, Filippis I, Brandão MLL. Molecular and phenotypic characterization of *Cronobacter* species isolated with high occurrence from oats and linseeds. *Fems Microbiol Lett.* 2019;366(1):1-6. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny289>
52. Meier GOS, Brandão MLL, Medeiros VM, Rosas CO, Silva DAF, Carvalho CT et al. Pesquisa, identificação e perfil de suscetibilidade antimicrobiana de *Cronobacter* spp. em produtos destinados à alimentação infantil. *Rev Inst Adolfo Lutz* 2016;75:1-9. <https://doi.org/10.53393/rial.2016.v75.33510>
53. Brandão MLL, Meier GOS, Carvalho CT, Silva DAF, Umeda NS, Medeiros VM et al. Identificação de *Cronobacter* spp. em queijos e perfil de suscetibilidade antimicrobiana. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2016;75:1-6. <https://doi.org/10.53393/rial.2016.v75.33523>
54. Wei X, Zhao X. Advances in typing and identification of foodborne pathogens. *Curr Op Food Sci.* 2021;37:52-7. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.09.002>
55. Fung F, Wang HS, Menon S. Food safety in the 21st century. *Biomed J.* 2018;41(2):88-95. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.03.003>
56. Pasquali F, Remondini D, Snary EL, Hald T, Guillier L. Editorial: integrating whole genome sequencing into source attribution and risk assessment of foodborne bacterial pathogens. *Front Microbiol.* 2021;12:1-3. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.795098>
57. Li W, Cui Q, Bai L, Fu P, Han H, Liu J et al. Application of whole-genome sequencing in the National Molecular Tracing Network for foodborne disease surveillance in China. *Foodborne Pathog Dis.* 2021;18(8):538-46. <https://doi.org/10.1089/fpd.2020.2908>



58. Allard MW, Strain E, Melka D, Bunning K, Musser SM, Brown EW et al. Practical value of food pathogen traceability through building a whole-genome sequencing network and database. *J Clin Microbiol.* 2016;54(8):1975-83. <https://doi.org/10.1128/JCM.00081-16>
59. Brown E, Dessai U, McGarry S, Gerner-Smidt P. Use of whole-genome sequencing for food safety and public health in the United States. *Foodborne Pathog Dis.* 2019;16(7):441-50. <https://doi.org/10.1089/fpd.2019.2662>
60. Ministério da Saúde (BR). Portaria N° 2.795, de 6 de dezembro de 2012. Institui programa nacional de fortalecimento das ações de vigilância sanitária em portos, aeroportos e fronteiras e institui incentivo financeiro de custeio destinado aos laboratórios centrais de saúde pública (Lacen). *Diário Oficial União.* 7 dez 2022.
61. Luz IS, Miagostovich MP. Norovírus em alimentos. *Vigil Sanit Debate.* 2017;5(3):100-15. <https://doi.org/10.22239/2317-269X.00928>
62. Meier G, Costa P, Rosas C, Brandão M, Cortes MA. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de queijos maturados produzidos com leite cru. *Rev Cient UBM.* 2021;23(44):180-92. <https://doi.org/10.52397/rcubm.v23i44.877>
63. Bennett RW. Staphylococcal enterotoxin and its rapid identification in foods by enzyme-linked immunosorbent assay-based methodology. *J Food Prot.* 2005;68(6):1264-70. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.6.1264>
64. Souza ALM, Calixto FAA, Mesquita EFM, Packness MP, Azeredo DP. Histamina e rastreamento de pescado: revisão de literatura. *Arq Inst Biol.* 2015;82:1-11. <https://doi.org/10.1590/1808-1657000382013>

Contribuição do Autor

Concepção, planejamento (desenho do estudo), aquisição, análise, interpretação dos dados e redação do trabalho. O autor aprovou a versão final do trabalho.

Conflito de Interesse

O autor informa não haver qualquer potencial conflito de interesse com pares e instituições, políticos ou financeiros deste estudo.



Licença CC BY. Com essa licença os artigos são de acesso aberto que permite o uso irrestrito, a distribuição e reprodução em qualquer meio desde que o artigo original seja devidamente citado.