

**ESTADO DE SANTA CATARINA
CASA CIVIL**

Ofício nº 1174/CC-DIAL-GEMAT

Florianópolis, 19 de julho de 2021.

Senhor Presidente,

De ordem do Chefe da Casa Civil e em atenção ao Ofício nº GPS/DL/0361/2021, encaminho o Parecer nº 354/21, da Procuradoria-Geral do Estado (PGE), e o Ofício nº 870/2021, da Secretaria de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural (SAR), ambos contendo manifestação a respeito da Proposta de Sustação de Ato nº 0001.7/2021, a qual “Susta dispositivos do Decreto nº 362, de 2019, que ‘Regulamenta a Lei nº 17.486, de 2018, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências’”.

Respeitosamente,

Ivan S. Thiago de Carvalho
Procurador do Estado
Diretor de Assuntos Legislativos*

Excelentíssimo Senhor
DEPUTADO MAURO DE NADAL
Presidente da Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina
Nesta

*Portaria nº 038/2021 - DOE 21.558
Delegação de competência

OF 1174_PSA_0001.7_21_PGE_SAR_enc
SCC 12823/2021

Centro Administrativo do Governo do Estado de Santa Catarina
Rod. SC 401, nº 4.600, km 15 - Saco Grande - CEP 88032-000 - Florianópolis - SC
Telefone: (48) 3665-2054 | e-mail: gemat@casacivil.sc.gov.br



Código para verificação: **ONP0Z112**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



IVAN SÃO THIAGO DE CARVALHO (CPF: 661.XXX.149-XX) em 19/07/2021 às 15:22:29

Emitido por: "SGP-e", emitido em 13/07/2018 - 14:05:27 e válido até 13/07/2118 - 14:05:27.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyODIzXzEyODMzXzlwMjFfT05QMFoxMTI=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012823/2021** e o código **ONP0Z112** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA

PARECER Nº 354/2021-PGE

Florianópolis, data da assinatura digital.

Referência: SCC 12920/2021

Assunto: Consulta sobre Proposta de Sustação de Ato nº 001.7/2021

Origem: Casa Civil (CC)

Interessado: Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina (ALESC)

Ementa: Pedido de Diligência. Proposta de Sustação de Ato - PSA nº 0001.7/2021, que "Susta dispositivos do Decreto nº 362, de 2019, que 'Regulamenta a Lei nº 17.486, de 2018, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências'". Comissão de Constituição e Justiça (CCJ) da ALESC. Art. 40, VI, da CESC/89. Controle político de constitucionalidade. Necessidade de demonstração de exorbitância do poder regulamentar exercido pelo Poder Executivo. Inocorrência de extrapolação de poder a justificar a adoção da excepcional medida. Parecer pela existência de óbice jurídico à proposta.

Senhor Procurador-Chefe da Consultoria Jurídica, designado

RELATÓRIO

Trata-se de pedido de diligência formulado pela Comissão de Constituição e Justiça da Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina, competindo à Procuradoria-Geral do Estado, consoante Ofício nº 1123/CC-DIAL-GEMAT, o exame da constitucionalidade e da legalidade e a emissão de parecer a respeito da Proposta de Sustação de Ato nº 0001.7/2021, que "Susta dispositivos do Decreto nº 362, de 2019".

A proposta foi encaminhada em atenção ao art. 334 do Regimento Interno da ALESC:

Art. 334. A proposta de sustação será encaminhada à Comissão de Constituição e Justiça que, no caso de acolhimento, abrirá prazo de 10 (dez) dias *para que o Chefe do Poder Executivo defenda junto à Comissão a validade do ato impugnado*, contados da data do ofício do Presidente da Assembleia Legislativa.

§ 1º Conhecidas as razões do Poder Executivo, a Comissão de Constituição e Justiça deliberará na forma regimental.

§ 2º Se a Comissão deliberar pela procedência da impugnação, encaminhará à Mesa projeto de decreto legislativo, propondo a sustação do ato impugnado, que será incluído na Pauta e na Ordem do Dia da Sessão subsequente.

§ 3º Se a deliberação for pela legalidade do ato em exame, proporá à Mesa o arquivamento da proposta de sustação.



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA**

Constata-se que a Comissão de Constituição e Justiça (CCJ) da ALESC acolheu a Proposta de Sustação de Ato, formulada pelo Deputado Nilson Berlanda sob a justificativa de que os dispositivos impugnados contêm "regras que extrapolam o poder regulamentar do Chefe do Executivo", além de "serem contraditórias, excêntricas e descabidas".

É o breve relato.

FUNDAMENTAÇÃO

A Assembleia Legislativa do Estado pretende sustar dispositivos do Decreto nº 362, de 2019, com base no disposto no inciso VI do art. 40 da Constituição Estadual, cujo conteúdo repete o estabelecido no artigo 49, inciso V, da Constituição Federal.

Eis o conteúdo de tais dispositivos:

CONSTITUIÇÃO ESTADUAL:

Art. 40. É da competência exclusiva da Assembleia Legislativa:

(...) VI - sustar os atos normativos do Poder Executivo que exorbitem do poder regulamentar ou dos limites de delegação legislativa;

CONSTITUIÇÃO FEDERAL:

"Art. 49. É da competência exclusiva do Congresso Nacional:

(...)

V – sustar os atos normativos do Poder Executivo que exorbitem do poder regulamentar ou dos limites de delegação legislativa."

O texto constitucional expressamente limita a possibilidade de sustação de ato normativo do Poder Executivo a duas hipóteses: a exorbitância do poder regulamentar ou dos limites da delegação legislativa.

Nos termos da melhor doutrina, trata-se de controle político de constitucionalidade:

Diversamente do controle político, construído sob a inspiração francesa, **o controle de que trata o preceito do artigo 49, inciso V, configura controle político de constitucionalidade interórgãos** (Anna Cândida da Cunha Ferraz, 1994, p. 210). (grifou-se)

Marcos Aurélio Pereira Valadão (*Sustação de Atos do Poder Executivo pelo Congresso Nacional com base no artigo 49, inciso V, da Constituição de 1988*, Revista de Informação Legislativa, nº 153, págs. 287/301), ensina:

A sustação de atos normativos do Poder Executivo pelo Congresso Nacional tem natureza de controle de constitucionalidade do tipo controle político. Veja-se que, para o Congresso Nacional sustar ato normativo do Poder Executivo, há que se configurar a exorbitância do poder regulamentar ou dos limites da delegação legislativa, a critério do Poder Legislativo. **Em ambas as situações, é indubitável que se configura caso de inconstitucionalidade.** Se um decreto presidencial vai além do que está previsto na lei, ou seja, exorbita do poder regulamentar, trata-se de inconstitucionalidade do decreto pela via indireta. Também, se a uma lei delegada editada pelo Poder Executivo extrapolar os limites da competência legislativa delegada pelo Congresso Nacional, configura-se inconstitucionalidade da mesma lei. **Assim, promovendo a sustação desses atos, o Congresso Nacional promove o controle de constitucionalidade dos**



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA**

mesmos. Trata-se, portanto, de controle político de constitucionalidade.
(grifou-se)

O objeto do controle a ser exercido pelo Poder Legislativo é o excesso de Poder. Anna Cândido de Ferraz Cunha, citada por Marcos Aurélio Pereira Valadão, ensina:

Finalmente, o objeto do controle – excesso de poder – é perfeitamente delineado. O Legislativo, ao exercer esse poder congressional de sustar regulamentos ou lei delegada, interfere na função constitucional normativa do Executivo. De fato, o legislativo não exerce “apenas” o controle, puro e simples, da lei (no caso do regulamento) ou da lei delegada (no caso de delegação), mas, ao contrário, fiscaliza a própria atuação do Executivo. **Sem sombra de dúvida, pois, trata-se de interferência na partilha constitucional de competências. Configura-se, assim, a sustação controle de constitucionalidade semelhante àquele exercido pelo Poder Judiciário ao declarar um ato normativo inválido** (1994, p. 209). (grifou-se)

Assim, o controle a ser exercido com base no disposto no artigo 40, VI, da Constituição do Estado **é medida excepcional e resume-se à aferição da existência de excesso de poder pelo Executivo ao regulamentar lei além dos seus limites ou a edição de lei delegada além dos limites da delegação.**

Por fim, há que se referir a possibilidade de eventual decreto legislativo a ser editado pela Assembleia Legislativa, com base no art. 40, inciso VI, da Constituição Estadual, poder ser objeto do controle concentrado de constitucionalidade, como já decidiu o Supremo Tribunal Federal no julgamento da ADIn nº 748-3-RS:

AÇÃO DIRETA DE INCONSTITUCIONALIDADE – ASSEMBLÉIA LEGISLATIVA DO RIO GRANDE DO SUL – DECRETO LEGISLATIVO – CONTEÚDO NORMATIVO – SUSPENSÃO DA EFICÁCIA DE ATO EMANADO DO GOVERNADOR DO ESTADO – CONTROLE PARLAMENTAR DA ATIVIDADE REGULAMENTAR DO PODER EXECUTIVO (CF, ART. 49, V) – POSSIBILIDADE DE FISCALIZAÇÃO NORMATIVA ABSTRATA – AÇÃO DIRETA CONHECIDA. REDE ESTADUAL DE ENSINO – CALENDÁRIO ESCOLAR ROTATIVO – PREVISÃO NO PLANO PLURIANUAL – ALEGADA INOBSERVÂNCIA DO POSTULADO DA SEPARAÇÃO DE PODERES – EXERCÍCIO DE FUNÇÃO REGULAMENTAR PELO EXECUTIVO – RELEVÂNCIA JURÍDICA DO TEMA – MEDIDA CAUTELAR DEFERIDA. – O controle concentrado de constitucionalidade tem objeto próprio. Incide exclusivamente sobre atos estatais providos de densidade normativa. – A noção de ato normativo, para efeito de fiscalização da constitucionalidade em tese, requer, além de sua autonomia jurídica, a constatação do seu coeficiente de generalidade abstrata, bem assim de sua impessoalidade. – O decreto legislativo, editado com fundamento no art. 49, V, da Constituição Federal, não se desveste dos atributos tipificadores da normatividade pelo fato de limitar-se, materialmente, a suspensão de eficácia de ato oriundo do poder executivo. Também realiza função normativa o ato estatal que exclui, extingue ou suspende a validade ou a eficácia de uma outra norma jurídica. A eficácia derogatória ou inibitória das consequências jurídicas dos atos estatais constitui um dos momentos concretizadores do processo normativo. A supressão da eficácia de uma regra de direito possui força normativa equiparável à dos preceitos jurídicos que inovam, de forma positiva, o ordenamento estatal, eis que a deliberação parlamentar de suspensão dos efeitos de um preceito jurídico incorpora, ainda que em sentido inverso, a carga de normatividade inerente ao ato que lhe constitui o objeto. O exame de constitucionalidade do decreto legislativo que suspende a eficácia de ato do poder executivo impõe a análise, pelo supremo



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA**

tribunal federal, dos pressupostos legitimadores do exercício dessa excepcional competência deferida a instituição parlamentar. Cabe à corte suprema, em consequência, verificar se os atos normativos emanados do executivo ajustam-se, ou não, aos limites do poder regulamentar ou aos da delegação legislativa.

Dessa forma, sendo patente a ausência das hipóteses de extrapolação do poder regulamentar a que se refere o artigo 40, VI, da Constituição do Estado, pode o ente estatal recorrer da via judicial para buscar ver declarada a inconstitucionalidade de eventual Decreto Legislativo.

Dito isso, passa-se à análise da proposta de sustação do Decreto nº 362, de 2019, a qual se fundamenta, em suma, na consideração de que os dispositivos impugnados contêm "regras que extrapolam o poder regulamentar do Chefe do Executivo", além de "serem contraditórias, excêntricas e descabidas".

O Decreto em questão regulamenta a Lei estadual nº 17.486/2018, que "Dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências."

Os dispositivos atacados são os incisos I e III do art. 1º, os artigos 13 e 14, os parágrafos 1º e 6º do art. 37, e o inciso X do art. 51.

Extraí-se da justificativa parlamentar que o Decreto, no art. 1º, §1º, I teria desvirtuado o conceito legal de queijo artesanal, "de modo a confundir a vinculação do método tradicional de produção de queijos com o território de origem, quando, em verdade, essa vinculação é com o produto que é elaborado a partir de leite cru o que assegura este vínculo territorial".

Confira-se o contraponto entre os diplomas:

LEI Nº 17.486, DE 16 DE JANEIRO DE 2018

Art. 1º Esta Lei dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru, no Estado de Santa Catarina.

§ 1º Para os fins desta Lei, considera-se:

I – queijo artesanal: **aquele elaborado com leite cru da própria fazenda, com métodos tradicionais, com vinculação ao território de origem, conforme Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) estabelecido para cada tipo e variedade, sendo permitida a aquisição de leite de propriedades rurais próximas desde que atendam todas as normas sanitárias pertinentes; e**

II – queijaria: local destinado à produção de queijo artesanal localizado em propriedade rural.

§ 2º Para os fins desta Lei, poderão constituir a fórmula dos queijos artesanais: matéria-prima (leite cru), condimentos naturais, corantes naturais, coalhos/coagulantes, sal (cloreto de sódio ou outro que exerça a mesma função), fermentos e outras substâncias de origem natural, permitindo-se a utilização de aditivos descritos nas receitas originais.

§ 3º Para os fins desta Lei, **considera-se queijo artesanal os queijos já existentes em cada território/microrregião na data desta legislação e os novos queijos que ainda não possuam tipificação, desde que atendam os dispostos no § 1º e no § 2º deste artigo.**

DECRETO Nº 362, DE 21 DE NOVEMBRO DE 2019



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA**

Art. 1º (...)

§ 1º Para os fins deste Decreto, considera-se:

I – queijo artesanal: aquele elaborado com leite cru recém-ordenhado na própria fazenda, beneficiado por meio de métodos tradicionais vinculados ao território de origem, com uso de mão de obra predominantemente familiar, produzido conforme tipo e variedade definidos em Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), sendo permitida a aquisição de leite de propriedades rurais próximas, desde que sejam atendidas todas as normas sanitárias pertinentes;

Da comparação entre os dois dispositivos, verificam-se ligeiras distinções entre o conceito legal e o regulamentar, inidôneas, contudo, a invalidar esse último.

Com efeito, o Decreto apenas se limitou a melhor explicitar a redação sucinta da lei. Semanticamente, o termo legal "**com vinculação ao território de origem**" pode se referir tanto aos "**métodos tradicionais**", expressão que lhe é imediatamente anterior, quanto ao próprio **queijo artesanal** objeto da definição.

Adotando sentido compatível com o diploma legal, a conceituação do regulamento optou por reforçar o vínculo entre o território de origem e os métodos tradicionais. Trata-se de opção válida, à luz da moldura normativa delineada pelo legislador, e não se verifica extrapolação do poder regulamentar.

No que concerne ao art. 1º, §1º, III, impugnado na PSA, argumentou-se que o regulamento teria inovado ao estabelecer a conceituação de método tradicional de produção atrelado a características histórico-culturais, sendo que, no entender do parlamentar, método tradicional deveria ser compreendido como método diverso do industrial.

Verifique-se a definição do regulamento:

III – métodos tradicionais: etapas do processo de produção do queijo artesanal que mantenham as características histórico-culturais e regionais, respeitadas as boas práticas de fabricação e garantida a segurança alimentar;

Embora a lei empregue em seu bojo o termo "métodos tradicionais", assim o faz sem conceituá-lo, restando tal incumbência a cargo do Poder Executivo, conforme autorização legislativa expressa no art. 25.

Veja-se que o conceito encampado no Decreto não conflita, direta ou indiretamente, com o teor das demais disposições do diploma legal. Trata-se, portanto, de exercício legítimo do poder regulamentar.

Na PSA, aduziu-se que o § 1º do art. 13 do Decreto conteria regra díspar da Lei (art. 4º, § 2º). Confira-se:

LEI Nº 17.486, DE 16 DE JANEIRO DE 2018

Art. 4º Para cada tipo de queijo será elaborado um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ).

§ 1º A elaboração dos regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos diferentes tipos de queijos, contará com a participação de uma equipe multidisciplinar incluindo os produtores envolvidos ou seus representantes, além de pesquisadores e profissionais especializados no tema.

§ 2º O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em regulamento técnico específico para cada tipo de queijo,



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA

será definido mediante comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes.

DECRETO Nº 362, DE 21 DE NOVEMBRO DE 2019

Art. 13. O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em RTIQ, será definido mediante comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes.

§ 1º O queijo artesanal tradicionalmente elaborado com leite cru deve ser maturado por período não inferior a 60 (sessenta) dias, sob temperatura superior a 5º C (cinco graus Celsius).

§ 2º O período mínimo de maturação de queijos artesanais poderá ser alterado após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto e previstos nos RTIQs específicos de cada produto.

Por seu turno, a Lei Federal nº 13.860/2019, que “Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências”, prevê que **“o tempo de cura do queijo feito a partir do leite cru é definido com base no processo tecnológico de produção de cada variedade, de acordo com suas características”** (parágrafo único do art. 2º).

Veja-se que o *caput* do art. 4º da Lei estadual exige a elaboração de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) específico para cada tipo de queijo artesanal, ao passo que o §2º estabelece que, quando aplicável, o período de maturação estará previsto no próprio RTIQ.

Compulsando a Lei estadual de regência, não se constata, à primeira vista, fundamento direto de validade para o §1º do art. 13 do Decreto. Não significa, contudo, que o dispositivo regulamentar tenha inovado no ordenamento jurídico e seja, portanto, inválido.

Pode-se interpretar que a previsão regulamentar de período de maturação apenas cuida de definir aprioristicamente padrões mínimos e genéricos, e que sua exigência se encontra subordinada à previsão no RTIQ, na eventualidade em que esse documento técnico, apesar de exigir período de maturação para determinado queijo artesanal, se quede omissa em estabelecer tais parâmetros.

E ainda: na divergência entre o RTIQ para queijo específico e a disposição abstrata do Decreto (art. 13, §1º), prevalece o RTIQ específico, consoante art. 4º, *caput* e § 2ª da Lei estadual.

Veja-se que o período previsto abstratamente no regulamento comporta alteração, podendo ser modificado após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto e previstos nos RTIQs específicos de cada produto (Art. 13, §2º do Decreto). O Decreto se harmoniza, portanto, com o art. 4º, *caput* e § 2º, da Lei nº 17.486/2018.

Cumpra esclarecer que não é aleatória a previsão regulamentar de maturação por período não inferior a 60 (sessenta) dias, sob temperatura superior a 5º C. Com efeito, conta com fundamento de validade na legislação sanitária, uma vez que as normas nacionais se referem a tais parâmetros na ausência de estudos técnicos conclusivos, conforme disposto no Decreto Federal nº 9013/2017 que Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.

Confira-se:

Dos queijos



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA

Art. 373. Para os fins deste Decreto, queijo é o produto lácteo fresco ou maturado que se obtém por meio da separação parcial do soro em relação ao leite ou ao leite reconstituído - integral, parcial ou totalmente desnatado - ou de soros lácteos, coagulados pela ação do coalho, de enzimas específicas, produzidas por microrganismos específicos, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem adição de substâncias alimentícias, de especiarias, de condimentos ou de aditivos.

(...)

§ 6º Fica excluído da obrigação de pasteurização ou de outro tratamento térmico o leite que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação a uma temperatura superior a 5°C (cinco graus Celsius), durante um período não inferior a sessenta dias.

§ 7º O período mínimo de maturação de queijos de que trata o § 6º poderá ser alterado, após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto ou em casos previstos em RTIQ.

Veja-se, portanto, que a intenção do Decreto é facilitar a atividade produtiva, na hipótese em que o RTIQ exija genericamente período de maturação, silenciando, contudo, na especificação de parâmetros.

Assim fez o Decreto sem ferir a legislação estadual de regência, porém com atenção às normas sanitárias e com o necessário embasamento técnico-científico.

Em síntese, o regulamento buscou viabilizar a atividade produtiva sem descuidar do princípio da precaução, sensível, portanto, aos riscos à saúde pública decorrentes da produção indiscriminada de queijo artesanal de leite cru.

Quanto à exigência de realização de estudos científicos (art. 13, §2º do Decreto), não se verifica descompasso com a Lei regulamentada, conforme sustentado na PSA, tampouco "inviabiliza a iniciativa do produtor de regularizar seu negócio". Com efeito, trata-se de previsão que apenas autoriza (sem força impositiva, portanto) a alteração no período mínimo de maturação, reportando-se ao RTIQ e contando com base legal no art. 4º, § 2º da Lei nº 17.486/2018.

Adotando essa mesma proporcionalidade, no sentido de que a alteração das exigências mínimas de padrão de segurança deve encontrar respaldo em estudo científico conclusivo, confira-se a previsão do art. 37 do Decreto, também impugnado na PSA:

Art. 37. O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em RTIQ, será definido mediante comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes.

§ 1º Os queijos poderão ser submetidos a processo de maturação a uma temperatura superior a 5° C (cinco graus Celsius), durante um período inferior a 60 (sessenta) dias, desde que previsto em RTIQ e após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto.

§ 6º Para queijos com maturação inferior a 60 (sessenta) dias, devem ser apresentados estudos técnicos científicos que comprovem a inocuidade do produto para fins da elaboração do RTIQ específico.

Novamente, não se cuida de exigência descabida ou ilegal, uma vez que a norma regulamentar possui natureza permissiva (e não impositiva), rementendo o Decreto às determinações do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), documento, repise-se,



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA

cujas elaboração é exigida para cada tipo de queijo, conforme art. 4º, *caput* da Lei estadual nº 17.486/2018, e que deve prevalecer em face de eventual conflito com a previsão genérica do Decreto.

Nesse mesmo sentido, a Instrução Normativa nº 30/2013 do MAPA, por meio do seu art. 1º, também versa sobre a permissão da produção e comercialização de queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru maturados por um período inferior a 60 dias, quando estudos técnicos-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e inocuidade do produto.

No que concerne a impugnação ao art. 14 do Decreto, a proposta de suspensão do ato assim justificou:

"Verifica-se que estabelece parâmetros para análise biológica em descompasso com o proposto pelo Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA) em consulta pública para os queijos artesanais de leite cru (Portaria nº 186, de 9 dezembro de 2020) e ao estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução – RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019"

Confira-se o teor do dispositivo impugnado:

Art. 14. Quanto aos requisitos microbiológicos, os queijos artesanais estarão sujeitos a análises microbiológicas, cujos parâmetros deverão atender às legislações sanitárias em vigor, as quais deverão avaliar, no mínimo, os microrganismos coliformes termotolerantes/g a 45° C, estafilococos coagulase positiva/g, *Salmonella sp*/25g e *Listeria monocytogenes*/25g.

Parágrafo único. Outras análises microbiológicas podem ser definidas no RTIQ de cada tipo e variedade de queijo artesanal.

A justificativa veiculada na proposta de suspensão não indicou o dispositivo da Lei estadual nº 17.486/2018 que teria sido violado pelo Decreto. Limitou-se a discorrer sobre supostas desconformidades do regulamento estadual em face de atos infralegais federais, o que exorbita o âmbito do controle de constitucionalidade a ser efetuado pelo Poder Legislativo estadual.

A sustação de atos normativos do Poder Executivo pelo Assembleia Legislativa é medida excepcional e se resume à aferição da existência de excesso de poder pelo Executivo ao regulamentar a lei além dos seus limites ou a edição de lei delegada além dos limites da delegação.

Sobre a excepcionalidade da medida prevista no art. 49, V, da Constituição Federal, manifestou-se o Supremo Tribunal Federal, por ocasião do julgamento de medida cautelar na ADI 1.553, do DF, retirando-se do despacho do Presidente da Corte a época, Min. Sepúlveda Pertence, que foi referendado pelo Plenário, o que segue:

24. Aqui, porém – onde se controverte quanto à constitucionalidade, não do decreto regulamentar, mas do decreto legislativo que o haja sustado – ao contrário do que à primeira vista possa parecer, a equação do problema é diversa e o Supremo Tribunal já não se pode furtar à verificação, posto que incidente, da conformidade ou não entre o regulamento e a lei regulamentada: é que já não mais se tratará de controlar o eventual excesso, abuso ou desvio de um poder ordinário do Executivo – o de regulamentar as leis –, mas sim da própria existência do poder de o Legislativo sustar o regulamento, **competência que é**



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA**

excepcional e só existe na medida mesma da ilegalidade do ato regulamentar considerado.

Assim, pelo teor da justificativa parlamentar, não se verifica ilegalidade do Decreto em face da Lei estadual nº 17.486/2018, mas apenas uma suposta desconformidade em contraponto a atos infralegais federais diversos, o que, decerto, não configura parâmetro idôneo para o controle de constitucionalidade parlamentar previsto na Constituição Estadual (art. 40, VI da CESC).

Por fim, no que concerne à sustação do inciso X do art. 51 do Decreto nº 362/2019, transcrevem-se as informações prestadas pela Secretaria de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural, nos autos do processo SCC 12921/2021:

O art. 51 trata do registro da queijaria no Serviço de Inspeção Estadual. Dentre os documentos que compõem o processo de obtenção de SIE (Serviço de Inspeção Estadual), aplicado a todo e qualquer estabelecimento de produtos de origem animal em processo de registro, está o memorial econômico-sanitário, citado no inciso X do artigo 51 do Decreto 362/2019.

Atualmente o documento é chamado de Memorial Tecnológico e Sanitário do Estabelecimento – MTSE. Neste Memorial são incluídas as informações gerais do estabelecimento, como dados do terreno e do projeto, informações da água de abastecimento e das instalações industriais (queijaria), descrição das máquinas e equipamentos, apresentação das matérias-primas e produtos e informações complementares.

Este procedimento é legalmente previsto no Decreto Federal nº 9.013/2017, em seu art. 28:

“Para obtenção do registro ou do relacionamento do estabelecimento serão observadas as seguintes etapas:

I- depósito, pelo estabelecimento, da documentação exigida, nos termos do disposto nas normas complementares;

II - avaliação e aprovação, pela fiscalização, da documentação depositada pelo estabelecimento”.

Pode-se consultar a utilização do MTSE em âmbito federal nas orientações para registro de estabelecimentos na página do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

(<https://www.gov.br/agricultura/ptbr/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/registro-de-estabelecimentos>).

Portanto, o documento que traz as informações referentes aos dados econômicos-sanitários da queijaria é amplamente utilizado e exigido no processo de regularização de qualquer estabelecimento de produtos de origem animal, comprovando tão somente que o estabelecimento apresenta as condições mínimas exigidas para produzir o que pretende.

Ao sustar o inciso X do artigo 51 do referido Decreto, a informação apenas ficará oculta nesta legislação. No momento em que o responsável legal pela queijaria procurar o serviço oficial de inspeção para sua regularização, será solicitado o preenchimento dos documentos constantes do processo de obtenção de registro, estando entre eles o memorial econômico-sanitário (atual Memorial Tecnológico e Sanitário do Estabelecimento).



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA**

De acordo com a Instrução Normativa nº 3/2019, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, o memorial técnico sanitário do estabelecimento – MTSE é documento que deve acompanhar a solicitação de registro de estabelecimento junto ao Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – DIPOA (art. 2º, IV), o que se aplica às queijarias.

Assim, a apresentação de memorial econômico-sanitário (art. 51, X, do Decreto) não configura exigência anômala ou descabida, contando com fundamento de validade na legislação sanitária e no poder de polícia interfederativo.

CONCLUSÃO

Ante o exposto, o Decreto nº 362, de 21 de novembro de 2019, ato normativo expedido pelo Chefe do Poder Executivo, goza de validade jurídica, porque não exorbitou do seu poder regulamentar.

Portanto, não configurado excesso ou extrapolação de poder no ato emanado do Poder Executivo, requisito indispensável para adoção da excepcional medida de sustação por parte do Poder Legislativo, o parecer é pela existência de óbice jurídico à proposta.

É o parecer.

TÁRCIO AURÉLIO MONTEIRO DE MELO

Procurador do Estado



Código para verificação: **WG4M3Q30**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



TARCIO AURELIO MONTEIRO DE MELO (CPF: 007.XXX.124-XX) em 19/07/2021 às 13:45:01

Emitido por: "SGP-e", emitido em 24/05/2021 - 16:29:11 e válido até 24/05/2121 - 16:29:11.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyOTlwXzEyOTMwXzlwMjFfV0c0TTNRMzA=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012920/2021** e o código **WG4M3Q30** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA

DESPACHO

Referência: SCC 12920/2021

Assunto: Consulta sobre Proposta de Sustação de Ato nº 001.7/2021

Origem: Casa Civil (CC)

Interessado: Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina (ALESC)

De acordo com o parecer retro exarado pelo Procurador do Estado, Dr. Tércio Aurélio Monteiro de Melo, cuja ementa foi assim formulada:

Ementa: Pedido de Diligência. Proposta de Sustação de Ato - PSA nº 0001.7/2021, que "Susta dispositivos do Decreto nº 362, de 2019, que 'Regulamenta a Lei nº 17.486, de 2018, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências'". Comissão de Constituição e Justiça (CCJ) da ALESC. Art. 40, VI, da CESC/89. Controle político de constitucionalidade. Necessidade de demonstração de exorbitância do poder regulamentar exercido pelo Poder Executivo. Inocorrência de extrapolação de poder a justificar a adoção da excepcional medida. Parecer pela existência de óbice jurídico à proposta.

À consideração .

Florianópolis, data da assinatura digital.

SÉRGIO LAGUNA PEREIRA
Procurador-Geral Adjunto para Assuntos Jurídicos
Procurador-Chefe da Consultoria Jurídica, designado¹

¹ Ato nº 1569/2021, publicado no Diário Oficial do Estado nº 21.562, de 14 de julho de 2021.



Código para verificação: **689CK9TI**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



SÉRGIO LAGUNA PEREIRA em 19/07/2021 às 14:02:41

Emitido por: "SGP-e", emitido em 13/07/2018 - 15:07:26 e válido até 13/07/2118 - 15:07:26.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyOTlwXzEyOTMwXzlwMjFfNjg5Q0s5VEk=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012920/2021** e o código **689CK9TI** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
GABINETE DO PROCURADOR-GERAL**

DESPACHO

Referência: SCC 12920/2021

Assunto: Consulta sobre Proposta de Sustação de Ato nº 001.7/2021

Origem: Casa Civil (CC)

Interessado: Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina (ALESC)

1. Acolho o **Parecer nº 354/21-PGE** da lavra do Procurador do Estado, Dr. Tércio Aurélio Monteiro de Melo.
2. Encaminhem-se os autos à Diretoria de Assuntos Legislativos (DIAL).

Florianópolis, data da assinatura digital.

ALISSON DE BOM DE SOUZA
Procurador-Geral do Estado



Código para verificação: **KS78S57A**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



ALISSON DE BOM DE SOUZA em 19/07/2021 às 13:48:05

Emitido por: "SGP-e", emitido em 30/03/2018 - 12:33:30 e válido até 30/03/2118 - 12:33:30.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyOTlwXzEyOTMwXzlwMjFfS1M3OFM1N0E=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012920/2021** e o código **KS78S57A** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Ofício nº 303/2021

Florianópolis, 13 de julho de 2021.

Parecer referente à solicitação de exame e emissão de parecer a respeito da Proposta de Sustação de Ato nº 0001.7/2021, que “Susta dispositivos do Decreto nº 362, de 2019, que ‘Regulamenta a Lei nº 17.486, de 2018, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências’”, oriunda da Comissão de Constituição e Justiça (CCJ) da Assembleia Legislativa do Estado de Santa Catarina (ALESC).

Prezado Sr. Consultor Jurídico, José Silvestre Cesconetto Junior, em atendimento ao Ofício nº 1124/CC-DIAL-GEMAT, com a finalidade de atender ao pedido de diligência contido no Ofício GP/DL/361/2021, disponível para consulta nos autos do processo-referência nº SCC 12823/2021, e deve ser emitida, nos termos do art. 19 do Decreto nº 2.382, de 28.8.2014, a fim de subsidiar a defesa do ato impugnado pelo Governador do Estado na CCJ.

Do processo referência SCC 12823/2021, por meio do ofício GP/DL/361/2021, encaminhado pelo Presidente da Assembleia, Deputado Mauro de Nadal, ao Excelentíssimo Governador do Estado de Santa Catarina, Senhor Carlos Moisés da Silva, consta a Proposta de Sustação de Ato nº 0001.7/2021, que “Susta dispositivos do Decreto nº 362, de 2019...”, de autoria do Deputado Nilso Berlanda.

Importante aqui esclarecer que o assunto tem sido bastante polêmico, sendo substancial uma contextualização, por não se tratar de matéria simples e cujas argumentações técnicas desta Diretoria necessitam chegar ao conhecimento dos Senhores Deputados, haja vista que vários processos têm sido tramitados no sentido de alterar dispositivos do referido Decreto.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Entendemos que existe uma situação conflitante entre as informações que têm chegado aos Senhores Deputados, no entanto, imperioso se faz que diante de um assunto tão importante para os produtores de queijo artesanal de leite cru, para a saúde pública, adequações às normativas existentes e trabalhos desenvolvidos sobre o tema no âmbito nacional e internacional, as argumentações técnicas desta Diretoria chegue ao conhecimento dos Deputados, para que seja tomada uma decisão madura, baseada na ciência, mas que ao mesmo tempo não descaracterize o processo artesanal e o saber-fazer dos produtores, sendo que em contraponto, Vossas argumentações também são, por nossa parte, avaliadas e estudadas com muito zelo e responsabilidade.

Com a finalidade de esclarecer, Pareceres já foram exarados anteriormente por esta Diretoria, referente aos pleitos dos Excelentíssimos Deputados, Sr. João Amin (SAR nº 404/2020), Sra. Luciana Carminatti (SAR nº 2456/2020) e Sr. Mauro de Nadal (SAR nº 2020/2020 e SAR nº 2021/2020), cujo conteúdo pode ser acessado na íntegra no Sistema de Gestão de Processos Eletrônicos.

Passamos ao pleito requerido:

Referente à sustação do Inciso I, do § 1º, do Art. 1º do Decreto nº 362/2019, manifestamos:

Texto da justificativa da PSA:

A Lei nº 17.486, de 2018, oferece uma definição de queijo artesanal, enquanto que o Decreto em questão, **destoando da Lei, desvirtua tal conceito** inserto no seu art. 1º, § 1º, I, de modo a confundir a vinculação do método tradicional de produção dos queijos com o território de origem, quando, em verdade, essa vinculação é com o produto que é elaborado a partir de leite cru o que assegura este vínculo territorial.

Para alinhamento em relação às normativas federais, a redação do Decreto referente a esse assunto, levamos em consideração o elencado no Art.2º da IN 30/2013 que trata das normas para elaboração de queijo de leite cru e que abriu a possibilidade para que queijos de leite cru com menos de sessenta dias de maturação pudessem ser produzidos:

“Art. 2º A produção de queijos elaborados a partir de leite cru, com período de maturação inferior a 60 dias, fica restrita a queijaria situada em região de indicação geográfica registrada ou tradicionalmente reconhecida...”

No entanto, a redação visa proteger os produtores, o produto e o território, com vistas, por exemplo, à uma futura Indicação Geográfica, de caráter não obrigatório, mas que pode trazer benefícios aos produtores e ao Estado, não com o intuito de confundir na vinculação entre método tradicional, produto e território.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Art. 2º. Para os fins desta Instrução Normativa constitui Indicação Geográfica a Indicação de Procedência ou a Denominação de Origem.

§1º Considera-se Indicação de Procedência o nome geográfico de país, cidade, região ou localidade de seu território, que se tenha tornado conhecido como centro de extração, produção ou fabricação de determinado produto ou de prestação de determinado serviço.

§2º Considera-se Denominação de Origem o nome geográfico de país, cidade, região ou localidade de seu território, que designe produto ou serviço cujas qualidades ou características se devam exclusiva ou essencialmente ao meio geográfico, incluídos fatores naturais e humanos.

Outro objetivo da inclusão na redação deste dispositivo do Decreto foi o de salvaguardar um recurso que está à disposição para ser acessado, conforme a Instrução Normativa nº 095, de 28 de dezembro de 2018, que estabelece as condições para o registro das Indicações Geográficas.

DOS TERMOS NÃO SUSCETÍVEIS DE REGISTRO

Art. 4º. Não são registráveis como Indicação Geográfica os termos suscetíveis de causar confusão, que reproduzam, imitem ou se constituam por:

I - nome geográfico ou seu gentílico que houver se tornado de uso comum, designando produto ou serviço;

II - nome de uma variedade vegetal, cultivada ou não, que esteja registrada como cultivar, ou que seja de uso corrente ou existente no território brasileiro na data do pedido;

III - nome de uma raça animal que seja de uso corrente ou existente no território brasileiro na data do pedido;

IV - homônimo à Indicação Geográfica já registrada no Brasil para assinalar produto ou serviço idêntico ou afim, salvo quando houver diferenciação substancial no signo distintivo.

Ademais, também levamos em consideração para a redação do Inciso I do Art. 1º do Decreto, parte constante no § 3º, do Inciso II, do Art. 1º da Lei 17.486/2018:

§ 3º. Para os fins desta Lei, considera-se queijo artesanal os queijos já existentes em cada território/microrregião na data desta legislação e os novos queijos que ainda não possuam tipificação, desde que atendam os dispostos no § 1º e no § 2º deste artigo.

No mesmo sentido, o Art.59 do Decreto nº 362/2019, também tratou de tema não referido na Lei nº 17.486/2018, trazendo a seguinte redação no que se refere à concessão do selo ARTE, com objetivo de simplificação na obtenção do mesmo. Neste caso, a PSA, não fez observação de inovação no Decreto ou disparidade com a Lei.



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Art. 59. Os queijos artesanais produzidos em conformidade com o disposto neste Decreto e nas demais normas correlatas receberão o selo ARTE, nos termos do Decreto federal nº 9.918, de 18 de julho de 2019, e de suas normas complementares.

Em suma, pontualmente sobre o Inciso I do art. 1º do Decreto nº 362/2019, a DDEA manifesta que uma **alteração** na redação do Decreto 362/2019 não traria prejuízo sanitário, porém, acreditamos que ao menos deveria ser mantido com a redação idêntica à da Lei nº 17.486/2018, de autoria do relator da PSA, para que não reste um vácuo na redação do Decreto:

I - queijo artesanal: aquele elaborado com leite cru da própria fazenda, com métodos tradicionais, com vinculação ao território de origem, conforme Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) estabelecido para cada tipo e variedade, sendo permitida a aquisição de leite de propriedades rurais próximas desde que atendam todas as normas sanitárias pertinentes;

Referente à sustação do Inciso III, do § 1º, do art. 1º do Decreto nº 362/2019, manifestamos:

Texto da justificativa da PSA:

No seu art. 1º, § 1º, III, o Decreto **inova** ao estabelecer a conceituação de método tradicional de produção, atrelando-o a características histórico-culturais, quando necessariamente nem todo processo de produção de queijo artesanal está ligado a tais características. Nesse sentido, métodos tradicionais são métodos diferentes dos métodos industriais tais como pasteurização, utilização de equipamentos de alta tecnologia, conservantes, aromatizantes entre outros.

No texto da Lei nº 17.486/2018 não é conceituado “método tradicional de produção”.

A redação constante na justificativa da PSA é uma definição que nos foi apresentada por ora, não sendo explicitada no texto da mesma. Desta maneira, seguindo a mesma linha de raciocínio anterior, utilizou-se o conceito que foi elaborado no Decreto nº 362/2019, alinhado à proteção do produto, produtor e território, que tem sido discutida interdisciplinarmente em diversas esferas, com o intuito da proteção do conhecimento acumulado por gerações.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Manifestamos para adequação à normativa federal uma alteração, porém entendemos que sanitariamente a sustação não traz prejuízos, no entanto ocorrerá um vácuo na conceituação. Sugerimos que seja **alterado** na Lei, uma vez que a redação apresentada na PSA é o entendimento do requerente ou que seja feita uma alteração na redação do Decreto por :

III - "...características histórico-culturais e regionais,..." por "...características histórico-culturais ou regionais,..."

Referente à sustação do art.13 do Decreto nº 362/2019, manifestamos:

Texto da justificativa da PSA:

Por sua vez, o disposto no § 1º do art. 13 do Decreto em foco **não só contém regra díspar da Lei, mas também do próprio caput**, que, no mesmo compasso do Diploma Legal (art. 4º, § 2º, da Lei nº 17.486, de 2018)), estabelece que o período de maturação do queijo artesanal será estabelecido no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), senão vejamos:

Art. 13. O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em RTIQ, **será definido mediante comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes.**

§ 1º O queijo artesanal tradicionalmente elaborado com leite cru **deve ser maturado por período não inferior a 60 (sessenta) dias, sob temperatura superior a 5º C (cinco graus Celsius).**

(Grifei)



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Além disso, percebe-se que **o disposto no caput do art. 13 tem redação idêntica ao disposto no caput do art. 37**, que faz parte de seção específica que trata do período de maturação, configurando duplicidade desnecessária.

Ainda acerca **do mesmo art. 13, seu § 2º inova mais uma vez** ao prever, no regulamento, a realização de estudos científicos conclusivos para alterar o período de maturação de determinado queijo, exigência que além de estar em descompasso com a Lei, inviabiliza a iniciativa do produtor de regularizar seu negócio, uma vez que estudo científico pressupõe a participação de uma universidade, a elaboração de pesquisa, inclusive de campo, além da necessária publicação em revista científica. Registre-se que tal exigência é injustificável, descabida e desproporcional.

Neste quesito, gostaríamos de manifestar que, no nosso entendimento, a “inovação” inicial mencionada na PSA parece se apresentar na Lei nº 17.486/2018, uma vez que a redação da mesma é menos restritiva que a normatização federal, tanto em relação à precursora Instrução Normativa nº 30/2013, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), quanto em relação ao Decreto Federal nº 9.013, de 29 de março de 2017.

A Lei Federal 13.860/2019, que “Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências”, por meio do Parágrafo único do art. 2º traz em sua redação que **o tempo de cura do queijo feito a partir do leite cru é definido com base no processo tecnológico de produção de cada variedade, de acordo com suas características**.

Esta seria a forma ideal de se tratar a questão do período de maturação dos queijos de leite cru, no entanto ainda não nos encontramos neste patamar, conforme podemos verificar nos estudos brasileiros, destacando especialmente aqueles mais pertinentes ao estado, por terem sido realizados em Santa Catarina, sejam eles **Melo et. al., 2013 (SC); Carvalho et. al., 2019 (SC) Rozental et.al, 2020 (MG); Silva, et al, 2018 (MG)**. Sendo que os dois primeiros, demonstram de forma extremamente importante, um retrato da qualidade do queijo artesanal de leite cru, embora restritos à região de Lages (Melo et. al., 2013) e à região do Oeste Catarinense (Carvalho et. al., 2019).

Os referidos artigos não devem ser olhados de forma pessimista, mas sim como uma demonstração da realidade e da importância que os trabalhos referentes à extensão e à pesquisa agropecuária devem desempenhar para que consigamos entregar um produto com qualidade sanitária à população tanto catarinense, quanto brasileira, uma vez que atendido os requisitos, de acordo com o disposto no **Art. 59, do Decreto**

**ESTADO DE SANTA CATARINA**

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

362/2019, os queijos em questão, estão aptos a receber o selo Arte e serem comercializados não só no estado de SC, mas em todo o Brasil.

Neste contexto, e já nos referindo ao questionamento sobre os estudos científicos, informamos que em nenhum lugar está discriminado que devem ser publicados em revistas científicas, mas serem feitos com o rigor científico e critérios metodológicos que comprovam a seriedade destes estudos. Como exemplo, podemos demonstrar os estudos feitos para o registro do queijo Kochkäse, que através de dispositivo do Decreto nº 362/2019 (art.10 com seus incisos e parágrafo único), com a constituição de equipe multidisciplinar (Portaria SAR nº 7/2020), regulamentou o produto por meio da Portaria SAR nº 15/2020.

Com ênfase no enfoque explicitado acima, manifestamos que direcionamento de recursos e foco em editais de pesquisa que abarquem estes produtos, seriam de uma importância incomensurável para o Estado. Ressalve-se que a pesquisa não é somente realizada pelas Universidades, mas também com outros órgãos, como, por exemplo, a Epagri. Não menos importante o trabalho da extensão, para capacitações e difusão do conhecimento gerado pela pesquisa, que além da proximidade com os produtores possuem a sensibilidade para entender suas demandas. Essa é uma realidade que necessita também chegar ao conhecimento desta Casa Legislativa. Considerando o exposto, acreditamos que a busca conjunta por recursos que subsidiem tais pesquisas, seja via universidades, órgãos de fomento à pesquisa, ou, se possível, também por meio de emendas parlamentares, podem constituir um grande avanço no que tange ao tema, a exemplo do que ocorreu com o queijo Kochkäse, que por intermédio de uma união de forças entre produtores, EPAGRI, FURB, SAR, CIDASC, AMMVI e outros, culminou com a publicação do primeiro RTIQ embasado na Lei nº 17.485/2018 e Decreto nº 362/2019, baseado na lisura dos procedimentos, na adequação às normas, primando pela regulamentação desde produto de maneira clara e legal.

Precisamos imperiosamente de apoio para que chegue à mesa do consumidor, produtos com a qualidade que Santa Catarina e o produtor catarinense merecem, por isso, o trabalho incansável, também da Defesa Sanitária Animal e da Inspeção de Produtos de Origem Animal, mais afeitas à demanda em questão (sem esquecer da parte vegetal), que têm por finalidade assegurar a saúde pública e alavancar os produtos e produtores catarinenses ao patamar que eles merecem, garantindo a excelência pela qual Santa Catarina é reconhecida em vários fatores, em especial, aos referentes ao setor agropecuário.

Embora tenha sido o assunto tratado mais à frente, no voto do relator, cujo trabalho reconhecemos como da mais alta importância, cabe esclarecer referente a seguinte questão elencada pelo mesmo, cujo parte do voto transcrevemos:



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Ademais, a reportagem publicada no portal ND Mais¹, em 11 de junho do corrente ano, ilustra, de forma triste e vergonhosa, as dificuldades pelas quais os produtores de queijo artesanal vêm passando para conseguir regularizar suas pequenas queijarias e gerar renda para sustentarem suas famílias. Tal matéria jornalística dá conta da prisão, por ter resistido à apreensão de 75 peças de queijo de sua produção, de um senhor de 62 anos, dos quais dedicou os últimos 30 à produção de queijo artesanal na Linha Caixa D'Água, no Município de Caçador.

Manifestamos que tal ação não foi desencadeada pelo Estado, mas pela vigilância sanitária municipal, sendo inclusive motivo de retratação posteriormente pela jornalista, que citou: *A fiscalização ocorreu por parte da Vigilância Sanitária Municipal, não havendo nenhum envolvimento da Secretaria Estadual ou da Cidasc.*

Repudiamos, veementemente, que um produtor catarinense, embora que não estivesse cumprindo algumas normas previstas em legislações estaduais e federais, fosse algemado e humilhado da maneira que nos foi mostrada em várias reportagens veiculadas pela imprensa.

Retomando à solicitação do Deputado Nilso Berlanda, no que se refere aos artigos 13 e 37, que tratam do período de maturação dos queijos artesanais de leite cru, salientamos que para a elaboração do Decreto nº 362/2019, foi realizada uma ampla revisão na legislação, assim como na literatura científica, baseada em dados publicados em revistas renomadas, cujos alguns exemplos citamos na sequência e se encontram na íntegra anexos a esse parecer:

1. **Costard et al., 2017. Outbreak-Related Disease Burden Associated with Consumption of Unpasteurized Cow's Milk and Cheese, United State, 2009 -2014. Emerging Infectious Diseases - www.cdc.gov/eid - Vol. 23, No. 6, June 2017.** (Carga de doença relacionada ao surto associado ao consumo de leite e de queijo de vaca não pasteurizado, Estados Unidos, 2009 – 2014).

“ A crescente popularidade do leite não pasteurizado nos Estados Unidos levanta preocupações de saúde pública. Estimamos doenças e hospitalizações relacionadas a surtos causados pelo consumo de leite e queijo de vaca contaminados por Escherichia coli produtora de toxina Shiga, Salmonella spp., Listeria monocytógenes e Campylobacter spp, usando um modelo baseado em dados de surtos publicamente disponíveis. Nos Estados Unidos, os surtos associados ao consumo de laticínios causam, em média 760 doenças/ano e 22 hospitalizações /ano, principalmente por Salmonella spp e Campylobacter spp. O leite não pasteurizado, consumido por apenas 3,2% da população, e o queijo, consumido por apenas 1,6% da população, causou 96% das doenças causadas por laticínios contaminados que causam 840 (95% CrI 611-1,158) vezes mais

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

doenças e 45 (95% Crl 34-59) vezes mais hospitalizações que produtos pasteurizados. À medida que o consumo de lácteos não pasteurizados aumentam constantemente; uma duplicação no consumo de leite ou queijo não pasteurizado pode aumentar as doenças relacionadas a surtos em 96%”.

2. Brooks, et al., 2012. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. Food Microbiology 31 (2012) 154-158. (Levantamento de queijos de leite cru para qualidade microbiológica e prevalência de patógenos de origem alimentar).

“O queijo pode ser fabricado nos Estados Unidos usando leite cru, desde que o queijo envelheça por pelo menos 60 dias a temperaturas não inferiores a 35 F (1,7 C). Agora há uma crescente preocupação entre os reguladores quanto à segurança do queijo de leite cru devido à capacidade potencial de patógenos de origem alimentar sobreviverem à processos de fabricação e envelhecimento. Neste estudo, 41 queijos de leite cru foram obtidos no varejo de lojas especializadas, mercados de agricultores e fontes on-line. Os queijos foram então analisados quanto à presença de Listeria monocytogenes, Salmonella, Escherichia coli O157: H7, Staphylococcus aureus e Campylobacter.

Também foram realizadas contagens de placas aeróbias (APC), coliformes e leveduras / bolores. Os resultados revelados que nenhum dos patógenos entéricos foi detectado nas das amostras testadas. Cinco amostras continham coliformes; dois deles continham E. coli a menos de 102 ufc / g. Três outras amostras de queijo continham S. aureus. A contagem de APC e leveduras estava dentro dos limites esperados.

Com base nos resultados obtidos para esses 41 queijos de leite cru, a regra de 60 dias para o queijo não pasteurizado parece adequada para produção de produtos microbiologicamente seguros”. (grifo nosso)

3. Verraes et al., 2015. A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. International Dairy Journal 50 (2015) 32-44. (Uma revisão dos riscos microbiológicos de produtos lácteos feitos a partir de leite cru).

“Esta revisão concentra-se nas informações sobre os perigos microbiológicos possivelmente presentes em leite e laticínios, em especial queijo, manteiga, natas e leiteiro. Os principais perigos microbiológicos de queijos de leite cru (especialmente queijos macios e frescos) estão ligados a Listeria monocytogenes, Escherichia coli produtora de verocitotoxina (VTEC), Staphylococcus aureus, Salmonella e Campylobacter. L. monocytogenes, VTEC e S. aureus foram identificados como riscos microbiológicos na manteiga de leite cru e creme, embora em menor grau devido ao reduzido potencial de crescimento em comparação com o queijo. Dentro de áreas endêmicas, laticínios de leite cru também podem estar contaminados com Brucella spp.,

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Mycobacterium bovis e o vírus da encefalite transmitida por carrapatos (TBEV). Riscos potenciais devido a *Coxiella burnetii* e *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) são discutidos. A pasteurização garante a inativação de microrganismos patogênicos vegetativos, o que aumenta a segurança dos produtos feitos a partir deles em comparação com laticínios feitos de leite cru. Várias medidas de controle da fazenda à mesa são discutidas.

Conclusão: No geral, as informações disponíveis sobre alguns patógenos em produtos lácteos feitos de leite cru são limitadas, mas se for levado em consideração os riscos microbiológicos de produtos lácteos feitos de leite cru, a principal preocupação são os queijos de leite cru e *L. monocytogenes*, VTEC patogênico, produtor de enterotoxinas, *S. aureus*, *Salmonella* e *C. jejuni* / coli. Em seguida, *L. monocytogenes*, VTEC e *S. aureus* foram identificados como riscos microbiológicos na manteiga e nata de leite cru, embora em menor grau devido a uma redução do potencial de crescimento desses patógenos nos últimos produtos em comparação com o queijo. Em áreas endêmicas, produtos lácteos feitos de leite cru também podem estar contaminados com *Brucella* spp., *M. bovis* ou o vírus da encefalite transmitida por carrapatos e precisam de atenção especial em monitoramento e vigilância. Finalmente, *C. burnetii* e MAP são identificados como perigos potenciais. Devido à possível exposição do consumidor aos microrganismos patogênicos citados em produtos lácteos feitos do leite cru, a comunicação de risco adequada sobre o consumo desses produtos, em particular para uma população vulnerável, é recomendado”.

4. Silva, et al, 2018. Ocorrência de *Brucella* em queijo Minas artesanal da microrregião do Serro: um importante problema de saúde pública. Rev Med Minas Gerais 2018;28 (Supl 5): e-S280509

“O modo de fabricar o queijo Minas artesanal (QMA) na microrregião do Serro foi considerado patrimônio histórico imaterial da humanidade desde 2008. Mesmo produzido a partir de leite cru a sua comercialização foi autorizada. **Objetivos:** Estimar a prevalência de *Brucella* spp. no QMA da microrregião do Serro. **Métodos:** Foram avaliadas as evidências do patógeno (presença de DNA) em queijos de produtores cadastrados pelo Instituto Mineiro de Agricultura e Pecuária (IMA), com tempos de maturação de 4 e 8 dias à temperatura ambiente.

Resultados: Embora todas as amostras de queijo fossem de bovinos declarados negativos para brucelose por testes sorológicos anuais realizados por veterinários autônomos, os resultados da reação em cadeia da polimerase (PCR) mostraram 17 (30,9%, IC95% 18,7% a 43,1%) de amostras de QMA positivas para *Brucella* spp. entre os 55 analisados. O sequenciamento de DNA demonstrou uma similaridade de 100% com as cepas de campo de *Brucella* ssp.

Conclusões: Essa positividade no QMA pode ser considerada um risco potencial à saúde pública e sugere uma suposta deficiência do programa local de controle da brucelose no



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

monitoramento dessa população específica de rebanhos leiteiros e que medidas mais fortes de controle e prevenção da brucelose devem ser adotadas em agroindústrias produtoras de leite cru a fim de garantir a segurança do alimento”.

5. Melo et. al., 2013. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. Acta Scientiae Veterinariae, 2013. 41: 1152

O estudo foi realizado a partir da análise de 108 (cento e oito) amostras de queijo artesanal serrano, em cidades que compõem a região serrana e com período de coletas aos 15, 30, 45 e 60 dias de maturação, com 27 (vinte e sete) queijos coletados para cada período de maturação, conclui o que segue:

“A presença de coliformes totais, Escherichia coli e Staphylococcus aureus acima dos valores fixados como máximos pela legislação vigente, demonstra inadequadas condições de higiene durante o processo de fabricação e/ou armazenamento dos queijos.

O isolamento de Listeria monocytogenes torna o produto impróprio para o consumo humano, constituindo um problema de saúde pública.

A grande variação encontrada na composição dos queijos analisados demonstra a falta de padronização na produção do queijo artesanal nas unidades produtoras, bem como impediu a adequação de um período mínimo de maturação”.

6. Carvalho et. al., 2019. Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk. J. Dairy Sci. 102 <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16373> Received January 25, 2019. Accepted June 10, 2019.

Extraí-se do estudo apresentado que o objetivo do mesmo foi investigar a qualidade microbiológica da água, do leite cru e do queijo colonial produzido e vendido informalmente por agricultores familiares em um município localizado no Oeste de Santa Catarina, especificamente o município de Seara, com o intuito de identificar questões resultantes da produção informal do queijo e recomendar potenciais soluções para servirem de apoio às agências reguladoras brasileiras, contribuindo para a formalização da produção dos queijos artesanais brasileiros.

Segundo os materiais e métodos apresentados, cerca de 600 famílias produzem leite no município estudado e destas, 71 famílias produzem e vende queijo artesanal colonial, sendo que apenas uma produz queijo com leite pasteurizado, a qual não foi incluída na amostragem. É informado que as amostras foram escolhidas aleatoriamente entre as 70 famílias que produzem o queijo artesanal colonial de maneira tradicional

**ESTADO DE SANTA CATARINA**

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

utilizando leite cru, resultando em 12 propriedades rurais no estudo. No decorrer deste item informam as metodologias utilizadas para cada análise.

Levando-se em consideração que para a validação da qualidade e aptidão para o consumo, alguns requisitos como qualidade microbiológica da água, do leite e do queijo são primordiais à manutenção da saúde pública.

O referido estudo demonstrou que das amostras de água, 91,7% não estavam em conformidade com as normas em vigor para coliformes totais, 58,3% não estavam em conformidade para as normas de *E. coli* e que apenas uma amostra (8,3%), cuja água era proveniente de poço artesiano, apresentava-se dentro das normas, inferindo que a qualidade da água contribui para a contaminação bacteriana no queijo artesanal colonial. Na sequência discorrem sobre os possíveis problemas que levam à contaminação da água, citando vários autores e informando que as insuficiências encontradas podem representar um fator de risco para a saúde dos produtores, uma vez que a água era utilizada tanto para a fabricação do queijo artesanal colonial, quanto para o consumo da família.

Demonstrou o estudo que de 25 a 41,7% das amostras de leite cru não estavam dentro das normas de contagem bacteriana total e de contagem de células somáticas para determinar a qualidade do leite utilizado na fabricação do queijo artesanal colonial, e que constam na tabela 2 da referida publicação. Ato contínuo discorrem sobre as fontes de contaminação mais comuns, também referenciando vários autores e apontando possíveis causas e soluções.

Na tabela 3 do estudo são apresentados os resultados nas 12 propriedades quanto à qualidade microbiológica e físico-química do queijo colonial artesanal, onde verifica-se diferentes períodos de maturação, umidade e gordura, bem como vários parâmetros inconformes nos critérios microbianos avaliados, chegando a conclusão no estudo que a produção do queijo artesanal colonial avaliado não é capaz de atender aos parâmetros microbiológicos legais existentes. Embora, segundo opinião dos autores, o elencado não possa comprovar que os queijos estudados são impróprios ao consumo humano. Na sequência apresentam possíveis ações que podem contribuir para a evolução e melhoramento da produção do queijo artesanal colonial.

Mesmos após a publicação do Decreto, nosso corpo técnico segue se atualizando e atento aos novos estudos que estão surgindo como, por exemplo, a publicação de 2020 que segue:

7. Rozental et.al, 2020. First molecular detection of *Coxiella burnetii* in Brazilian artisanal cheese: a neglected food safety hazard in ready-to-eat raw-milk product. *braz j infect dis* 2020;24(3):208–212



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

“As publicações globais sobre a febre Q aumentaram após a epidemia de 2007 na Holanda. No entanto, a epidemiologia da febre Q / coxielose no Brasil ainda é pouco conhecida. Nesse sentido, existem poucos estudos investigando a presença de Coxiella burnetii em laticínios ao redor do mundo, especialmente no Brasil, onde o consumo de queijo fresco feito de leite cru é muito alto. Objetivo: Este estudo foi um levantamento aleatório para avaliar a prevalência de C. burnetii por PCR em queijo Minas artesanal tradicional da microrregião do Serro, Brasil, que é fabricado a partir de leite cru bovino. Métodos: DNA extraído de 53 amostras de queijo foi analisado por PCR com primers específicos de C. burnetii e os produtos confirmados por sequenciamento de DNA.

Resultados: Das 53 amostras de queijo, cinco (9,43%) foram C. burnetii DNA-positivo, cada um vindo de uma das respectivas agroindústrias de manufatura selecionadas aleatoriamente. Com base em nossos resultados, estima-se que 1,62 toneladas / dia de produtos prontos feitos com leite cru de um total de 16,2 toneladas produzidas diariamente na região de estudo estão contaminados com C. burnetii”.

O corpo técnico desta Diretoria se baseou em evidências, as quais não podemos deixar de explanar, para que, entre outras coisas atinentes à nossa competência, venham a ferir o princípio da precaução, diante dos estudos apresentados.

Além do embasamento científico citado frente ao tema, há embasamento legal. As normativas brasileiras também se referem ao período de maturação mínimo de 60 dias, na ausência de estudos técnicos conclusivos, conforme disposto no Decreto Federal nº 9013/2017, alterado pelo Decreto Federal nº 10.468/2020, que Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.

Art. 373. Para os fins deste Decreto, queijo é o produto lácteo fresco ou maturado que se obtém por meio da separação parcial do soro em relação ao leite ou ao leite reconstituído - integral, parcial ou totalmente desnatado - ou de soros lácteos, coagulados pela ação do coalho, de enzimas específicas, produzidas por microrganismos específicos, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem adição de substâncias alimentícias, de especiarias, de condimentos ou de aditivos.

(...)

§ 6º Fica excluído da obrigação de pasteurização ou de outro tratamento térmico o leite que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação a uma temperatura superior a 5°C (cinco graus Celsius), durante um período não inferior a sessenta dias.

*§ 7º O período mínimo de maturação de queijos de que trata o § 6º poderá ser alterado, após a realização de **estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto ou em casos previstos em RTIQ.** (grifo nosso)*



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

A Instrução Normativa nº 30/2013 do MAPA, por meio do seu Art. 1º também versa sobre a permissão da produção e comercialização de queijos artesanais tradicionalmente elaborados a partir de leite cru maturados por um período inferior a 60 dias, quando estudos técnicos-científicos comprovarem que a redução do período de maturação não compromete a qualidade e inocuidade do produto, além de outros critérios.

Descrevemos parte da justificativa do Deputado proponente quanto à necessidade de sustação do art. 13:

Por sua vez, o disposto no § 1º do art. 13 do Decreto em foco **não só contém regra dispar da Lei, mas também do próprio caput**, que, no mesmo compasso do Diploma Legal (art. 4º, § 2º, da Lei nº 17.486, de 2018)), estabelece que o período de maturação do queijo artesanal será estabelecido no Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), senão vejamos:

Art. 13. O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em RTIQ, será definido mediante **comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes.**

§ 1º O queijo artesanal tradicionalmente elaborado com leite cru **deve ser maturado por período não inferior a 60 (sessenta) dias, sob temperatura superior a 5º C (cinco graus Celsius).**

(Grifei)

A título de comparação, segue o artigo citado da Lei nº 17.486/2018:

Art. 4º Para cada tipo de queijo será elaborado um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ).

§ 2º O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em regulamento técnico específico para cada tipo de queijo, será definido mediante comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes. (grifo nosso)

Portanto, observamos equivalência do *caput* do art. 13 do referido Decreto com a Lei nº 17.486/2018.



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Quanto à justificativa levantada em relação aos artigos 13 e 37 do Decreto, esclarecemos:

Art. 13. [...]

§ 1º O queijo artesanal tradicionalmente elaborado com leite cru deve ser maturado por **período não inferior a 60 (sessenta) dias**, sob temperatura superior a 5° C (cinco graus Celsius). (Grifei)

Art. 37. [...]

§ 1º Os queijos **poderão** ser submetidos a processo de maturação a uma temperatura superior a 5° C (cinco graus Celsius), **durante um período inferior a 60 (sessenta) dias**, desde que previsto em RTIQ e após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto.

(Grifei)



ASSEMBLEIA LEGISLATIVA
DO ESTADO DE SANTA CATARINA



Além de ambos os dispositivos inovarem em relação à Lei, o primeiro determina que o queijo artesanal tradicionalmente elaborado com leite cru deve ser maturado por período **não inferior a 60 (sessenta) dias**, e o segundo durante um período **inferior a 60 (sessenta) dias**.

O art. 13 ressalta que o queijo artesanal elaborado com leite cru deve ser maturado por período maior que 60 (sessenta) dias. Entretanto, o art. 37 estabelece a possibilidade de serem submetidos ao processo de maturação por menos de 60 (sessenta) dias, porém desde que previsto em RTIQ e com os estudos conclusivos demonstrando a inocuidade do produto no período preconizado. Ambas as situações foram estabelecidas cientificamente e legalmente.

Cabe destacar, também, a Portaria nº 146, de 07 de março de 1996, do MAPA, que aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade dos Produtos Lácteos e que no Anexo I estabelece o RTIQ de Queijos, fixa a identidade e os requisitos mínimos

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

de qualidade que deverão possuir os queijos, com exceção dos Queijos Fundidos, Ralados, em Pó e Requeijão, ressalta no item 7 - HIGIENE:

7.1. Considerações Gerais

As práticas de higiene para elaboração do produto estarão de acordo com o estabelecido no Código Internacional Recomendado de Práticas, Princípios Gerais de Higiene dos Alimentos. (COC/VOL A 1985).

O leite a ser utilizado deverá ser higienizado por meios mecânicos adequados e submetido à pasteurização ou tratamento térmico equivalente para assegurar a fosfatase residual negativa (A.O.A.C. 15º Ed. 1990, 979.13,p.823) que garantam a inocuidade do produto.

Fica excluído da obrigação de ser submetido à pasteurização ou outro tratamento térmico o leite higienizado que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação a uma temperatura superior aos 5°C, durante um tempo não inferior a 60 dias. (grifo nosso)

Outro ponto que destacamos, relacionado a este tema, diz respeito à Portaria nº 186/2020 do MAPA, que dispôs consulta pública para estabelecer os requisitos para a elaboração de queijo artesanal para atendimento à Lei Federal nº 13.860, de 18 de julho de 2019. Consta no Relatório de Parecer Consolidado, frente às sugestões recebidas na consulta pública, especialmente no ponto relacionado a 60 dias de maturação, que este tema já está contemplado em normas complementares, portanto não será contemplada nesta normativa. Normas essas que são as citadas acima.

Portanto, é imprescindível a permanência do art. 13 e §§1º e 6º do art. 37 no Decreto em apreço, pois as características organolépticas (físico-químicas, que inclui o período de maturação) e microbiológicas de cada variedade de queijos precisam ser comprovadas perante análises laboratoriais, evidenciando que o produto é inócuo e seguro ao consumidor, para que então seja elaborado o seu RTIQ. As análises físico-químicas e microbiológicas estão atreladas ao modelo de RTIQ para produtos de origem animal determinado pelo MAPA, respeitando a peculiaridade de cada produto. Os laboratórios mencionados são aqueles que utilizam metodologias analíticas reconhecidas e aprovadas pela CIDASC e pelo MAPA e todo o processo de elaboração do RTIQ deve ser acompanhado por, pelo menos, um técnico do Serviço Veterinário Oficial. Sendo assim, entendemos que os dispositivos em epígrafe são relevantes no Decreto, pois visam salvaguardar a saúde pública, melhorar a qualidade do produto e, consequentemente, após atestada a segurança alimentar do produto e atendidos os requisitos sanitários, o produtor poderá conquistar o mercado nacional ou até mesmo o internacional.

Já a parte jurídica *per si* não nos compete, embora por meio de processo anterior, esteja ele referendado nos Autos do Processados SCC nº 7651/2017, tenha a PGE, na época, se manifestado pela inconstitucionalidade, o que não impediu a



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

tramitação e publicação da agora Lei nº 17.486/2018, objeto cujo Decreto que a regulamenta nos foi imputado.

Referente à sustação do art.14 do Decreto nº 362/2019, manifestamos:

Texto da justificativa da PSA:

No que se refere ao art. 14 do Decreto, verifica-se que estabelece parâmetros para análise biológica em descompasso com o proposto pelo Ministério da Agricultura e Pecuária e Abastecimento (MAPA) em consulta pública para os queijos artesanais de leite cru (Portaria nº 186, de 9 de dezembro de 2020) e ao estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução - RDC nº 331, de 23 de dezembro de 2019, a quem compete tal tarefa, consoante dispõe o art. 2º, III e § 1º, I e II, da Lei federal nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999.

Quanto ao PSA acerca do art. 14 deste Decreto, cabe demonstrar que a Portaria nº 186/2020 do MAPA se refere à consulta pública sobre critérios referentes à abertura de prazo, pelo prazo de 45 dias, que estabelece os requisitos para a elaboração de queijo artesanal para atendimento à Lei Federal nº 13.860, de 18 de julho de 2019.

A PSA, neste quesito, remete que o art. 14 do Decreto, que também estaria em desacordo com o estabelecido pela ANVISA por meio da RDC nº 331/2019, a quem competiria tal tarefa.

Salvo algum descompasso na pesquisa realizada em relatório final da consulta pública do MAPA (Portaria nº 186/2020, citada no mesmo parágrafo da PSA), verificamos que as informações ali constantes não conferem com o verificado no Relatório de Parecer Consolidado do MAPA, pois este órgão federal tem a competência legal para estabelecer os critérios microbiológicos, ora questionados no PSA, para produtos de origem animal até o momento da sua distribuição, quando então inicia a competência do Ministério da Saúde, através das normas da ANVISA, que dentre outros procedimentos legais, fiscaliza os produtos de origem animal (e vegetal) presentes no comércio varejista. Por conta disso, há uma sincronia técnica e legal entre as normas acerca de produtos de origem animal aplicadas pelos dois Ministérios, com o mesmo propósito já mencionado e que não cedemos: salvaguardar a saúde do consumidor.

Salientamos, mais uma vez, que os queijos elaborados com leite cru podem causar intoxicações alimentares ocasionadas por bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Campylocater jejuni*, bem como brucelose e tuberculose, ocasionando severos riscos principalmente para grávidas, crianças, idosos e imunodeprimidos.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Sobre o Art. 37, já discorremos anteriormente.

Referente à Sustação do inciso X do art. 51 do Decreto nº 362/2019, manifestamos:

O art. 51 trata do registro da queijaria no Serviço de Inspeção Estadual. Dentre os documentos que compõem o processo de obtenção de SIE (Serviço de Inspeção Estadual), aplicado a todo e qualquer estabelecimento de produtos de origem animal em processo de registro, está o memorial econômico-sanitário, citado no inciso X do artigo 51 do Decreto 362/2019. Atualmente o documento é chamado de Memorial Tecnológico e Sanitário do Estabelecimento – MTSE. Neste Memorial são incluídas as informações gerais do estabelecimento, como dados do terreno e do projeto, informações da água de abastecimento e das instalações industriais (queijaria), descrição das máquinas e equipamentos, apresentação das matérias-primas e produtos e informações complementares. Este procedimento é legalmente previsto no Decreto Federal nº 9.013/2017, em seu art. 28.: “Para obtenção do registro ou do relacionamento do estabelecimento serão observadas as seguintes etapas: I- depósito, pelo estabelecimento, da documentação exigida, nos termos do disposto nas normas complementares; II - avaliação e aprovação, pela fiscalização, da documentação depositada pelo estabelecimento”. Pode-se consultar a utilização do MTSE em âmbito federal nas orientações para registro de estabelecimentos na página do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-animal/empresario/registro-de-estabelecimentos>).

Portanto, o documento que traz as informações referentes aos dados econômicos-sanitários da queijaria é amplamente utilizado e exigido no processo de regularização de qualquer estabelecimento de produtos de origem animal, comprovando tão somente que o estabelecimento apresenta as condições mínimas exigidas para produzir o que pretende.

Ao sustar o inciso X do artigo 51 do referido Decreto, a informação apenas ficará oculta nesta legislação. No momento em que o responsável legal pela queijaria procurar o serviço oficial de inspeção para sua regularização, será solicitado o preenchimento dos documentos constantes do processo de obtenção de registro, estando entre eles o memorial econômico-sanitário (atual Memorial Tecnológico e Sanitário do Estabelecimento).

Concluimos o parecer desta Diretoria, referenciando o elencado em cada dispositivo contestado pela PSA, com base nas prerrogativas técnicas, normativas e estudos demonstrados neste Parecer.

Gostaríamos de destacar que a Secretaria de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural reconhece e apoia as iniciativas relacionadas com os produtos tradicionais e artesanais e que tem trabalhado fortemente visando à valorização e qualificação destes produtos que são característicos de Santa Catarina e enaltecem o Estado.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Juntamente com todo o trabalho feito com carinho pelos produtores, cabe ao Estado resguardar os preceitos legais e chancelar as garantias sanitárias para que o produto que chega à mesa do consumidor seja seguro, propiciando a manutenção da saúde pública como bem maior, assim como também trazer à luz as oportunidades que um produto característico e de qualidade pode alavancar.

Diante disso, a SAR está em vias da elaboração de uma política pública que versa o incentivo ao desenvolvimento da agroindústria familiar no estado, juntamente com a CIDASC e Epagri, que propõe a inclusão social no meio rural, reconhecimento e agregação de valor ao produto catarinense, entre outros, e acreditamos que algo desta magnitude deva ser tratado mais adiante com os entes a serem envolvidos neste processo, e principalmente a ALESC.

Gostaríamos de esclarecer que não consideramos as regras **contraditórias, excêntricas e descabidas**, conforme consta na justificativa apresentada pelo Deputado. Sendo esta uma das razões que consideramos que um debate técnico, onde visões respaldadas em argumentações fundamentadas, possam nos levar à construção de normativa adequada à excelência e seriedade reconhecida do Estado de Santa Catarina, alcançada por esforços de muitos, em especial dos produtores, lideranças políticas e técnicos.

Por fim, informamos que, a partir das explicações aqui apresentadas, caso seja verificada a pertinência em efetuar as mudanças no Decreto, após o alinhamento das manifestações desta Secretaria com a ALESC, especialmente no componente técnico e científico com importante relevância sanitária, que precisam ser analisados devido à implicância que pode gerar na saúde pública e no impacto à Santa Catarina, colocamo-nos à disposição para a revisão do Decreto, de forma a buscar a construção do processo de valorização e qualificação dos Queijos Artesanais de Leite Cru, juntamente com os setores produtivos e órgãos envolvidos com este tema.

Isto posto, remetemos o Parecer à Consultoria Jurídica para apreciação e demais observações.

À consideração do Consultor Jurídico.

Daniela Carneiro do Carmo
Diretora de Qualidade e Defesa Agropecuária
(assinado digitalmente)

Deyse Carpes Gomes
Gerente de Sanidade Animal
(assinado digitalmente)

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





Código para verificação: **6J8BX1S6**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



DANIELA CARNEIRO DO CARMO em 13/07/2021 às 20:13:10

Emitido por: "SGP-e", emitido em 26/04/2019 - 13:56:27 e válido até 26/04/2119 - 13:56:27.

(Assinatura do sistema)



DEYSE CARPES GOMES em 14/07/2021 às 11:56:57

Emitido por: "SGP-e", emitido em 09/05/2019 - 13:35:09 e válido até 09/05/2119 - 13:35:09.

(Assinatura do sistema)

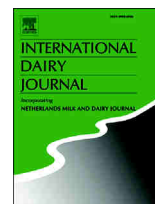
Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyOTIxXzEyOTMxXzlwMjFfNko4QlgxUzY=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012921/2021** e o código **6J8BX1S6** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.



Contents lists available at ScienceDirect

International Dairy Journal

journal homepage: www.elsevier.com/locate/idaairyj

Review

A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk

C. Verraes^{a, *}, G. Vlaemynck^b, S. Van Weyenberg^b, L. De Zutter^{c, d}, G. Daube^{c, e},
M. Sindic^{c, f}, M. Uyttendaele^{c, g}, L. Herman^{b, c}^a Staff Direction for Risk Assessment, DG Control Policy, Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC), Kruidtuinlaan 55, 1000 Brussels, Belgium^b Institute of Agricultural and Fisheries Research (ILVO), Brusselsesteenweg 370, 9090 Melle, Belgium^c Scientific Committee, Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC), Kruidtuinlaan 55, 1000 Brussels, Belgium^d Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 Merelbeke, Belgium^e Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Boulevard de Colonster 20, 4000 Liège, Belgium^f Gembloux Agro-bio Tech, University of Liège, Passage des Déportés 2, 5030 Gembloux, Belgium^g Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University, Coupure Links 653, 9000 Ghent, Belgium

ARTICLE INFO

Article history:

Received 7 April 2015

Received in revised form

21 May 2015

Accepted 25 May 2015

Available online 14 June 2015

ABSTRACT

This review concentrates on information concerning microbiological hazards possibly present in raw milk dairy products, in particular cheese, butter, cream and buttermilk. The main microbiological hazards of raw milk cheeses (especially soft and fresh cheeses) are linked to *Listeria monocytogenes*, verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* and *Campylobacter*. *L. monocytogenes*, VTEC and *S. aureus* have been identified as microbiological hazards in raw milk butter and cream albeit to a lesser extent because of a reduced growth potential compared with cheese. In endemic areas, raw milk dairy products may also be contaminated with *Brucella* spp., *Mycobacterium bovis* and the tick-borne encephalitis virus (TBEV). Potential risks due to *Coxiella burnetii* and *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) are discussed. Pasteurisation ensures inactivation of vegetative pathogenic microorganisms, which increases the safety of products made thereof compared with dairy products made from raw milk. Several control measures from farm to fork are discussed.

© 2015 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Contents

1. Introduction	32
2. Occurrence of human pathogenic microorganisms in raw milk and dairy products made from raw milk	33
3. Reported human cases and outbreaks due to the consumption of dairy products made from raw milk	33
4. Growth and survival of pathogenic microorganisms during production and storage/ripening of dairy products made from raw milk	38
5. Identification of main microbiological hazards in dairy products made from raw milk	38
6. Discussion	41
7. Conclusion	41
Acknowledgements	42
References	42

1. Introduction

Consumers' attitudes show a trend towards increased consumption of foods that are not or only minimally processed such as raw milk and dairy products made from raw milk. Cheeses made from raw cow, sheep and goat milk are the most frequently

* Corresponding author. Tel.: +32 2 211 87 00.
E-mail address: claire.verraes@favv.be (C. Verraes).

consumed type of dairy products made from raw milk; however, other types of dairy products made from raw milk are also consumed such as mozzarella made from raw buffalo milk, as well as raw milk butter made from cow milk. The consumption of raw milk can hold a risk for the consumer, due to the possible presence of human pathogenic microorganisms. The risks and benefits of the consumption of raw cow milk were described in a review by [Claeys et al. \(2013\)](#) and the nutritional and health benefits of the consumption of raw milk from animal species other than cows were described in a review by [Claeys et al. \(2014\)](#). The microbiological hazards of raw milk from animal species other than cows were described in a review by [Verraes et al. \(2014\)](#). Also EFSA evaluated the public health risk from the consumption of raw drinking milk ([EFSA, 2015](#)).

In the present review, a collation is made of available information in the scientific literature concerning the microbiological hazards of dairy products made from raw milk, in particular cheese, butter, cream and buttermilk. Dairy products made from raw milk from cows, sheep and goats are taken into account. Dairy products made from raw milk from other animal species are less relevant in Europe, with the exception of mozzarella made from raw buffalo milk. Only zoonotic human pathogenic microorganisms and pathogens originating from the environment have been taken into consideration. Pathogenic agents originating from human contamination due to human illness, e.g., *Salmonella* Typhi, *Shigella* spp. and noroviruses are not covered in this review.

2. Occurrence of human pathogenic microorganisms in raw milk and dairy products made from raw milk

In general, pathogenic microorganisms can contaminate raw milk in two ways. The first way is an endogenous contamination where the milk is contaminated by a direct transfer from the blood (systemic infection) to the milk or via an infection in the udder called mastitis. The second way is an exogenous contamination, where the milk is contaminated during or after milking by the faeces, the exterior of the udder and teats, the skin, the environment, etc.

Based on recent review documents ([Claeys et al., 2013](#); [EFSA, 2015](#); [Sci Com, 2011, 2013](#); [Verraes et al., 2014](#)), the following human pathogenic microorganisms are considered as the main microbiological hazards associated with raw milk consumption from cows, goats and sheep: *Bacillus cereus*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*, enterotoxin-producing *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, human pathogenic verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC), human pathogenic *Yersinia*, *Leptospira*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Clostridium botulinum*, *Brucella* spp., *Mycobacterium bovis*, *Cryptosporidium parvum* and *Toxoplasma gondii*. Some microbiological hazards are indicated as hypothetical because they are still not confirmed, but have the hypothetical potential to be pathogenic for humans (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*; MAP) or to be foodborne (*Coxiella burnetii*).

Limited systematic data were available on prevalences of human pathogenic microorganisms in dairy products made from raw milk. In a baseline study ([EFSA, 2013b](#)) performed at a European level, 1 sample from 476 raw milk cheese samples exceeded 100 cfu g⁻¹ for *L. monocytogenes*. The EU summary report mentioned that non-compliance of *L. monocytogenes* primarily occurred in soft and semi-soft cheeses made from raw or low heat-treated cows' milk ([EFSA & ECDC, 2015](#)). In addition, studies in the scientific literature describing detection frequencies of human pathogenic microorganisms in dairy products made from raw milk provide an indication of prevalences. Data of such frequencies of occurrence were

collected for Europe and are shown in [Table 1](#), where the detection frequency, the type of food, the method of analysis and the country are given.

Frequencies of occurrence were found for several raw milk cheeses, butter and cream. No frequencies were found for butter-milk made from raw milk as such products are less often produced. No *Salmonella* has been detected in any tested samples of raw milk cheeses, butter and cream with the exception of one publication where the prevalence in cheese was 4.3% (n = 70 samples; [Almeida et al., 2007](#)). Concerning VTEC in raw milk cheeses, *E. coli* strains with virulence genes are detected with frequencies between 0 and 55.3%. [Farrokh et al. \(2013\)](#) stated that the prevalence of *vtx* genes, detected by PCR, does not necessarily reflect the occurrence of a viable *E. coli* isolate containing those genes. VTEC was also detected in butter ([Messelhäuser, Beck, Gallien, Schalch, & Busch, 2008](#)). As illustrated in [Table 1](#), *L. monocytogenes* was detected in raw milk cheeses, butter and cream with frequencies varying between 0 and 41.9%, 3.6 and 29.9%, and 0.7 and 8.3% respectively, although in some cases the numbers were lower than 100 cfu g⁻¹. Of 70 cheese samples, 11.4% were positive for *L. monocytogenes* per 25 g, whereby 1.4% contained counts higher than 200 cfu g⁻¹ and 10.0% lower than 100 cfu g⁻¹ ([Almeida et al., 2007](#)). Of 474 cheese samples and 519 butter samples, respectively, 0.6% and 0.2% of the samples that were taken in Belgium by the sector of small cheese producers in the Walloon region had counts higher than 100 cfu g⁻¹ ([Sci Com, 2015](#)). No *Campylobacter* were detected in 199 tested raw milk cheeses, which contrasts the higher reporting in raw milk (0–12%) ([EFSA, 2015](#); [Verraes et al., 2014](#)). As indicated in [Table 1](#), *S. aureus* was found in raw milk products with frequencies between 5 and 100% in cheeses, and between 1.6 and 20.3% in butter, but the possibility of the strains to produce enterotoxins varies and the share of such strains is difficult to deduce from the available information. [Jørgensen, Mørk, and Rørvik \(2005\)](#) also detected *S. aureus* in sour cream. *B. cereus* was detected in 28% of 25 samples of cheeses made from raw milk of several animal species. All strains were able to produce enterotoxins ([Williams & Withers, 2010](#)). MAP was detected in 4.2 and 20% of raw milk cheese samples using PCR ([Stephan, Schumacher, Tasara, & Grant, 2007](#); [Williams & Withers, 2010](#)). *C. burnetii* was detected with PCR in 57.0% of unpasteurised cheese samples and in one of two cream samples, but the relation of these PCR results with the presence of infectious strains is not clear ([Eldin, Angelakis, Renvoisé, & Raoult, 2013](#)).

3. Reported human cases and outbreaks due to the consumption of dairy products made from raw milk

The development of a disease after consumption of contaminated dairy products made from raw milk depends on several factors such as the pathogenicity of the strain, the number of ingested microorganisms, the physiological state of the microorganism, the health condition of the consumer at the moment of ingestion, etc. Persons belonging to the YOPI group (young, old, pregnant, immunodeficient) have a higher risk of infection for certain pathogens such as *L. monocytogenes* and healthy persons can also be infected. The likelihood of developing a disease follows a dose–response curve with a higher number of cells increasing the chance of developing a disease. This relationship was categorised by the EFSA BIOHAZ Panel in the framework of a risk ranking exercise of foods of non-animal origin as follows: score 1 stands for a dose–response curve where the pathogen has to grow to high numbers (often higher than 5 log cfu g⁻¹) to produce toxins and cause illness; score 2 stands for a dose–response curve where the pathogen must grow to cause illness; and score 3 stands for a dose–response curve where the pathogen can cause illness in low numbers ([Da Silva et al., 2015](#); [EFSA, 2013a](#)). *Salmonella*,

Table 1Reported frequencies of occurrence of human pathogenic microorganisms in/on dairy products made from raw milk in Europe.^a

Dairy product made from raw milk	Frequency of occurrence (%)	Number of samples	Comments	Country	References
<i>Salmonella</i>					
Cheese	0.0	71		Belgium	De Reu, Debeuckelaere, Botteldoorn, De Block, and Herman (2002)
	0.0	20		Belgium	De Reu, Grijspeerd, and Herman (2004)
	0.0	334		Germany	Hahn, Walte, Coenen, and Teufel (1999a)
	0.0	75		Ireland	Coveney, Fitzgerald, and Daly (1994)
	4.3	70		Portugal	Almeida et al. (2007)
	0.0	25		Scotland	Williams and Withers (2010)
	0.0	429		Belgium	DiversiFerm (pers. comm.)
	0.0	582		Belgium	FASFC (pers. comm.)
Butter	0.0	64		Belgium	De Reu et al. (2004)
	0.0	518		Belgium	DiversiFerm (pers. comm.)
	0.0	192		Belgium	FASFC (pers. comm.)
Cream	0.0	132		Belgium	FASFC (pers. comm.)
Verocytotoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (VTEC)					
Cheese	5.6	71	IMS, VIDAS O157 assay and PCR	Belgium	De Reu et al. (2002)
	0.0	20	IMS, VIDAS O157 assay and PCR	Belgium	De Reu et al. (2004)
	0.0	334	1.5% VTEC	Germany	Hahn et al. (1999a)
	4.0	25	Enrichment; 1 <i>stx2</i> -positive strain	Italy	Volponi et al. (2012)
	13.1	1039	PCR	France	Vernozzy-Rozand, Montet, Berardin, Bavai, and Beutin (2005)
	5.7	1502	PCR	Switzerland	Zweifel et al. (2010)
	0.0	739	IMS	Scotland	Coia, Johnston, Steers, and Hanson (2001)
	8.9	180	- Vero cell assay	France	Fach et al. (2001)
	30.6		- PCR-ELISA		
	4.8	83	Isolation	Spain	Caro and García-Armesto (2007)
	30.4	112	- PCR-ELISA	Italy	Auvray, Lecureuil, Dilasser, Taché, and Derzelle (2009)
	27.7		- RT-PCR		
	2.7		- Colony hybridisation		
	4.5	143	- PCR <i>vtx1</i> gene	Italy	Civera et al. (2007)
	3.8		- PCR <i>vtx2</i> gene		
	0.8		- PCR <i>eae</i> gene		
	2.1		- PCR <i>ehxA</i> gene		
	0.0		- Isolation		
	0.0	1313	Isolation of <i>E. coli</i> O157; also butter	Italy	Conedera et al. (2004)
	4.9	- 796	- PCR	Switzerland	Stephan et al. (2008)
	41.0	- 39	- Non-O157 VTEC strains		
	0.0	70	IMS	Portugal	Almeida et al. (2007)
	29.8	400	- PCR <i>vtx</i> gene	France	Madic et al. (2011)
	37.3		- PCR <i>eae</i> gene		
	55.3		- At least one of O26, O103, O111, O145 and O157 genetic markers		
	6.5		- Combinations of above		
	0.0	25	Isolation of <i>E. coli</i> O157	Scotland	Williams and Withers (2010)
	10.0	10	Also butter	Germany	Messelhäuser et al. (2008)
	0.8	1042	PCR	Belgium	FASFC (pers. comm.)
Butter	0.0	64	IMS, VIDAS O157 assay and PCR	Belgium	De Reu et al. (2004)
	0.0	366	PCR	Belgium	FASFC (pers. comm.)
Cream	0.0	131	PCR	Belgium	FASFC (pers. comm.)
<i>Listeria monocytogenes</i>					
Cheese	0.0	55		Sweden	Rosengren et al. (2010)
	0.8	122		Norway	Jakobsen, Heggebo, Sunde, and Skjervheim (2011)
	2.8	71		Belgium	De Reu et al. (2002)
	0.0	20		Belgium	De Reu et al. (2004)
	2.4	334		Germany	Hahn et al. (1999a)
	0.0	17		Ireland	Coveney et al. (1994)
	11.4	70	1.4% > 2.3 log cfu g ⁻¹ ; 10.0% < 2 log cfu g ⁻¹	Portugal	Almeida et al. (2007)
	19.0	42		Italy	Rantsiou, Alessandria, Urso, Dolci, and Cocolin (2008)
	0.0	252		Portugal	Kongo, Malcata, Ho, and Wiedmann (2006)

Table 1 (continued)

Dairy product made from raw milk	Frequency of occurrence (%)	Number of samples	Comments	Country	References
Butter	0.0	51	0.6% > 2 log cfu g ⁻¹	Spain	Arrese and Arroyo-Izaga (2012)
	4.0	25		Scotland	Williams and Withers (2010)
	41.9	31		Sweden	Loncarevic et al. (1995)
	0.0	230		Austria	Schoder et al. (2011)
	12.2	474	0.2% > 2 log cfu g ⁻¹	Belgium	DiversiFerm (pers. comm.)
	6.0	901		Belgium	FASFC (pers. comm.)
	18.7	64		Belgium	De Reu et al. (2004)
	29.9	519		Belgium	DiversiFerm (pers. comm.)
Cream	12.4	259		Belgium	De Reu and Herman (2004); De Reu, Herman, De Boosere, and De Ville (2006, 2007); De Reu, Herman, and De Ville (2008)
	3.6	361		Belgium	FASFC (pers. comm.)
	5.0	20		Belgium	De Reu and Herman (2004)
	8.3	60		Croatia	Frece, Markov, Čvek, Kolarec, and Delaš (2010)
<i>Campylobacter</i> Cheese	4.2	48		England & Wales	Greenwood et al. (1991)
	0.7	134		Belgium	FASFC (pers. comm.)
<i>Staphylococcus aureus</i> Cheese	0.0	66		Ireland	Whyte et al. (2004)
	0.0	10		Germany	Messelhäuser et al. (2008)
	0.0	123		Belgium	FASFC (pers. comm.)
Butter	69.0	55	Coagulase-positive staphylococci; 10.9% > 5 log cfu g ⁻¹ ; 0% enterotoxins	Sweden	Rosengren et al. (2010)
	67.5	122	Average of cheese stages >3 log cfu g ⁻¹ ; 7.1% (14) Enterotoxins	Norway	Jakobsen et al. (2011)
	19.7	71	0% Enterotoxins	Belgium	De Reu et al. (2002)
	5.0	20	>4 log cfu g ⁻¹	Belgium	De Reu et al. (2004)
	13.1	245		Germany	Hahn, Walte, Coenen, and Teufel (1999b)
	100.0	33	42.4% Enterotoxins	Italy	Cremonesi et al. (2007)
	80.4	46	Average of cheese stages; 100% enterotoxins	Italy	Poli et al. (2007)
	36.0	25	7 of 18 Examined strains from 2 cheeses able to produce enterotoxin C	Scotland	Williams and Withers (2010)
	8.3	737	>5 log cfu g ⁻¹	Belgium	FASFC (pers. comm.)
	1.6	64	0% Enterotoxins	Belgium	De Reu et al. (2004)
<i>Bacillus cereus</i> Cheese	20.3	281		Belgium	FASFC (pers. comm.)
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> Cheese	28.0	25	100% Enterotoxins	Scotland	Williams and Withers (2010)
	0.0	3		Belgium	FASFC (pers. comm.)
<i>Coxiella burnetii</i> Cheese	4.2	143	PCR; no viable cells	Switzerland	Stephan et al. (2007)
	20.0	25	PCR	Scotland	Williams and Withers (2010)
Butter					
Cream					

^a Abbreviations are: IMS, immunomagnetic separation; PCR, polymerase chain reaction; PCR-ELISA, polymerase chain reaction enzyme-linked immunosorbent assay.

Campylobacter, VTEC and the tick-borne encephalitis virus (TBEV) were in the framework of the present study allocated a score 3; *L. monocytogenes*, *Brucella*, *M. bovis* and pathogenic species of *Streptococcus* have to grow to cause illness and have score 2; and *S. aureus* and *B. cereus* have to grow to numbers of several log units to be able to produce sufficient toxins to cause illness and therefore they have a score of 1. For MAP and *C. burnetii* the foodborne and zoonotic potential is not known.

The consumption of dairy products made from raw milk has already caused several human cases and outbreaks. In Table 2, a

non-exhaustive list is shown of reported human cases and outbreaks in Europe, the United States and Canada related to the consumption of dairy products made from raw milk found in scientific literature or reported by official organisations. Only outbreaks due to the consumption of raw milk cheeses were found and one outbreak was ascribed to the consumption of raw milk cream linked to infection with *E. coli* O157:H7 (CDSC, 1998a). Outbreaks due to the consumption of raw milk butter or buttermilk were not found. From a report from EFSA (EFSA & ECDC, 2014), it seems that in 2012 no outbreaks were reported in the EU due to the

Table 2

Reported human cases and outbreaks in Europe, the United States and Canada due to the consumption of dairy products made from raw milk.

Pathogenic agent	Dairy product made from raw milk	Country	Year	Cases	References
<i>Salmonella enteric</i> Muenster	Cheddar cheese from unpasteurised milk	Canada	1982	Not given	D'Aoust, Warburton, and Sewell (1985); van Cauteren et al. (2009)
<i>Salmonella</i> Typhimurium PT10	Cheddar cheese from unpasteurised milk	Canada	1984	>1700 confirmed cases	D'Aoust et al. (1985)
<i>Salmonella</i>	Farm raw milk cheese	Finland	1985	35 cases	Huchot, Bohnert, Cerf, Farrokhi, and Lahellec (1993)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Raw milk vacherin mont d'or cheese	Switzerland	1985	215 cases	Anonymous (1986)
<i>Salmonella</i> Dublin	Soft stilton cheese from unpasteurised milk	England and Wales	1989	42 cases	Maguire et al. (1992)
<i>Salmonella</i> Paratyphi B	Raw goat milk cheese	France	1990	277 cases	Grimont and Bouvet (1991)
<i>Salmonella</i> Paratyphi B	Raw goat milk cheese	France	1993	273 cases, 1 dead	Desenclos et al. (1996)
<i>Salmonella</i> Berta	Farm soft cheese from unpasteurised milk	Canada	1994	35 confirmed cases	Ellis et al. (1998)
<i>Salmonella</i> Dublin	Raw cow milk mont d'or cheese	France and Switzerland	1995	25 cases, 12 hospitalised, 5 dead	Vaillant et al. (1996)
<i>Salmonella</i> Dublin	Raw cow milk mont d'or cheese	France	1996	14 cases, 1 dead	Infuso, Vaillant, and Desenclos (1997)
<i>Salmonella</i> Typhimurium PT12 atypical	Raw milk morbier cheese	France	1997	113 cases	De Valk et al. (2000)
<i>Salmonella</i> Typhimurium var Copenhagen phage type DT104 (outbreak 1) and non-var Copenhagen phage type DT 104b (outbreak 2)	Unpasteurised Mexican-style cheese	United States	1997	31 confirmed cases (outbreak 1); 79 cases (outbreak 2)	Cody et al. (1999)
<i>Salmonella</i> Typhimurium DT104	Unpasteurised Mexican-style cheese	United States	1997	54 confirmed cases	Villar et al. (1999)
<i>Salmonella</i> Newport	Raw milk cheese	United States	2001	27 cases, 12 hospitalised	CDC (2014)
<i>Salmonella</i> Enteritidis phage type 8	Raw milk cantal cheese	France	2001	215 cases	Haeghebaert et al. (2003)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2003	50 cases, 7 hospitalised	CDC (2014)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2004	12 cases, 1 hospitalised and 1 dead	CDC (2014)
<i>Salmonella</i>	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2005	2 cases	CDC (2014)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2006	20 cases, 2 hospitalised	CDC (2014)
<i>Salmonella enterica</i> Newport	Unpasteurised Mexican-style aged cheese	United States	2006–2007	85 cases (but no significant association)	CDC (2008)
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Raw milk cheese and raw milk	United States	2007	29 cases	CDC (2007)
<i>Salmonella enteric</i> Muenster	Unpasteurised goat cheese	France	2008	25 laboratory-confirmed cases, 4 hospitalised	van Cauteren et al. (2009)
<i>Escherichia coli</i> O119:B14 (vtx2)	Farm fresh cheese from raw cow and goat milk	France	1992–1993	4 cases, 4 HUS, 1 dead	Casenave et al. (1993)
<i>E. coli</i> O157 (PT28, vtx2)	Farm raw milk cheese	Scotland	1994	22 cases, 1 HUS	Ammon (1997)
<i>E. coli</i> O103	Farm fresh cheese from raw goat milk	France	1994	4 cases, 4 HUS	Decludt (1995)
<i>E. coli</i> O110:H-	Raw milk cheese	Germany	1996	3 cases, 0 HUS	Bockemühl and Karch (1996)
<i>E. coli</i> O157:H7	Fresh cheddar cheese curds	United States	1998	63 cases, 55 laboratory-confirmed, 24 hospitalised	CDC (2000)
<i>E. coli</i> O157:H7	Unpasteurised cream	England	1998	7 cases	CDSC (1998a)
<i>E. coli</i> O157 (PT2, vtx2)	Cheese from unpasteurised milk	England	1998	10 cases, 1 HUS case	CDSC (1998b)
<i>E. coli</i> O157	Unpasteurised farm cheese	Scotland	1998	4 cases	Strachan et al. (2006)
<i>E. coli</i> O157 (PT21, PT28)	Homemade raw goat milk cheese	Scotland	1999	27 cases, 1 HUS	Curnow (1999)
<i>E. coli</i> O157:H7	Unpasteurised gouda hard cheese	Canada	2002–2003	13 cases, 2 HUS	Honish et al. (2005)
<i>E. coli</i> O157:H7	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2004	3 cases, 2 hospitalised	CDC (2014)
<i>E. coli</i> O157:H7	Raw milk cheese	Canada	2004	3 cases	MAPAQ (2004)
<i>E. coli</i> O157 (vtx2, eae)	Farm fresh unpasteurised goat cheese	France	2004	3 cases, 2 HUS	Espié et al. (2006)
<i>E. coli</i> O26, O80 (vtx2, eae)	Raw milk brie	France	2005	6 HUS	INVS (2007)
<i>E. coli</i> O157:H7	Raw milk cheese	Canada	2008–2009	16 cases	Gaulin et al. (2012)
<i>E. coli</i> O157:H7	Aged raw milk gouda cheese	United States	2010	38 cases, 15 hospitalised	McCollum et al. (2012)

Table 2 (continued)

Pathogenic agent	Dairy product made from raw milk	Country	Year	Cases	References
<i>E. coli</i> O157:H7, <i>E. coli</i> O157:NM(H-)	Unpasteurised cheeses	United States	2010	15 cases	CDC (2014)
<i>E. coli</i> O157:H7 and <i>Listeria monocytogenes</i>	Unpasteurised gouda cheese	United States	2010	38 cases, 15 hospitalised, 1 HUS	CDC (2014)
<i>Listeria</i>	Vacherin mont d'or cheese from unpasteurised milk	Switzerland	1983–1987	122 cases, 33 dead	Bille (1989)
<i>Listeria meningitis</i>	Anari raw goat milk soft cheese	England	1988	1 case	Azadian, Finnerty, and Pearson (1989)
<i>Listeria monocytogenes</i> Serovar 4b	Raw milk brie de meauw cheese	France	1995	36 cases, 4 dead, 7 foetal/neonatal cases	Vaillant, Maillot, Charley, and Stainer (1998)
<i>Listeria monocytogenes</i> Serovar 4b	Raw milk livarot, pont-l'évêque cheese	France	1997	14 cases	Jacquet, Saint-Clément, Brouille, Catimel, and Rocourt (1998)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Fresh Mexican-style raw milk cheese	United States	2000–2001	13 cases, 11 pregnant women (5 stillbirths, 3 premature deliveries, 3 infected newborns)	CDC (2001); MacDonald et al. (2005)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2003	12 cases, 12 hospitalised, 1 dead	CDC (2014)
<i>Listeria monocytogenes</i>	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2005	12 cases, 12 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Brucella melitensis</i>	Home-made fresh cottage cheese from unpasteurised milk	Spain	1996	81 cases	Castell Monsalve, Rullán, and CallizoNiet-Sandoval Alcolea (1996)
<i>Brucella</i>	Homemade unpasteurised cheese	United States	2001	4 cases, 0 dead	CDC (2014)
<i>Brucella melitensis</i> serovar 3	Unpasteurised raw goat milk cheese	Spain	2002	11 brucellosis cases	Méndez Martínez et al. (2003)
<i>Brucella</i>	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2005	2 cases, 2 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Brucella</i>	Unpasteurised goat cheese	United States	2006	5 cases, 3 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Brucella</i>	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2007	3 cases, 1 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Brucella abortus</i>	Raw milk cheese	France	2012	1 case (child)	Bronner, Hénaux, Fortané, Hendrikx, and Calavas (2014)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Homemade unpasteurised cheese	United States	2000	18 cases, 0 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Unpasteurised cheese	United States	2003	18 cases, 0 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Homemade unpasteurised cheese	United States	2006	58 cases, 2 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Fresh raw milk cheese	United States	2007	68 cases	CDC (2009)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Unpasteurised queso-fresco cheese	United States	2009	10 cases, 0 hospitalised, 0 dead	CDC (2014)
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxins A and D	Farm raw sheep milk cheese	France	1983	20 cases	De Buyser, Janin, and Dilasser (1985)
<i>Staphylococcus aureus</i> enterotoxins A	Raw sheep milk cheese	Scotland	1984	27 cases	Bone, Bogie, and Morgan-Jone (1989)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Stilton cheese from unpasteurised milk	England	1988	155 cases	Maguire et al. (1991)
Staphylococcal enterotoxin type E	Soft cheese from unpasteurised milk	France	2009	6 outbreaks, 23 cases	Ostyn et al. (2010)
<i>Streptococcus equi</i> , <i>Streptococcus zooepidemicus</i> (group C)	Mexican-style soft raw milk cheese (queso fresco)	United States	1983	16 cases, 5 hospitalised, 3 dead	Altekruse et al. (1998); CDC (1983)
Tick-borne encephalitis virus	Cheese from raw cow and goat milk	Austria	2008	6 cases	Holzmann et al. (2009)

consumption of dairy products made from raw milk and in 2013 one outbreak was reported due to VTEC O157 contamination of unpasteurised cheese (EFSA & ECDC, 2015).

The majority of the outbreaks (22 out of 64) due to the consumption of raw milk cheeses was caused by *Salmonella*, followed by VTEC. Consumption of contaminated soft and semi-soft cheeses is often implicated in outbreaks with VTEC, especially when they are made of unpasteurised cow or goat milk. VTEC O157:H7 is

linked to the majority of the VTEC outbreaks, but also other serotypes have been implicated (Farrokh et al., 2013). *C. jejuni* (in the United States), *L. monocytogenes* and *Brucella* spp. were relatively often linked to raw milk cheese outbreaks, respectively 5, 8 and 7 out of 64 outbreaks. Dairy products made from raw milk can be a transmission route of *Brucella* spp. (EFSA & ECDC, 2014). In Mediterranean countries not officially free from brucellosis, it is assumed that the consumption of raw sheep and goat milk as well

as cheese made from raw sheep and goat milk is the main source of contamination (FASFC, WIV, & CODA, 2011). Magwedere et al. (2011) have shown that raw goat milk, home-made goat cheese and coffee served with raw goat milk, as well as contact with goats can be a source of human cases of brucellosis. Enterotoxin-producing *S. aureus*, *Streptococcus* spp. and the TBEV were also linked to the consumption of raw milk cheeses. Three of the four outbreaks of *S. aureus* occurred more than 20 years ago, and two were caused by cheese made from raw sheep milk. Concerning *Streptococcus*, one outbreak occurred in the United States due to Mexican-style soft raw milk cheese in 1983. In 1997–2008, 64 cases of tick-borne encephalitis in patients that consumed unpasteurised milk and cheese made from sheep milk were reported in the Czech Republic (Kříž, Beneš, & Daniel, 2009).

4. Growth and survival of pathogenic microorganisms during production and storage/ripening of dairy products made from raw milk

The circumstances of production and storage of dairy products made from raw milk determine the behaviour (i.e., growth, survival or inactivation) of the microorganisms that are potentially present in the raw milk. The pathogens can grow, survive or be inactivated. Some of these important influencing factors are summarised as follows for raw milk cheeses. The growth of the fermenting bacteria reduces the growth possibilities of the pathogens by, on the one hand, competition and, on the other hand, a decline of the pH. The effect of starter cultures producing bacteriocins and the addition of potassium or sodium nitrate is especially aimed at inhibiting the growth of butyric acid bacteria. The outgrowth of *L. monocytogenes* could also be influenced due to the presence of bacteriocins (Dal Bello et al., 2012) while the outgrowth of *B. cereus* may be ascribed to potassium or sodium nitrate inhibiting spore germination (Avila, Gómez-Torres, Hernández, & Garde, 2014). The coagulation of the milk followed by sineresis of the curd, concentrates the pathogens in the curd. Some herbs used in the cheeses may have a bacteriostatic effect (Leuschner & Ielsch, 2003).

Salting creates conditions that are not optimal for survival or growth due to the decline of the water activity. Depending on the time, temperature, pH, water activity and NaCl concentration, dry matter content and the competing microbiota, growth or inactivation of the pathogens present in the milk will occur during ripening (Farrokh et al., 2013). Plastic coating used on certain cheeses prevents them from drying out and prevents contamination with pathogens and fungi from the environment. The coating may contain antifungal components such as natamycin. Vacuum packaging and paraffin are physical barriers and the vacuum packaging will inhibit the development of fungi and strict aerobic microorganisms. The presence of internal and external microbiota during ripening provides competition with the pathogens. During the ripening period, the physical and chemical characteristics of the cheese often change which can provide a better survival and even enable growth. During ripening a post-contamination can occur. Especially soft and semi-soft cheeses as well as cheeses with a washed crust such as red smear cheeses, are more exposed to surface contamination (Farrokh et al., 2013). Microorganisms will behave differently on the surface or in the crust due to the different conditions such as the pH.

The results documented in specific studies on the survival, growth and inactivation of pathogens in dairy products made from raw milk are summarised in Table 3. Information was only available for cheeses and butter. Concerning cheese, a distinction was made between hard, semi-hard and soft cheeses based on the classification made in the publications. When this classification was not clear, 'non specified' cheeses are mentioned.

It can be concluded from Table 3 that during the production of hard cheeses, some bacteria can survive, such as *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* and MAP, albeit without subsequent growth. The number of *E. coli* can increase during the cheese production, which is due to a combination of a concentration effect during the formation of the curd as well as due to real growth of the pathogen (Farrokh et al., 2013). In hard cheeses several pathogens can be inactivated during storage. *Salmonella*, *E. coli*, *L. monocytogenes* and MAP may decrease in numbers, but can still be detected after long ripening periods. During the production of semi-hard cheeses, some bacteria can grow, such as *Salmonella*, *E. coli* and *S. aureus*. *L. monocytogenes* and MAP that survive the production process. During the ripening and storage of semi-hard cheeses, most bacteria will decrease in numbers, but *Salmonella*, *E. coli* and *S. aureus* can still be detected. *L. monocytogenes* and MAP can survive the ripening and storage. During the production of soft cheeses, *E. coli*, *L. monocytogenes* and *Brucella* spp. can grow. During the ripening and storage, *E. coli* and *Brucella* spp. can survive, but *L. monocytogenes* can possibly grow in and on soft cheeses, depending on the ripening stage and the circumstances. The growth of *L. monocytogenes* in butter does not occur or is limited (De Reu & Herman, 2004).

5. Identification of main microbiological hazards in dairy products made from raw milk

The information on the possible presence of human pathogenic microorganisms in raw milk, frequencies of occurrence of human pathogenic microorganisms in dairy products made from raw milk in Europe, outbreaks resulting from consumption of dairy products made from raw milk in Europe, the United States and Canada and the worst case scenario of the behaviour in dairy products made from raw milk is summarised in Table 4.

The main microbiological hazards linked to raw milk cheese are *L. monocytogenes*, human pathogenic VTEC, *Salmonella*, enterotoxin-producing *S. aureus* and *Campylobacter*. These pathogens can be present in raw milk and as there is no heat treatment before cheese production, they will not be inactivated. They have all caused a certain number of outbreaks linked to cheese and *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* and VTEC have been detected in cheeses. *Salmonella*, *Campylobacter* and VTEC can cause disease in low numbers (often a few cells) and for *Salmonella* and VTEC there are growth possibilities during production and storage (survival for VTEC during storage). *L. monocytogenes* and *S. aureus* have to grow to cause disease, which is possible as can be seen from Table 4.

Concerning butter, cream and buttermilk, there is less information available in the scientific literature. For butter made from raw milk, the main microbiological hazards are *L. monocytogenes*, VTEC and *S. aureus* because these pathogens have been detected in butter. However, the risk of infection after consumption of raw milk butter is estimated to be relatively lower in comparison with certain cheeses, especially due to the limited growth possibilities of *L. monocytogenes*. For cream made from raw milk, the main microbiological hazards are estimated to be *L. monocytogenes*, *S. aureus* and VTEC because *L. monocytogenes* and *S. aureus* have been detected in cream and VTEC was linked to a cream outbreak. With regard to buttermilk made from raw milk, there is no information available in the scientific literature and the microbiological hazards related to the consumption of this product cannot be identified.

There are some additional risks linked to the consumption of dairy products made from raw milk, especially when they are produced on farms where animals are frequently infected with certain pathogens. This is the case for *Brucella* spp. Cattle can be

Table 3

Behaviour of human pathogenic microorganisms in different types of cheese made from raw milk during production and storage/ripening.

Production	Storage and/or ripening	References
Hard cheese		
Inoculation of 4–6 log cfu mL ⁻¹ of <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> Typhimurium, <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> in milk; 1 d after production: only low numbers of <i>S. aureus</i>	One week after storage at 11–13 °C for 90 d: no detection of any of inoculated pathogens	Bachmann and Spahr (1995)
Inoculation of 4–5 log cfu mL ⁻¹ of <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> (MAP) in cow milk	Steady and slow decrease during ripening at 12 °C for 10 d, 22 °C for 60 d or 12 °C for 50 d; viable cells detected at day 120	Spahr and Schafroth (2001)
One of thirty-five cows shedding 2.3 log cfu mL ⁻¹ of <i>Salmonella</i> Muenster in milk; 11 of 181 vats of curd positive; 2 of 11 vats of cheese positive	One of two vats positive after storage at 5 °C for 125 d	Wood, Collins-Thompson, Irvine, and Muhr (1984)
Inoculation of 2 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> K12 in milk; increase during production	Decrease of 1.5–2 log during storage at 4 °C for 120 d	Amornkul and Henning (2007)
Inoculation of 1–5 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 in milk; increase during production	Storage at 7 °C for 1 wk; decrease of less than 1 log cfu g ⁻¹ at day 60; decrease of less than 2 log cfu g ⁻¹ at day 120	Schlesser et al. (2006)
Inoculation of 1.3 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 in milk; 1.3 log cfu mL ⁻¹ in milk before coagulation, 1.6 log cfu g ⁻¹ in curd after cutting; 1.3 log cfu mL ⁻¹ in whey at draining; 2.4 log cfu g ⁻¹ in curd before salting	Storage at 9 °C; 2.2 log cfu mL ⁻¹ in cheese on day 1; decrease to 1.4 log cfu g ⁻¹ on day 60; below 0.7 log cfu g ⁻¹ after 108 d; Detection after more than 270 d	D'Amico, Druart, and Donnelly (2010)
Inoculation of 1.4 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 in milk; 1.4 log cfu mL ⁻¹ in milk before coagulation, 1.8 log cfu g ⁻¹ in curd after cutting; 0.5 log cfu mL ⁻¹ in whey removed; 0.7 log cfu mL ⁻¹ in whey plus wash water; 2.6 log cfu g ⁻¹ in curd before salting; 3.0 log cfu g ⁻¹ in cheese before brining	Storage at 14 °C for 5 wk, then at 9 °C; 2.2 log cfu mL ⁻¹ in cheese on day 1; decrease to 0.7 log cfu g ⁻¹ on day 60; below 0.7 log cfu g ⁻¹ after 94 d; detection after more than 270 d	D'Amico et al. (2010)
Natural contamination of <i>L. monocytogenes</i> in cheese	Never >1.3 log cfu g ⁻¹ ; no detection after 5 months	Dalmasso and Jordan (2014)
Semi-hard cheese		
Inoculation of 4–6 log cfu mL ⁻¹ of <i>C. jejuni</i> , <i>E. coli</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. Typhimurium</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Y. enterocolitica</i> in milk	After storage at 11–13 °C for 90 d: only <i>L. monocytogenes</i> detected	Bachmann and Spahr (1995)
Inoculation of 4–5 log cfu mL ⁻¹ of MAP in cow milk	Steady and slow decrease during ripening at 14–15 °C for 120 d; viable cells detected at day 120	Spahr and Schafroth (2001)
Inoculation of 1 and 3 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> (5 strains including 3 verocytotoxin-producing <i>Escherichia coli</i> (VTEC))	Increase of 3.5 log cfu g ⁻¹ at day 1 (concentration effect and growth); slow and continuous decrease during ripening; generic <i>E. coli</i> Survived at higher counts; 6 cheeses with low inoculum: >1 log cfu g ⁻¹ at end of ripening; after enrichment: VTEC detection in almost all cheeses	Peng et al. (2013)
Inoculation of 2.4 log cfu mL ⁻¹ <i>S. aureus</i> in milk; 3.3 log cfu mL ⁻¹ in gel of early coagulation; 2.3 log cfu mL ⁻¹ in whey. 4.2 log cfu g ⁻¹ in curd at pressing	3.8 log cfu g ⁻¹ in cheese at day 7; 0 cfu g ⁻¹ in cheese at week 10	Jørgensen et al. (2005)
Inoculation of 4 log cfu g ⁻¹ of <i>L. monocytogenes</i> in sheep milk	Decrease after 6 wk; log reduction at 4 °C: 2.10 at day 91, 3.19 at day 101, presence at day 111, absent at day 114; log reduction at 12 °C: 1.74 at day 77, 2.90 at day 91, presence at day 98, absent at day 104; log reduction at 22 °C: 1.76 at day 54, 2.45 at day 67, 4.02 at day 70, presence at day 74, absent at day 77	Valero et al. (2014)
Soft cheese		
Inoculation of 4 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 and <i>L. monocytogenes</i> ; growth of both pathogens during production	Storage at 2 °C for 75 d; <i>E. coli</i> O157:H7: highest count at day 10, decrease after 10 d, count at day 75 higher than inoculum; <i>L. monocytogenes</i> : survival, count at day 75 higher than inoculum	Ramsaran, Chen, Brunke, Hill, and Griffiths (1998)
Inoculation of 4 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 and <i>L. monocytogenes</i> ; growth of both pathogens during production	Storage at 2 °C for 65 d; <i>E. coli</i> O157:H7: highest count after 24 h, decrease after 24 h, count at day 65 higher than inoculum; <i>L. monocytogenes</i> : survival, count at day 65 higher than inoculum	Ramsaran et al. (1998)
Inoculation of 3 log cfu mL ⁻¹ of VTEC; increase of 1–2 log cfu g ⁻¹ during production; stabilisation during salting/drying	Storage at 4 °C; decrease during early stages of ripening	Montet et al. (2009)
Inoculation of 3.6 log cfu mL ⁻¹ of <i>Brucella abortus</i> in milk; 4.2 log cfu g ⁻¹ in curd; 4.3 log cfu g ⁻¹ in curd out of mould	Storage at 12 °C; 3.0 log cfu g ⁻¹ in cheese at day 5, 1.5 log cfu g ⁻¹ in cheese at day 8, 1.3 log cfu g ⁻¹ in cheese at day 12, 1.1 log cfu g ⁻¹ in cheese at day 15, 0.4 log cfu g ⁻¹ in cheese at day 18, 0 cfu g ⁻¹ in cheese at day 22	Plommet et al. (1988)
Inoculation of –0.7 and 0.3 log cfu cm ⁻² of <i>L. monocytogenes</i>	Storage at 4 °C; increase after day 28; increase to 2.96 log cfu g ⁻¹ at day 60 (low inoculum); increase to 4.55 log cfu g ⁻¹ at day 60 (high inoculum)	D'Amico et al. (2008)
Natural contamination of 3.8 log cfu mL ⁻¹ of <i>L. monocytogenes</i> in sheep milk	2.3–2.8 log cfu g ⁻¹ 7 d after storage at 4 °C for 7 d	Schoder, Winter, Kareem, Baumgartner, and Wagner (2003)
Mozzarella		
Inoculation of 5 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 in cow milk; curd stretching at 80 °C for 5 min: loss of viability; curd stretching at 70 °C for 5 min: 1 log reduction	Storage at 4 °C for 7 d; no detection	Spano et al. (2003)
Inoculation of 7.1–8.7 log cfu g ⁻¹ of VTEC O157 and O26 of curd; 4D reduction during heating curd		Trevisani, Mancusi, and Valero (2014)

(continued on next page)

Table 3 (continued)

Production	Storage and/or ripening	References
Non specified cheese		
Inoculation of <i>E. coli</i> O157:H7, O26:H11, O103:H2 and O145:H28 in cow, goat or sheep milk; during first 24 h of production: growth of 2–3 log cfu g ⁻¹ , no growth when acid coagulation	Decrease during 6 months of ripening; detectable at end of storage/ripening	Miszczucha et al. (2013)
Inoculation of <i>E. coli</i> O157:H7 and O26:H11 in cow milk; during first 24 h of production: growth from 2 to 4 log cfu g ⁻¹	Stable around 4 log cfu g ⁻¹ during ripening and storage	Miszczucha et al. (2014)
Inoculation of 1.52 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> O157:H7 in milk	Storage at 6 °C; increase to 3.4 log cfu g ⁻¹ at day 1; decrease during ripening to <0 cfu g ⁻¹ in rind at day 21; decrease during ripening to <1 log cfu g ⁻¹ in core at day 21; detection of viable cells at day 90	Maher, Jordan, Upton, and Coffey (2001)
Inoculation of 3.56 log cfu g ⁻¹ dry weight of <i>L. monocytogenes</i> in cow milk; no growth during production	Storage at 13 °C for 14 d and at 8 °C for 14 d; increase of 2 log cfu g ⁻¹ dry weight during first 4 d of ripening; survival/decrease until end of ripening	Schwartzman et al. (2011)
Inoculation of 6 log cfu mL ⁻¹ of <i>E. coli</i> , <i>Listeria innocua</i> and <i>S. aureus</i> in milk; during production; increase of <i>E. coli</i> , survival of <i>L. innocua</i> and <i>S. aureus</i>	Storage at 8 °C for 56 d; <i>E. coli</i> highest count at day 7, decrease after day 7; <i>Listeria innocua</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> no growth	Masoud et al. (2012)
Average counts of <i>S. aureus</i> : 1.26 log cfu mL ⁻¹ in cow/goat milk, 2.80 log cfu mL ⁻¹ in curd	Average counts of <i>S. aureus</i> : 3.50 log cfu g ⁻¹ in cheese (5–6 h), 3.13 log cfu mL ⁻¹ in cheese (24 h), 1.04 log cfu g ⁻¹ in cheese (30 d)	Jakobsen et al. (2011)
Inoculation of 9.7 log cfu g ⁻¹ of <i>Brucella melitensis</i> in goat milk; decrease during production; 6.3 log cfu mL ⁻¹ in whey at curd cutting; 6 log cfu mL ⁻¹ at draining	3.0 log cfu mL ⁻¹ during storage at 4 °C for 13–30 d; 4 log cfu mL ⁻¹ during storage at 24 °C for 6–15 d; no detection during storage at 24 °C for days 16–30	Méndez-González et al. (2011)
Butter		
Inoculation of <i>L. monocytogenes</i> and <i>L. innocua</i> in cream	No significant growth during storage at 4, 10 or 20 °C for 4 wk	De Reu and Herman (2004)
Natural contamination of –0.6 to 1.2 log cfu g ⁻¹ of <i>L. monocytogenes</i>	One log reduction during storage at 4 or 10 °C for 4 or 5 wk	De Reu and Herman (2004)

infected with *Brucella abortus* and sheep can be infected with *Brucella melitensis* in certain areas of Southern Europe. The same holds for *M. bovis* in regions where this pathogen is endemic, for example among cattle. Goats can be parasitised by the tick *Ixodes ricinus* that often carry the TBEV. The infection of goats is asymptomatic and the TBEV can enter the bloodstream through the tick followed by an excretion in the milk during the viraemic phase. In risk areas in Eastern Europe the TBEV can be endemic and therefore this is also an important microbiological hazard linked to dairy products made from raw milk.

For some microorganisms, the foodborne potential is not known or limited documentation is available. Cattle, goats and sheep are

the main reservoirs of *C. burnetii* (Rahimi, Doosti, Ameri, Kabiri, & Sharifian, 2008). In general, people get infected by inhalation of contaminated dust and aerosols mainly formed during birth of animals, via manure or via contact with infected animals (Sci Com, 2010a, 2010b). Infection via the food chain occurs less frequently (Berri et al., 2005). Infectious *C. burnetii* can persist for long periods in milk and milk products. From scientific literature, it appears that dairy products made from unpasteurised milk may contain viable *C. burnetii*. Concerning MAP, the information in the scientific literature is limited and up to now, there is uncertainty whether this bacterium is zoonotic or to be considered as a human foodborne pathogen. Nevertheless, MAP and *C. burnetii* could be considered as

Table 4
Summary of information on microbiological hazards.

Organism	Possibly present in raw milk	Detected in dairy products made from raw milk (minimum – maximum frequency of occurrence in %) in Europe	Reported human cases and outbreaks in Europe, the US and Canada due to cheese consumption	Worst case behaviour in raw milk cheese		Score according to EFSA (2013)
				Production	Storage/ripening	
<i>Listeria monocytogenes</i>	Yes	0.0–41.9 (cheese, butter, cream)	8	Growth survival ^b	Growth survival ^b	2
<i>Escherichia coli</i> (human pathogenic)	Yes	0.0–55.3 (cheese)	18 ^a	Growth	Survival	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	Yes	0.0–100.0 (cheese, butter)	4	Growth	Growth	1
<i>Salmonella</i>	Yes	0.0–4.3 (cheese)	22	Growth	Growth	3
<i>Campylobacter</i>	Yes	0.0 (cheese)	5	No survival	No survival	3
<i>Brucella</i>	Yes	— ^c	7	Growth	Survival	3
<i>Bacillus cereus</i>	Yes	0.0–28.0 (cheese)	0	—	—	1
<i>Mycobacterium bovis</i>	Yes	—	0	—	—	3
Tick-borne encephalitis virus	Yes	—	1	—	—	3
<i>Coxiella burnetii</i>	Yes	0.0–57.0 (cheese, cream)	0	—	—	— ^d
<i>Streptococcus</i>	Yes	—	1	—	—	3 ^e
<i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i>	Yes	0.0–20.0 (cheese)	0	Survival	Survival	— ^f

^a One due to cream consumption.

^b In butter.

^c A dash (—) indicates no information was available unless otherwise indicated.

^d Foodborne potential not known.

^e Pathogenic species not frequent.

^f Zoonotic potential not known.

a potential microbiological hazard present in dairy products made from raw milk.

6. Discussion

The contamination levels of several pathogens such as *L. monocytogenes* and *S. aureus* usually encountered in raw milk are mostly lower than the level they have to reach to cause disease. It is assumed (based on the authors' expert opinion) that numbers of *L. monocytogenes* in raw cow milk are usually lower or at the level of ca. 1 log cfu mL⁻¹. In the case of a subclinical mastitis of the milk producing animal, high initial numbers of *L. monocytogenes* or *S. aureus* could be encountered in the raw milk (Pintado et al., 2009; Sahebkhietari et al., 2011). Although this is rare and such milk is diluted in the normal industrial milk supply, it may occur, e.g., in a short supply chain. For low initial numbers of these pathogens that have to grow to produce disease, the growth possibilities during cheese production and storage will influence the risk of infection. When present in the raw milk, the growth of most pathogens is restricted by storage at refrigerator temperatures although, depending on the storage time and temperature, some pathogens such as *L. monocytogenes* could develop.

From the scientific literature, it seems that prevalences or concentrations of certain pathogens such as VTEC, *L. monocytogenes*, *S. aureus* and *C. burnetii* are mostly lower in dairy products made from pasteurised or heat treated milk than in dairy products made from raw milk (Civera et al., 2007; Eldin et al., 2013; Fach, Perelle, Dilasser, & Grout, 2001; Greenwood, Roberts, & Burden, 1991; Loncarevic, Danielsson-Tham, & Tham, 1995; Rosengren, Fabricius, Guss, Sylvén, & Lindqvist, 2010). Concerning outbreaks, it seems that cheese outbreaks are more linked to cheese made from unpasteurised milk than from cheese made from pasteurised milk (Altekruse, Timbo, Mowbray, Bean, & Potter, 1998; De Buyser, Dufour, Maire, & Lafarge, 2001; Gould, Mungai, & Behraves, 2014). Moreover, the study of Gould et al. (2014) showed that raw milk cheese outbreaks were mostly related to contamination of the raw product or the ingredients by pathogens from animals or the environment, whereas pasteurised cheese outbreaks were more related to health and hygiene of the workers in contact with the cheese.

Regarding the behaviour of the pathogens during production and storage of cheese, there are differences depending on the use of raw milk or pasteurised milk. For example, *L. monocytogenes* showed in an inoculation experiment growth during the cheese production process when made from pasteurised milk whereas no growth was observed when made from raw milk, most probably due to the presence of background flora. However, during cheese ripening, growth of this pathogen occurred in raw milk cheese, but inactivation occurred in pasteurised cheese due to the physicochemical conditions of the cheeses (Schvartzman et al., 2011). Another study found no difference in the growth potential of *L. monocytogenes* inoculated on the surface of cheeses made from raw or pasteurised milk during storage (D'Amico, Druart, & Donnelly, 2008). In addition, the natural microbiota can influence the behaviour of pathogens in cheese. Delcenserie et al. (2014) found that cheese made from raw and pasteurised milk had different microbiota in the crust of the cheeses. Overall, pasteurisation ensures the inactivation of vegetative pathogenic microorganisms, which increases the safety of products made thereof in comparison with dairy products made from raw milk. However, it should be noted that dairy products made from pasteurised milk could be susceptible to post-contamination. Therefore, application of a good Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) system during production is essential.

To limit the exposure to pathogens due to consumption of dairy products made from raw milk several control measures can be taken from farm to fork. At farm level, the pathogenic microorganisms that contaminate the raw milk can come from the milk-producing animal or from the environment. Mastitis or udder infection is the most common disease in cattle (Halasa, Huijps, Osteras, & Hogeveen, 2007). The intramammary infection is mostly caused by bacteria that penetrate the udder through the teat canal. In the holistic approach of prevention and control of mastitis, it is of utmost importance to keep the infection pressure in the stable as low as possible by means of good hygiene management and optimal comfort of the cows to obtain a good udder health and optimal milk quality (Barkema et al., 1998; Elbers et al., 1998; van Gastelen, Westerlaan, Houwers, & van Eerdenburg, 2011; Schukken, Grommers, Vandegheer, Erb, & Brand, 1990). However, contamination of the milk during milking cannot completely be avoided, not even with elaborate cleaning and disinfection (Magnusson, Christiansson, Svensson, & Kolstrup, 2006). Between the milking and the processing of dairy products, time should be restricted and temperatures kept as low as possible to prevent the pathogens that are possibly present from growing. During milk processing, a quick fermentation with efficient starter cultures should be applied to restrict the growth of the pathogens. After the production of cheese, a restriction of the shelf life and adherence to the cold chain from retail to consumer is important to ensure the safety of such products. The control of the procedures of cleaning and disinfection of the material that is used during the production process is also important from the milking to the sales of the products. Finally, both producers and consumers, in particular persons belonging to the YOPI group, should be aware of the risks pertaining to dairy products made from raw milk.

There are some limitations linked to the analysis of the information collected in this work. The frequencies of occurrence of pathogenic microorganisms in dairy products made from raw milk originate from ad hoc convenience sampling and the modalities conditions of the sampling plan (number of samples taken, method of analysis and corresponding limit of detection) as well as the method of analysis and detection limit may vary among these surveys and consequently it was not always easy to compare the outcome of these publications. Also, it is not known if the detected pathogens are able to cause disease. In particular, in the case of the detection of potential pathogenic *E. coli* serotypes, it is not known if all positive results actually refer to *E. coli* strains that carry virulence genes. Concerning the outbreaks due to the consumption of dairy products made from raw milk, only reported outbreaks were included. There can be underreporting due to, e.g., a long incubation period. Regarding the behaviour of the pathogens during the production process and the storage or ripening period of dairy products made from raw milk, it is evident that there is a variety of cheeses with their proper production process, intrinsic physicochemical characteristics, indigenous microbiota and actual storage conditions, which will impact on the growth potential of the pathogens.

7. Conclusion

Overall, the available information on some pathogens or dairy products made from raw milk is limited, but if everything is taken into consideration the microbiological hazards and dairy products made from raw milk of main concern are linked to raw milk cheeses and *L. monocytogenes*, pathogenic VTEC, enterotoxin-producing *S. aureus*, *Salmonella* and *C. jejuni/coli*. Next, *L. monocytogenes*, VTEC and *S. aureus* have been identified as microbiological hazards in raw milk butter and cream, albeit to a lesser extent because of a reduced growth potential of these pathogens in the latter products

compared with cheese. In endemic areas, dairy products made from raw milk may also be contaminated with *Brucella* spp., *M. bovis* or the tick-borne encephalitis virus and need particular attention in monitoring and surveillance. Finally, *C. burnetii* and MAP are identified as potential hazards. For *C. burnetii* the role of food (dairy products made from raw milk) seems to be limited and for MAP no sufficient knowledge is available.

Due to the possible exposure of the consumer to the above mentioned pathogenic microorganisms in dairy products made from raw milk, appropriate risk communication on the consumption of these products in particular to a vulnerable population, is recommended.

Acknowledgements

The authors wish to thank the Scientific Committee of the Belgian Federal Agency for the Safety of the Food Chain (FASFC) for their scientific support.

References

- Almeida, G., Figueiredo, A., Rôla, M., Barros, R. M., Gibbs, P., Hogg, T., et al. (2007). Microbiological characterization of randomly selected Portuguese raw milk cheeses with reference to food safety. *Journal of Food Protection*, 70, 1710–1716.
- Altekruse, S. F., Timbo, B. B., Mowbray, J. C., Bean, N. H., & Potter, M. E. (1998). Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: sanitary manufacturing practices protect consumers. *Journal of Food Protection*, 61, 1405–1407.
- Ammon, A. (1997). Surveillance of enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC) infections and haemolytic uraemic syndrome (HUS) in Europe. *Eurosurveillance*, 2, 91–95.
- Amornkul, Y., & Henning, D. R. (2007). Utilization of microfiltration or lactoperoxidase system or both for manufacture of Cheddar cheese from raw milk. *Journal of Dairy Science*, 90, 4988–5000.
- Anonymous. (1986). Epidémie de salmonellose due à un fromage à pâte molle. *Bulletin de l'Office Fédéral de la Santé Publique*, 8, 48–49.
- Arrese, E., & Arroyo-Izaga, M. (2012). Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Idiazabal cheese. *Nutrición Hospitalaria*, 27, 2139–2141.
- Auvray, F., Lecureuil, C., Dilasser, F., Taché, J., & Derzelle, S. (2009). Development of a real-time PCR assay with an internal amplification control for the screening of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food. *Letters in Applied Microbiology*, 48, 554–559.
- Avila, M., Gómez-Torres, N., Hernández, M., & Garde, S. (2014). Inhibitory activity of reuterin, nisin, lysozyme and nitrate against vegetative cells and spores of dairy-related *Clostridium* species. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 70–75.
- Azadian, B. S., Finnerty, G. T., & Pearson, A. D. (1989). Cheese-borne *Listeria meningitis* in immunocompetent patient. *Lancet*, 333, 322–323.
- Bachmann, H. P., & Spahr, U. (1995). The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semihard cheeses made from raw milk. *Journal of Dairy Science*, 78, 476–483.
- Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Beiboer, M. L., Benedictus, G., & Brand, A. (1998). Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *Journal of Dairy Science*, 81, 1917–1927.
- Berri, M., Rousset, E., Hechard, C., Champion, J. L., Dufour, P., Russo, P., et al. (2005). Progression of Q fever and *Coxiella burnetii* shedding in milk after an outbreak of enzootic abortion in a goat herd. *Veterinary Record*, 156, 548–549.
- Bille, J. (1989). Anatomy of a foodborne listeriosis outbreak. In *Proceedings of symposium on foodborne listeriosis*, 7 September 1988, Wiesbaden, FRG (pp. 29–36). Hamburg, Germany: Behr's Verlag.
- Bockemühl, J., & Karch, H. (1996). Zur aktuellen Bedeutung der enterohämorrhagischen *Escherichia coli* (EHEC) in Deutschland (1994–1995). *Bundesgesundheitsblatt*, 39, 290–296.
- Bone, F. J., Bogie, D., & Morgan-Jones, S. C. (1989). Staphylococcal food poisoning from sheep milk cheese. *Epidemiology and Infection*, 103, 449–458.
- Bronner, A., Hénaux, V., Fortané, N., Hendriks, P., & Calavas, D. (2014). Why do farmers and veterinarians not report all bovine abortions, as requested by the clinical brucellosis surveillance system in France? *BMC Veterinary Research*, 10, 93.
- Caro, I., & García-Armesto, M. R. (2007). Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a Spanish raw ewe's milk cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 116, 410–413.
- Casenave, C., Desenclos, J. C., Maillot, E., Benoit, S., Deschenes, G., Nivet, H., et al. (1993). Elosions de syndrome hémolytique et urémique dans une commune rurale du Cher. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire*, 48, 222–224.
- Castell Monsalve, J., Rullán, J. V., Peiró Callizo, E. F., & Niet-Sandoval Alcolea, A. (1996). Epidemic outbreak of 81 cases of brucellosis following the consumption of fresh cheese without pasteurization. *Revista Española de Salud Pública*, 70, 303–311.
- van Cauteren, D., Jourdan-da Silva, N., Weill, F. X., King, L., Brisabois, A., Delmas, G., et al. (2009). Outbreak of *Salmonella enterica* serotype Muenster infections associated with goat's cheese, France, March 2008. *Eurosurveillance*, 14, Article 8.
- CDC. (1983). Group C streptococcal infections associated with eating homemade cheese – New Mexico. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 32(510), 515–516.
- CDC. (2000). Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with eating fresh cheese curds – Wisconsin, June 1998. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 49, 911–913.
- CDC. (2001). Outbreak of listeriosis associated with homemade Mexican-style cheese – North Carolina, October 2000–January 2001. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 50, 560–562.
- CDC. (2007). *Salmonella* Typhimurium infection associated with raw milk and cheese consumption – Pennsylvania, 2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56, 1161–1164.
- CDC. (2008). Outbreak of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Newport infections associated with consumption of unpasteurized Mexican-style aged cheese – Illinois, March 2006–April 2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 57, 432–435.
- CDC. (2009). *Campylobacter jejuni* infection associated with unpasteurized milk and cheese – Kansas, 2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 57, 1377–1379.
- CDC. (2014). Foodborne Outbreak Online Database (FOOD). Available online <http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/>. Last accessed 07.07.14.
- CDSC. (1998a). Cases of *Escherichia coli* O157 infection associated with unpasteurized cream in England. *Eurosurveillance*, 2, Article 3.
- CDSC. (1998b). *Escherichia coli* O157 in Somerset. Communicable disease report. *CDR Weekly*, 8, 167.
- Civera, T., Decastelli, L., Martorana, M., Dalmasso, A., Nucera, D., & Bottero, M. T. (2007). Survey on the presence of enterovirulent *Escherichia coli*, including *E. coli* O157, in cheese manufactured in the Italian Alpine Region. *Italian Journal of Food Science*, 19, 229–238.
- Claeys, W. L., Cardoen, S., Daube, G., De Block, J., Dewettinck, K., Dierick, K., et al. (2013). Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. *Food Control*, 31, 251–262.
- Claeys, W. L., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., et al. (2014). Consumption of raw or heated milk from different species: an evaluation of the nutritional and potential health benefits. *Food Control*, 42, 188–201.
- Cody, S. H., Abbott, S. L., Marfin, A. A., Schulz, B., Wagner, P., Robbins, K., et al. (1999). Two outbreaks of multidrug-resistant *Salmonella* serotype Typhimurium DT104 infections linked to raw-milk cheese in Northern California. *Journal of the American Medical Association*, 281, 1805–1810.
- Coia, J. E., Johnston, Y., Steers, N. J., & Hanson, M. F. (2001). A survey of the prevalence of *Escherichia coli* O157 in raw meats, raw cow's milk and raw-milk cheeses in south-east Scotland. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 63–69.
- Conedera, G., Dalbit, P., Martini, M., Galiero, G., Gramaglia, M., Goffredo, E., et al. (2004). Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157 in minced beef and dairy products in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 96, 67–73.
- Coveney, H. M., Fitzgerald, G. F., & Daly, C. (1994). A study of the microbiological status of Irish farmhouse cheeses with emphasis on selected pathogenic and spoilage micro-organisms. *Journal of Applied Bacteriology*, 77, 621–630.
- Cremonesi, P., Perez, G., Pisoni, G., Moroni, P., Morandi, S., Luzzana, M., et al. (2007). Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 45, 586–591.
- Curnow, J. (1999). *Escherichia coli* O157 outbreak in Scotland linked to unpasteurized goat's milk. *Eurosurveillance*, 3, Article 1387.
- Dal Bello, B., Cocolin, L., Zeppa, G., Field, D., Cotter, P. D., & Hill, C. (2012). Technological characterization of bacteriocin producing *Lactococcus lactis* strains employed to control *Listeria monocytogenes* in cottage cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 58–65.
- Dalmasso, M., & Jordan, K. (2014). Absence of growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 81, 46–53.
- D'Amico, D. J., Druart, M. J., & Donnelly, C. W. (2008). 60-Day aging requirement does not ensure safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a postprocessing contaminant. *Journal of Food Protection*, 71, 1563–1571.
- D'Amico, D. J., Druart, M. J., & Donnelly, C. W. (2010). Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and aging of Gouda and stirred-curd Cheddar cheeses manufactured from raw milk. *Journal of Food Protection*, 73, 2217–2224.
- D'Aoust, J. Y., Warburton, D. W., & Sewell, A. M. (1985). *Salmonella* Typhimurium phage-type 10 from Cheddar cheese in a major Canadian foodborne outbreak. *Journal of Food Protection*, 48, 1062–1066.
- Da Silva, F. M. T., Hald, T., Liebana, E., Allende, A., Hugas, M., Nguyen-The, C., et al. (2015). Risk ranking of pathogens in ready-to-eat unprocessed foods of non-animal origin (FoNAO) in the EU: initial evaluation using outbreak data (2007–2011). *International Journal of Food Microbiology*, 195, 9–19.
- De Buyser, M.-L., Dufour, B., Maire, M., & Lafarge, V. (2001). Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *International Journal of Food Microbiology*, 67, 1–17.
- De Buyser, M.-L., Janin, F., & Dilasser, F. (1985). Contamination of ewe cheese with *Staphylococcus aureus*: study of an outbreak of food poisoning. *Zentralblatt für Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene*, 14, 677.
- Decludt, B. (1995). *Cas groupés de syndromes hémolytiques et urémiques dans le département de l'Ardeche en 1994*. Saint-Maurice, France: Institut de Veille Sanitaire.

- De Reu, K., Debeuckelaere, W., Botteldoorn, N., De Block, J., & Herman, L. (2002). Hygienic parameters, toxins and pathogen occurrence in raw milk cheeses. *Journal of Food Safety*, 22, 183–196.
- De Reu, K., Grijspeerd, K., & Herman, L. (2004). A Belgian survey of hygiene indicator bacteria and pathogenic bacteria in raw milk and direct marketing of raw milk farm products. *Journal of Food Safety*, 24, 17–36.
- De Reu, K., & Herman, L. (2004). *Rapport 2003–2004 'Aanwezigheid en overleving van Listeria monocytogenes in rauwmelkse hoeveboten'*. Source: ILVO-T&V.
- De Reu, K., Herman, L., De Boosere, I., & De Ville, W. (2006). *Rapport 2006 'Aanwezigheid en aantallen van Listeria monocytogenes in Belgische hoeveboten'*. *Rapport Listeria in hoeveboten*. Source: ILVO-T&V.
- De Reu, K., Herman, L., De Boosere, I., & De Ville, W. (2007). *Rapport 2007 'Aanwezigheid en aantallen van Listeria monocytogenes in Belgische hoeveboten'*. *Rapport Listeria in hoeveboten*. Source: ILVO-T&V.
- De Reu, K., Herman, L., & De Ville, W. (2008). *Rapport 2008 'Aanwezigheid en aantallen van Listeria monocytogenes in Belgische hoeveboten'*. *Rapport Listeria in hoeveboten*. Source: ILVO-T&V.
- De Valk, H., Delarocque-Astagneau, E., Colomb, G., Ple, S., Godard, E., Vaillant, V., et al. (2000). A community-wide outbreak of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection associated with eating a raw milk soft cheese in France. *Epidemiology and Infection*, 124, 1–7.
- Delcenserie, V., Taminiau, B., Delhalle, L., Nezer, C., Doyen, P., Crevecoeur, S., et al. (2014). Microbiota characterization of a Belgian protected designation of origin cheese, Herve cheese, using metagenomic analysis. *Journal of Dairy Science*, 97, 1–11.
- Desenclos, J.-C., Bouvet, P., Benz-Lemoine, E., Grimont, F., Desqueyroux, H., Rebière, I., et al. (1996). Large outbreak of *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B infection caused by a goats' milk cheese, France, 1993: a case finding and epidemiological study. *British Medical Journal*, 312, 91–94.
- EFSA. (2013a). Scientific opinion on the risk posed by pathogens in food of non-animal origin. Part 1 (outbreak data analysis and risk ranking of food/pathogen combinations). *EFSA Journal*, 11, 3025.
- EFSA. (2013b). Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Listeria monocytogenes* in certain ready-to-eat foods in the EU, 2010–2011 part A: *Listeria monocytogenes* prevalence estimates. *EFSA Journal*, 11, 3241.
- EFSA. (2015). Scientific opinion on the public health risks related to the consumption of raw drinking milk. *EFSA Journal*, 13, 3940.
- EFSA, & ECDC. (2014). The European summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2012. *EFSA Journal*, 12, 3547.
- EFSA, & ECDC. (2015). The European summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2013. *EFSA Journal*, 12, 3547.
- Elbers, A. R. W., Miltenburg, J. D., De Lange, D., Crauwels, A. P. P., Barkema, H. W., & Schukken, Y. H. (1998). Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of the Netherlands. *Journal of Dairy Science*, 81, 420–426.
- Eldin, C., Angelakis, E., Renvoisé, A., & Raoult, D. (2013). *Coxiella burnetii* DNA, but not viable bacteria, in dairy products in France. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 88, 765–769.
- Ellis, A., Preston, M., Borczyk, A., Miller, B., Stone, P., Hatton, B., et al. (1998). A community outbreak of *Salmonella berta* associated with a soft cheese product. *Epidemiology and Infection*, 120, 29–35.
- Espié, E., Vaillant, V., Mariani-Kurkdjian, P., Grimont, F., Martin-Schaller, R., de Valk, H., et al. (2006). *Escherichia coli* O157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. *Epidemiology and Infection*, 134, 143–146.
- Fach, P., Perelle, S., Dilasser, F., & Groult, J. (2001). Comparison between a PCR-ELISA test and the vero cell assay for detecting Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy products and characterization of virulence traits of the isolated strains. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 809–818.
- Farrokh, C., Jordan, K., Auvray, F., Glass, K., Oppegaard, H., Raynaud, S., et al. (2013). Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology*, 162, 190–212.
- FASFC, WIV, & CODA. (2011). Working group on foodborne infections and intoxications. Available online <http://www.coda-cerva.be/images/pdf/trends%20and%20sources%202010-2011.pdf>. Last accessed 13.10.14.
- Frece, J., Markov, K., Čvek, D., Kolarec, K., & Delaš, F. (2010). Comparison of conventional and molecular methods for the routine confirmation of *Listeria monocytogenes* in milk products produced domestically in Croatia. *Journal of Dairy Research*, 77, 112–116.
- van Gastelen, S., Westerlaan, B., Houwers, D. J., & van Eerdenburg, F. J. C. M. (2011). A study on cow comfort and risk for lameness and mastitis in relation to different types of bedding materials. *Journal of Dairy Science*, 94, 4878–4888.
- Gaulin, C., Levac, E., Ramsay, D., Dion, R., Ismaïl, J., Gingras, S., et al. (2012). *Escherichia coli* O157:H7 outbreak linked to raw milk cheese in Quebec, Canada: use of exact probability calculation and case-case study approaches to food-borne outbreak investigation. *Journal of Food Protection*, 75, 812–818.
- Gould, L. H., Mungai, E., & Behravesh, C. B. (2014). Outbreaks attributed to cheese: differences between outbreaks caused by unpasteurized and pasteurized dairy products, United States, 1998–2011. *Foodborne Pathogens and Disease*, 11, 545–551.
- Greenwood, M. H., Roberts, D., & Burden, P. (1991). The occurrence of *Listeria* species in milk and dairy products: a national survey in England and Wales. *International Journal of Food Microbiology*, 12, 197–206.
- Grimont, P. A. D., & Bouvet, P. (1991). Les salmonelles et les shigelles en 1990 en France. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 15, 102.
- Haeghebaert, S., Sulem, P., Derouille, L., Vannero-Adenot, E., Bagnis, O., Bouvet, P., et al. (2003). Two outbreaks of *Salmonella* Enteritidis phage type 8 linked to the consumption of Cantal cheese made with raw milk, France, 2001. *Euro-surveillance*, 8, Article 1.
- Hahn, G., Walte, H. G., Coenen, C., & Teufel, P. (1999a). Direktvermarktung von Produkten aus Rohmilch: Befunde und Risikoerörterung. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 51, 333–342.
- Hahn, G., Walte, H. G., Coenen, C., & Teufel, P. (1999b). Direktvermarktung von Rohmilch: Befunde und Risikoerörterung. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 51, 105–115.
- Halasa, T., Huijps, K., Osteras, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Veterinary Quarterly*, 29, 18–31.
- Holzmann, H., Aberle, S. W., Stiasny, K., Werner, P., Mischak, A., Zainer, B., et al. (2009). Tick-borne encephalitis from eating goat cheese in a mountain region of Austria. *Emerging Infectious Diseases*, 15, 1671–1673.
- Honish, L., Predy, G., Hislop, N., Chui, L., Kowalewska-Grochowska, K., Trottier, L., et al. (2005). An outbreak of *E. coli* O157:H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized Gouda cheese. *Revue Canadienne de Santé Publique*, 96, 182–184.
- Huchot, B., Bohnert, M., Cerf, O., Farrokh, C., & Lahellec, C. (1993). Does cheese made of raw milk represent a public health problem? A review of international epidemiological data. *International Dairy Federation*, 48, F-doc 223 supplement.
- Infuso, A., Vaillant, V., & Desenclos, J. C. (1997). *Épidémie de salmonellose à Salmonella enterica sérotype Dublin, France, Novembre–December 1996*. Saint-Maurice, France: Institut de Veille Sanitaire.
- INVS. (2007). Épidémie d'infections à *E. coli* producteurs de Shiga-toxines non O157 liée à la consommation de Camembert au lait cru, nord-ouest de la France, octobre–décembre 2005. Available online http://www.invs.sante.fr/publications/2008/epidemie_e_coli_camembert/rapport_epidemie_stec.pdf. Last accessed 07.07.14.
- Jacquet, C., Saint-Clement, C., Brouille, F., Catimel, B., & Rocourt, J. (1998). La listeriose humaine en France en 1997, données du Centre National de Référence des *Listeria*. *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire*, 33, 142–143.
- Jakobsen, R. A., Heggebo, R., Sunde, E. B., & Skjervheim, M. (2011). *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *Food Microbiology*, 28, 492–496.
- Jørgensen, H. J., Mørk, T., & Rørvik, L. M. (2005). The occurrence of *Staphylococcus aureus* on a farm with small-scale production of raw milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 88, 3810–3817.
- Kongo, J. M., Malcata, F. X., Ho, A. J., & Wiedmann, M. (2006). Detection and characterization of *Listeria monocytogenes* in São Jorge (Portugal) cheese production. *Journal of Dairy Science*, 89, 4456–4461.
- Kríz, B., Benes, C., & Daniel, M. (2009). Alimentary transmission of tick-borne encephalitis in the Czech Republic (1997–2008). *Epidemiologie, Mikrobiologie, Immunologie*, 58, 98–103.
- Leuschner, R. G. K., & Ielsch, V. (2003). Antimicrobial effects of garlic, clove and red hot chili on *Listeria monocytogenes* in broth model systems and soft cheese. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 54, 127–133.
- Loncarevic, S., Danielsson-Tham, M. L., & Tham, W. (1995). Occurrence of *Listeria monocytogenes* in soft and semi-soft cheeses in retail outlets in Sweden. *International Journal of Food Microbiology*, 26, 245–250.
- MacDonald, P. D. M., Whitwam, R. E., Boggs, J. D., MacCormack, J. N., Anderson, K. L., Reardon, J. W., et al. (2005). Outbreak of listeriosis among Mexican immigrants as a result of consumption of illicitly produced Mexican-style cheese. *Clinical Infectious Diseases*, 40, 677–682.
- Madic, J., Vingaassalon, N., Peytavin de Garam, C., Marault, M., Scheutz, F., Brugère, H., et al. (2011). Detection of Shiga toxin-product in *Escherichia coli* serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28, and O157:H7 in raw-milk cheeses by using multiplex real-time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 77, 2035–2041.
- Magnusson, M., Christiansson, A., Svensson, B., & Kolstrup, C. (2006). Effect of different premilking manual teat-cleaning methods on bacterial spores in milk. *Journal of Dairy Science*, 89, 3866–3875.
- Maguire, H. C. F., Boyle, M., Lewis, M. J., Pankhurst, J., Wieneke, A. A., Jacob, M., et al. (1991). A large outbreak of food poisoning of unknown aetiology associated with Stilton cheese. *Epidemiology and Infection*, 109, 497–505.
- Maguire, H., Cowden, J., Jacob, M., Rowe, B., Roberts, D., Bruce, J., et al. (1992). An outbreak of *Salmonella dublin* infection in England and Wales associated with a soft unpasteurized cow's milk cheese. *Epidemiology and Infection*, 109, 389–396.
- Magwedere, K., Bishi, A., Tjipura-Zaire, G., Eberle, G., Hemberger, Y., Hoffman, L. C., et al. (2011). Brucellae through the food chain: the role of sheep, goats and springbok (*Antidorcas marsupialis*) as sources of human infections in Namibia. *Journal of the South African Veterinary Association*, 82, 205–212.
- Maher, M. M., Jordan, K. N., Upton, M. E., & Coffey, A. (2001). Growth and survival of *E. coli* O157:H7 during the manufacture and ripening of a smear-ripened cheese produced from raw milk. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 201–207.
- MAPAQ. (2004). Mise en garde – Onze personnes malades à la suite de la consommation de fromages au lait cru fabriqués à la ferme. *Press Release*, 14 July 2004.
- Masoud, W., Vogensen, F. K., Lillevang, S., Al-Soud, W. A., Sørensen, S. J., & Jakobsen, M. (2012). The fate of indigenous microbiota, starter cultures, *Escherichia coli*, *Listeria innocua* and *Staphylococcus aureus* in Danish raw milk and cheeses determined by pyrosequencing and quantitative real time (qRT)-PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 153, 192–202.

- McCollum, J. T., Williams, N. J., Beam, S. W., Cosgrove, S., Ettestad, P. J., Ghosh, T. S., et al. (2012). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with in-store sampling of an aged raw-milk Gouda cheese, 2010. *Journal of Food Protection*, 75, 1759–1765.
- Méndez-González, K. Y., Hernández-Castro, R., Carrillo-Casas, E. M., Monroy, J. F., López-Merino, A., & Suárez-Güemes, F. (2011). *Brucella melitensis* survival during manufacture of ripened goat cheese at two temperatures. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8, 1257–1261.
- Méndez Martínez, C., Páez Jiménez, A., Cortés Blanco, M., Salmoral Chamizo, E., Mohedano Mohedano, E., Plata, C., et al. (2003). Brucellosis outbreak due to unpasteurized raw goat cheese in Andalucía (Spain), January–March 2002. *Eurosurveillance*, 8, 164–168.
- Messelhäusser, U., Beck, H., Gallien, P., Schälch, B., & Busch, U. (2008). Presence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and thermophilic *Campylobacter* spp. in cattle, food and water sources on Alpine pastures in Bavaria. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 59, 103–106.
- Miszczucha, S. D., Perrin, F., Ganet, S., Jamet, E., Tenenhaus-Aziza, F., Montel, M.-C., et al. (2013). Behavior of different Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes in various experimentally contaminated raw-milk cheeses. *Applied and Environmental Microbiology*, 79, 150–158.
- Miszczucha, S. D., Thévenot, J., Denis, S., Callon, C., Livrelli, V., Alric, M., et al. (2014). Survival of *Escherichia coli* O26:H11 exceeds that of *Escherichia coli* O157:H7 as assessed by simulated human digestion of contaminated raw milk cheeses. *International Journal of Food Microbiology*, 172, 40–48.
- Montet, M. P., Jamet, E., Ganet, S., Dizin, M., Miszczucha, S., Dunière, L., et al. (2009). Growth and survival of acid-resistant and non-acid-resistant Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* strains during the manufacture and ripening of Camembert cheese. *International Journal of Microbiology*, 2009, Article 653481.
- Ostyn, A., De Buyser, M.-L., Guillier, F., Groult, J., Félix, B., Salah, S., et al. (2010). First evidence of a food poisoning outbreak due to staphylococcal enterotoxin type E, France, 2009. *Eurosurveillance*, 15, Article 3.
- Peng, S., Hoffmann, W., Bockelmann, W., Hummerjohann, J., Stephan, R., & Hammer, P. (2013). Fate of Shiga toxin-producing and generic *Escherichia coli* during production and ripening of semihard raw milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 96, 815–823.
- Pintado, C. M., Grant, K. A., Halford-Maw, R., Hampton, M. D., Ferreira, M. A., & McLaughlin, J. (2009). Association between a case study of asymptomatic ovine listerial mastitis and the contamination of soft cheese and cheese processing environment with *Listeria monocytogenes* in Portugal. *Foodborne Pathogens and Disease*, 6, 569–575.
- Plommet, M., Fensterbank, R., Vassal, L., Auclair, J., Mocquot, G., Vachot, J. C., et al. (1988). Survival of *Brucella abortus* in ripened soft cheese made from naturally infected cow's milk. *Lait*, 68, 115–120.
- Poli, A., Guglielmini, E., Sembeni, S., Spiazzi, M., Dellaglio, F., Rossi, F., et al. (2007). Detection of *Staphylococcus aureus* and enterotoxin genotype diversity in Monte Veronese, a protected designation of origin Italian cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 45, 529–534.
- Rahimi, E., Doosti, A., Ameri, M., Kabiri, E., & Sharifian, B. (2008). Detection of *Coxiella burnetii* by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds in Iran. *Zoonoses and Public Health*, 57, 38–41.
- Ramsaran, H., Chen, J., Brunke, B., Hill, A., & Griffiths, M. W. (1998). Survival of bioluminescent *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in soft cheeses. *Journal of Dairy Science*, 81, 1810–1817.
- Rantsiou, K., Alessandria, V., Urso, R., Dolci, P., & Cocolin, L. (2008). Detection, quantification and vitality of *Listeria monocytogenes* in food as determined by quantitative PCR. *International Journal of Food Microbiology*, 121, 99–105.
- Rosengren, Å., Fabricius, A., Guss, B., Sylvén, S., & Lindqvist, R. (2010). Occurrence of foodborne pathogens and characterization of *Staphylococcus aureus* in cheese produced on farm-dairies. *International Journal of Food Microbiology*, 144, 263–269.
- Sahebkhah, N., Nochi, Z., Eslampour, M. A., Dabiri, H., Bolfion, M., Taherikalani, M., et al. (2011). Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk of bovine subclinical mastitis in Tehran and Mashhad. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 58, 113–121.
- Schlesser, J. E., Gerdes, R., Ravishanker, S., Madsen, K., Mowbray, J., & Teo, A. Y. (2006). Survival of a five-strain cocktail of *Escherichia coli* O157:H7 during the 60-day aging period of Cheddar cheese made from unpasteurized milk. *Journal of Food Protection*, 69, 990–998.
- Schoder, D., Melzner, D., Schmalwieser, A., Zangana, A., Winter, P., & Wagner, M. (2011). Important vectors for *Listeria monocytogenes* transmission at farm dairies manufacturing fresh sheep and goat cheese from raw milk. *Journal of Food Protection*, 74, 919–924.
- Schoder, D., Winter, P., Kareem, A., Baumgartner, W., & Wagner, M. (2003). A case of sporadic ovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes* and its effect on contamination of raw milk and raw-milk cheeses produced in the on-farm dairy. *Journal of Dairy Research*, 70, 395–401.
- Schukken, Y. H., Grommers, F. J., Vandegheer, D., Erb, H. N., & Brand, A. (1990). Risk-factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic-cell count. 1. Data and risk-factors for all cases. *Journal of Dairy Science*, 73, 3463–3471.
- Schvartzman, M. S., Maffre, A., Tenenhaus-Aziza, F., Sanaa, M., Butler, F., & Jordan, K. (2011). Modelling the fate of *Listeria monocytogenes* during manufacture and ripening of smeared cheese made with pasteurised or raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 145, S31–S38.
- Sci Com. (2010a). Advice 24-2010 of 18 June 2010 of the Scientific Committee of the FASFC on the evaluation of a program for surveillance, prevention and control of *Coxiella burnetii* in small ruminants (dossier Sci Com 2010/11). Available online http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES24-2010_NL_DOSSIER2010-11.pdf. Last accessed 13.10.14.
- Sci Com. (2010b). Advice 25-2010 of 18 June 2010 of the Scientific Committee of the FASFC on the surveillance, prevention and control of *Coxiella burnetii* in cattle (dossier Sci Com 2010/12). Available online http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES25-2010_NL_DOSSIER2010-12.pdf. Last accessed 13.10.14.
- Sci Com. (2011). Advice 15-2011 of 14 October 2011 of the Scientific Committee of the FASFC on the risk–benefit evaluation of raw cow milk consumption and the effect of heat treatment on these risks and benefits. Available online http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES15-2011_NL_DOSSIER2010-25.pdf. Last accessed 13.10.14.
- Sci Com. (2013). Advice 11-2013 of 22 March 2013 of the Scientific Committee of the FASFC on the evaluation of the risks and benefits of the consumption of raw milk from animal species other than cows. Available online http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES11-2013_NL_DossierSciCom2012-12.pdf. Last accessed 13.10.14.
- Sci Com. (2015). Advice 02-2015 of 27 February 2015 of the Scientific Committee of the FASFC on the evaluation of the microbiological risks of the consumption of dairy products based on raw milk. Available online http://www.favv-afsc.fgov.be/wetenschappelijkcomite/adviezen/_documents/ADVIES02-2015_NL_DOSSIER_2014-06.pdf. Last accessed 31.03.15.
- Spahr, U., & Schafroth, K. (2001). Fate of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in Swiss hard and semihard cheese manufactured from raw milk. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(9), 4199–4205.
- Spano, G., Goffredo, E., Beneduce, L., Tarantino, D., Dupuy, A., & Massa, S. (2003). Fate of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture of Mozzarella cheese. *Letters in Applied Microbiology*, 36, 73–76.
- Stephan, R., Schumacher, S., Corti, S., Krause, G., Danuser, J., & Beutin, L. (2008). Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Swiss raw milk cheeses collected at producer level. *Journal of Dairy Science*, 91, 2561–2565.
- Stephan, R., Schumacher, S., Tasara, T., & Grant, I. R. (2007). Prevalence of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Swiss raw milk cheeses collected at the retail level. *Journal of Dairy Science*, 90, 3590–3595.
- Strachan, N. J. C., Dunn, G. M., Mary, E., Locking, M. E., Reis, T. M. S., & Ogden, I. D. (2006). *Escherichia coli* O157: burger bug or environmental pathogen? *International Journal of Food Microbiology*, 112, 129–137.
- Trevisani, M., Mancusi, R., & Valero, A. (2014). Thermal inactivation kinetics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in buffalo Mozzarella curd. *Journal of Dairy Science*, 97, 642–650.
- Vaillant, V., Haeghebaert, S., Desenclos, J. C., Bouvet, P., Grimont, F., Grimont, P. A., et al. (1996). Outbreak of *Salmonella dublin* infection in France, November–December 1995. *Eurosurveillance*, 1, Article 1.
- Vaillant, V., Maillot, E., Charley, C., & Stainer, F. (1998). *Epidémie de listeriose, France, avril-août 1995*. Saint-Maurice, France: Institut de Veille Sanitaire.
- Valero, A., Hernandez, M., De Cesare, A., Manfreda, G., González-García, P., & Rodríguez-Lázaro, D. (2014). Survival kinetics of *Listeria monocytogenes* on raw sheep milk cured cheese under different storage temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 184, 39–44.
- Vernozzy-Rozand, C., Montet, M. P., Berardin, M., Bavai, C., & Beutin, L. (2005). Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from raw milk cheeses in France. *Letters in Applied Microbiology*, 41, 235–241.
- Verraes, C., Claeys, W., Cardoen, S., Daube, G., De Zutter, L., Imberechts, H., et al. (2014). A review of the microbiological hazards of raw milk from animal species other than cows. *International Dairy Journal*, 39, 121–130.
- Villar, R. G., Macek, M. D., Simons, S., Hayes, P. S., Goldoft, M. J., Lewis, S. H., et al. (1999). Investigation of the multidrug-resistant *Salmonella* serotype Typhimurium DT104 infections linked to raw-milk cheese in Washington state. *Journal of the American Medical Association*, 281, 1811–1816.
- Volponi, G., Rooks, D. J., Smith, D. L., Picozzi, C., Allison, H. E., Vigentini, I., et al. (2012). Short communication: characterization of Shiga toxin 2-carrying bacteriophages induced from Shiga-toxigenic *Escherichia coli* isolated from Italian dairy products. *Journal of Dairy Science*, 95, 6949–6956.
- Whyte, P., McGill, K., Cowley, D., Madden, R. H., Moran, L., Scates, P., et al. (2004). Occurrence of *Campylobacter* in retail food in Ireland. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 111–118.
- Williams, A. G., & Withers, S. E. (2010). Microbiological characterisation of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 356–369.
- Wood, D. S., Collins-Thompson, D. L., Irvine, D. M., & Muhr, A. N. (1984). Source and persistence of *Salmonella* Muenster in naturally contaminated Cheddar cheese. *Journal of Food Protection*, 47, 20–22.
- Zweifel, C., Giezendanner, N., Corti, S., Krause, G., Beutin, L., Danuser, J., et al. (2010). Characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from Swiss raw milk cheese within a 3-year monitoring program. *Journal of Food Protection*, 73, 88–91.



The Brazilian Journal of INFECTIOUS DISEASES

www.elsevier.com/locate/bjid



Original article

First molecular detection of *Coxiella burnetii* in Brazilian artisanal cheese: a neglected food safety hazard in ready-to-eat raw-milk product^{*}

Tatiana Rozental^{a,1}, Letícia Scafutto De Faria^{b,c}, Danielle Forneas^a,
Alexandro Guterres^a, João Batista Ribeiro^c, Flávio Ribeiro Araújo^d,
Elba Regina Sampaio Lemos ^{a,*,1}, Marcio Roberto Silva ^{c,1}

^a Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil

^c Embrapa Dairy Cattle, Juiz de Fora, MG, Brazil

^d Embrapa Beef Cattle, Campo Grande, MS, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 6 January 2020

Accepted 4 May 2020

Available online 18 June 2020

Keywords:

Brazil

Coxiella burnetii

Minas artisanal cheese

Zoonosis

Food safety

ABSTRACT

Background: Global publications on Q fever have increased after the 2007 epidemic in the Netherlands. However, the epidemiology of Q fever/coxiellosis in Brazil is still poorly understood. Accordingly, there have been few studies investigating the presence of *Coxiella burnetii* in dairy products around the world, especially in Brazil, where consumption of fresh cheese made from raw-milk is very high.

Objective: This study was a random survey to assess the prevalence of *C. burnetii* by PCR in traditional Minas artisanal cheese from the Serro microregion, Brazil, which is manufactured from bovine raw-milk.

Methods: DNA extracted from 53 cheese samples were analyzed by nested PCR with *C. burnetii*-specific primers and the products confirmed by DNA sequencing.

Results: Out of the 53 cheese samples five (9.43%) were *C. burnetii* DNA-positive, each coming from one of the respective randomly selected manufacturing agroindustries.

Based on our results, it is estimated that 1.62 tons/day of ready-to-eat cheese made from raw-milk from a total of 16.2 tons produced daily in the study region are contaminated with *C. burnetii*.

Abbreviation: MAC, Minas artisanal cheese.

^{*} Preliminary results from this study were presented as: (i) a lecture entitled “*Coxiella burnetii* and other neglected zoonotic hazards in artisanal cheeses made from raw milk in Brazil”, by Marcio Roberto Silva, at the 55th Congress of the Brazilian Society of Tropical Medicine (SBMT) and XXVI Brazilian Congress of Parasitology, 28 to 31 July, 2019, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil; (ii) as a dissertation entitled “Prevalence and risk factors for *Coxiella burnetii* in Minas Artisanal Cheese from the micro region of Serro” presented by Letícia Scafutto de Faria to obtain the Master degree in Science and Technology of Milk by the Federal University of Juiz de Fora (<http://www.ufjf.br/mestradoite/files/2017/06/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Final7.pdf>).

^{*} Corresponding author.

E-mail address: erslemos@gmail.com (E.R. Lemos).

¹ Contributed equally as first authors.

<https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.05.003>

1413-8670/© 2020 Sociedade Brasileira de Infectologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Conclusion: To our knowledge, this is the first report of highly heat-resistant zoonotic pathogen in raw-milk Brazilian artisanal cheese. This food safety hazard has been completely neglected in ready-to-eat raw-milk Brazilian artisanal cheese and could imply potential threats to consumers, since *C. burnetii* survives in artisanal cheese submitted to long ripening periods. Thus, this work established random and representative baseline prevalence of *C. burnetii* in this food product in Brazil. Further epidemiological studies, monitoring trends and setting control targets are warranted. Finally, these results point out the importance of including *C. burnetii* in animal and public health surveillance programs.

© 2020 Sociedade Brasileira de Infectologia. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introduction

The Minas artisanal cheese (MAC) made from raw-milk is the oldest and most traditional type of cheese in Brazil and represents the main livelihood of several smallholders in this state, which produces about 70,000 tons of cheese per year.¹ By using raw-milk in its manufacturing, the MAC can carry particularly zoonotic pathogens such as *Coxiella burnetii*, which causes Q fever in humans and coxiellosis in animals.²

It is a notifiable disease by the World Organization for Animal Health,² but in both animals and humans, *C. burnetii* infections remain poorly understood and their prevalence has been underestimated.³

The most common reservoirs of this pathogen are cattle, sheep, and goats; it is found in urine, feces, milk, and birth fluids of infected animals.

Human infections mainly occur after human inhalation of contaminated aerosols and rarely after the ingestion of unpasteurized milk or cheese.⁴ *C. burnetii* is also an important tick-borne pathogen, but their role in human infection is still questionable.^{2,3}

Global publications on Q fever increased after the 2007 epidemic in the Netherlands.⁵ Over the past decade, case reports and seroprevalence studies on Q fever have been published in Brazil.^{6–9} However, these studies do not yet provide a complete picture of Q fever in this continental country, which does not yet have Q fever/coxiellosis control programs, although case reporting is mandatory for animals since 2013¹⁰ and for humans since 2014.⁹ Even so, the cases are under-reported.^{9,10}

Despite the number of publications, there have been few studies investigating the presence of *C. burnetii* in dairy products around the world,⁵ especially in Brazil.^{10,11} Therefore, the aim of this study was to estimate the prevalence of *C. burnetii* by PCR in MAC, which is manufactured using raw-milk.

Methods

Design, location of the study and sample planning

This was a cross-sectional random survey to estimate the prevalence of *C. burnetii* by PCR in MAC produced by agroindustries of the Serro microregion, Minas Gerais (MG) state, the oldest and most traditional Brazilian cheese. To be included in the survey the agroindustries had to be both MAC man-

ufacturers from a set of single-farm milk and registered in the Minas Gerais Agriculture and Livestock Institute (IMA), the state animal health agency. This study was approved by the Brazilian National Research Ethics Committee (protocol 120466748/2013).

The sample of the target population to estimate the prevalence of *C. burnetii* was determined by random drawing of 53 (42.4%) MAC samples, each one representing a respective manufacturing agroindustry, from a total of 125 artisanal industries registered in the IMA. This sample size was based on a finite population of 125, 10% margin of error, 95% confidence level and an expected proportion of 50% *C. burnetii* DNA-positive MAC.

Data and sample collection

MAC producers were interviewed with the use of a structured questionnaire organized by content group, focusing on socioeconomic features, animal health, Good Agricultural Practices (GAP) and Good Handling Practices (GHP) for the MAC. The MAC samples were collected with ripening time between three and eight days in their own packaging and kept in isothermal boxes under refrigeration (<4 °C) with recyclable ice during transportation to the laboratory for analyses.

DNA extraction

The cheese samples were fractionated into smaller portions of 100 g, wrapped in sterile bags for solid or liquid samples (INLAB, São Luís, Brazil), sealed, identified, macerated and homogenized. DNA extraction from the cheese samples was performed using the DNeasy Blood & Tissue Kit[®] (Qiagen, Hilden, Germany).

PCR amplification

Bacterial DNA was detected with *C. burnetii*-specific primers designed to amplify the IS1111 gene, derived from a transposon-like repeat region of the genome of this bacteria, using the same primers, controls and conditions of a nested PCR standardized by our team.¹²

DNA sequencing

Properly sized fragments were purified using the Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification[®] kit (GE Healthcare,

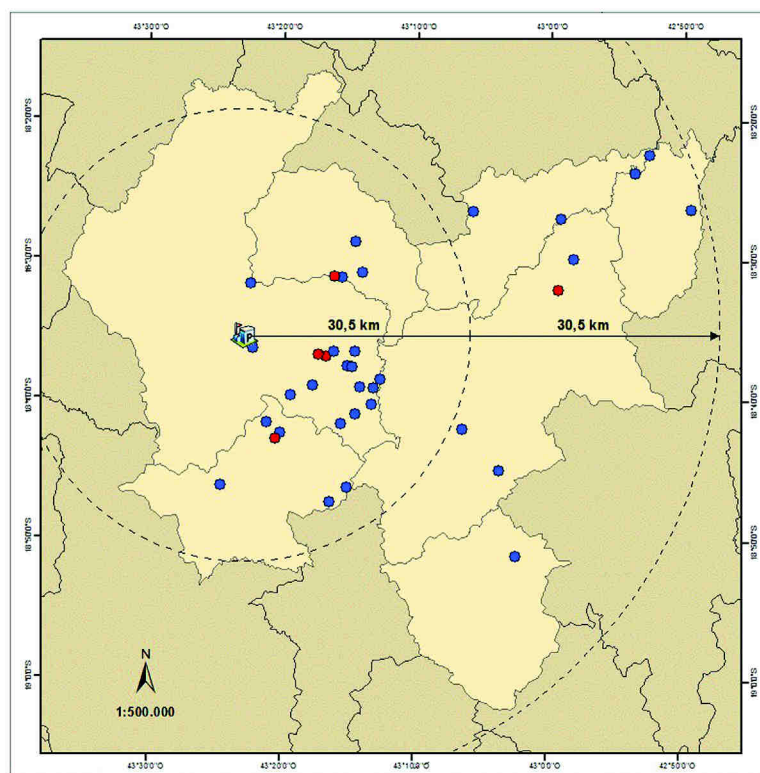


Fig. 1 – Spatial distribution of agroindustries from the region of Serro (light brown) with raw-milk Minas artisanal cheese positive (red) and negative (blue) for *Coxiella burnetii* DNA, Minas Gerais state, Brazil; elaborated by the Embrapa Dairy Cattle Geoprocessing Department according to the Geographic information system Datum Horizontal SIRGAS 2000 and the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE).

Buckinghamshire, UK). The direct nucleotide sequencing amplicon was performed using the BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit, and purification was performed using the BigDye® X-Terminator Purification kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), according to the manufacturer's recommendations. The analyses of the amplicons were performed in an ABI Prism 3730XL with 96 capillaries (Applied Biosystems) and the nucleotide sequences were analyzed using the MEGA7 software (downloaded from www.megasoftware.net). A consensus sequence for each bacterial genome was derived from contiguous sequences assembled by the same software.

Epidemiological analyses

Descriptive epidemiology is presented and the prevalence of *C. burnetii* DNA-positive MAC is shown with 95% confidence interval. The proportion of agroindustries with *C. burnetii* DNA-positive MAC between two areas along the Serro microregion was compared by Fisher's exact test. These areas are the result of the division of a large circle of 61-km radius into two concentric areas. The center of the circle was the municipality of Serro, the main and most producer of the study region.

Results and discussion

Five (9.43%, 95% CI: 3.1–20.7%) *C. burnetii* DNA-positive MAC were found among 53 samples analyzed. DNA sequences showed 100% identity for the *C. burnetii* species-specific DNA segment [GenBank CP000890, AE016828, LK937696, CP018005, CP020616] and the accession numbers have been deposited in GenBank (MH920307-183MH920311). This was the first description of this highly infectious and heat-resistant pathogen in ready-to-eat raw-milk MAC in Brazil, although it has been found in cheeses from other countries.^{13,14}

The distribution of the agroindustries with positive MAC did not present spatial statistical differences ($p > 0.05$) between the two concentric areas (Fig. 1), presenting evidence that *C. burnetii* distribution is homogeneous along the region of Serro. Thus, it is estimated that at least 1.62 tons/day (almost 10%) of ready-to-eat raw-milk MAC from a total of 16.2 tons produced daily are contaminated with *C. burnetii*.

Inhalation of contaminated aerosols or dust is the primary source of *C. burnetii* transmission to humans.⁴ However, epidemiological evidence strengthens the link between exposure to raw dairy products and this disease. Accordingly, an outbreak affected five consumers of contaminated raw cow's milk from the same dairy.¹⁵ Analysis of the available data, given

that many of data required for a quantitative risk assessment are missing even in developed countries, has shown that the risks through consumption of raw dairy products are not negligible.⁴

A study from 2013 did not find viable *C. burnetii* in PCR-positive dairy products in France and pointed out that they do not seem to represent a risk for consumers.¹⁴ However, in a much worse scenario, another more recent study showed that *C. burnetii* remained viable after at least eight months of ripening in hard cheese.¹⁶

MAC is a minimally processed food. It is made from raw-milk, undergoing no thermal processing and uses non-industrialized native starter culture with an unknown and non-standardized concentration of lactic acid bacteria, most of which are marketed and consumed fresh. Thus, it is believed that the chance of finding viable *C. burnetii* among fresh MAC is even greater than that verified for hard cheeses by other authors,¹⁶ and this requires further studies.

The local regulations determine, for safety reasons, that MAC should be produced from a set of single-farm milk, fermented with a compulsory autochthonous starter culture called “pingo”, which is cheese whey from a previous MAC production that is collected and added in the next production, and ripened for at least 17 days.¹⁷ However, according to the producers’ self-reports, approximately half (47.7%) of the studied agroindustries do not use the recommended starter culture for MAC manufacturing and most of them (68.2%) replace it with a banned starter, grated cheese rind, which could potentially introduce *C. burnetii* spore-like forms.¹⁸ Additionally, we observed in situ that MAC was being sold within a median of only four days of ripening, which could potentially increase the risk of human exposure.¹⁶

By deduction, if *C. burnetii* was found in a cheese from a set of single-farm milk in this study, the most likely source is the respective feedstock from positive bovine herd.¹⁵

Paradoxically, milk heat treatment is not allowed for MAC manufacturing. Thus, the detection of positive individuals or herds by serological or PCR tests, maintaining closed herds preferably and requiring health certificates when buying animals, immunization, pre-calving separation and destruction of placentas and fetal wraps should be minimum recommendations¹⁹ for farmer-owners that produce cheese from raw-milk. As challenges, more than one-third (36.4%) of the herds included in this study are not completely closed and most producers (92.8%) do not require any health certificates to purchase bovine, and this could allow the entry of positive animals, as already reported.²⁰

It is noteworthy that in a recent study, *C. burnetii* was detected by PCR in 3.57% of the unpasteurized cow’s milk samples in another region of Brazil¹⁰ at a concentration within the range count of *C. burnetii* per mL of milk required to have a 50% probability to start an infection.⁴

Thus, there is a need for further studies to better understand the epidemiology of this pathogen in Brazil, especially comparing the strains found in cattle and dairy products with those of human cases and assessing the risk of this pathogen in raw-milk cheese for consumers.

Conclusion

We found *C. burnetii* DNA in ready-to-eat MAC by a random survey. Therefore, this work established representative baseline rates for *C. burnetii* prevalence in raw-milk MAC in Brazil, to allow monitoring trends, setting control targets and future local risk analysis studies.

Conflicts of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

This work was supported by the National Research Council of Brazil (CNPq) (grant numbers 443235/2014-7 and 404762/2016-6), the Mato Grosso do Sul State Agency for Research and Development (FUNDECT) (grant number TO 085/2015), the Minas Gerais State Agency for Research and Development (FAPEMIG) (grant numbers CVZ-APQ-02746-14, CVZ-APQ-03989-17 and CVZ-PPM-00526-16) and EMBRAPA (grant number 02.13.10.007.00.00).

Acknowledgements

We thank the MAC producers who participated in this study and the IMA for doing the fieldwork.

REFERENCES

1. Emater - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. Queijo Minas Artesanal: tradição e qualidade que revelam Minas. Rev EMATER MG. 2004;22:8–9.
2. Porter SR, Czaplicki G, Mainil J, Guattéo R, Saegerman C. Q fever: current state of knowledge and perspectives of research of a neglected zoonosis. Int J Microbiol. 2011;2011:248418.
3. Marrie TJ, Raoult D. Q fever — a review and issues for the next century. Int J Antimicrob Agents. 1997;8:145–61.
4. Gale P, Kelly L, Mearns R, Duggan J, Snary EL. Q fever through 366 consumption of unpasteurized milk and milk products — a risk profile and exposure assessment. J Appl Microbiol. 2015;118:1083–95.
5. Delsing CE, Kullberg BJ, Bleeker-Rovers CP. Q fever in the Netherlands from 2007 to 2010. Neth J Med. 2010;68:382–7.
6. Epelboin L, Nacher M, Mahamat A, et al. Q fever in French Guiana: tip of the iceberg or epidemiological exception? PLoS Negl Trop Dis. 2016;10:e0004598.
7. Costa PSG, Brigatte ME, Greco DB. Questioning one Brazilian query: reporting 16 cases of Q fever from Minas Gerais, Brazil. Rev Inst Med Trop. 2006;48:5–9.
8. Siciliano RF, Strabelli TM, Zeigler R, et al. Infective Endocarditis due to *Bartonella* spp. and *Coxiella burnetii*. Ann N Y Acad Sci. 2006;1078:215–22.
9. Mares-Guia MA, Rozental T, Guterres A, et al. Molecular identification of Q fever in patients with a suspected diagnosis of dengue in Brazil in 2013–2014. Am J Trop Med Hyg. 2016;94:1090–4.

10. Mioni MDSR, Ribeiro BLD, Peres MG, et al. Real time quantitative PCR based detection of *Coxiella burnetii* in unpasteurized cow's milk sold for human consumption. *Zoonoses Public Health*. 2019;1–6.
11. Mares-Guia MAMM, Rozental T, Guterres A, et al. Molecular identification of the agent of Q fever – *Coxiella burnetii* – in domestic animals in State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2014;47:231–4.
12. Mares-Guia MAMM, Guterres A, Rozental T, Ferreira MDS, Lemos ERS. Clinical and epidemiological use of nested PCR targeting the repetitive element IS1111 associated with the transposase gene from *Coxiella burnetii*. *Braz J Microbiol*. 2018;49:138–43.
13. Galieiro A, Fratini F, Cammà C, et al. Occurrence of *Coxiella burnetii* in goat and ewe unpasteurized cheeses: screening and genotyping. *Int J Food Microbiol*. 2016;237: 47–54.
14. Eldin C, Angelakis E, Renvoisé A, Raoult D. *Coxiella burnetii* DNA, but not viable bacteria, in dairy products in France. *Am J Trop Med Hyg*. 2013;88:765–9.
15. Signs KA, Stobierski MG, Gandhi TN. Q fever cluster among raw milk drinkers in Michigan, 2011. *Clin Infect Dis*. 2012;55:1387–9.
16. Barandika JF, Alvarez-Alonso R, Jado I, Hurtado A, García-Pérez AL. Viable *Coxiella burnetii* in hard cheeses made with unpasteurized milk. *Int J Food Microbiol*. 2019;303:42–5.
17. Minas Gerais. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria no 1305, de 30 de abril de 2013. Estabelece diretrizes para a produção do queijo minas artesanal.
18. Kersh GJ, Fitzpatrick KA, Self JS, et al. Presence and persistence of *Coxiella burnetii* in the environments of goat farms associated with a Q fever outbreak. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79:1697–703.
19. Acha PN, Szyfres B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales*. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud; 2003.
20. Paul S, Agger JF, Markussen B, Christoffersen AB, Agerholm JS. Factors associated with *Coxiella burnetii* antibody positivity in Danish dairy cows. *Prev Vet Med*. 2012;107:57–64.

Ocorrência de *Brucella* em queijo Minas artesanal da microrregião do Serro: um importante problema de saúde pública

Occurrence of Brucella in Minas artisanal cheese of Serro micro-region: an important public health problem

Marcio Roberto Silva^{1,*}, André Almeida Santos Duch², Rômulo Tadeu Pace de Assis Lage², Liliane Denize Miranda Menezes², João Batista Ribeiro¹, Guilherme Nunes de Souza¹, Paulo Martins Soares Filho³, Antônio Augusto Fonseca Júnior³, Letícia Scafutto de Faria¹, Ronaldo Rodrigues da Costa⁴

RESUMO

Introdução: O modo de fabricar o queijo Minas artesanal (QMA) na microrregião do Serro foi considerado patrimônio histórico imaterial da humanidade desde 2008. Mesmo produzido a partir de leite cru a sua comercialização foi autorizada. **Objetivos:** Estimar a prevalência de *Brucella* spp. no QMA da microrregião do Serro. **Métodos:** Foram avaliadas as evidências do patógeno (presença de DNA) em queijos de produtores cadastrados pelo Instituto Mineiro de Agricultura e Pecuária (IMA), com tempos de maturação de 4 e 8 dias à temperatura ambiente. **Resultados:** Embora todas as amostras de queijo fossem de bovinos declarados negativos para brucelose por testes sorológicos anuais realizados por veterinários autônomos, os resultados da reação em cadeia da polimerase (PCR) mostraram 17 (30,9%, IC95% 18,7% a 43,1%) de amostras de QMA positivas para *Brucella* spp. entre os 55 analisados. O sequenciamento de DNA demonstrou uma similaridade de 100% com as cepas de campo de *Brucella* ssp. **Conclusões:** Essa positividade no QMA pode ser considerada um risco potencial à saúde pública e sugere uma suposta deficiência do programa local de controle da brucelose no monitoramento dessa população específica de rebanhos leiteiros e que medidas mais fortes de controle e prevenção da brucelose devem ser adotadas em agroindústrias produtoras de leite cru a fim de garantir a segurança do alimento.

Palavras-chave: *Brucella* Abortus, Zoonose, Pcr, Queijo Minas Artesanal.

ABSTRACT

Introduction: The way of manufacturing the artisanal Minas cheese (QMA) in the micro-region of Serro was considered an immaterial historical heritage of mankind since 2008. Even produced from raw milk, its commercialization was authorized. **Objectives:** To estimate the prevalence of *Brucella* spp. in the QMA of the Serro micro-region. **Methods:** Evidence of pathogen (presence of DNA) in producer cheeses registered by the Minas Gerais Institute of Agriculture and Livestock (IMA) was evaluated, with maturation times of 4 and 8 days at room temperature. **Results:** Although all the cheese samples were from cattle declared negative for brucellosis by annual serological tests carried out by autonomous veterinarians, the polymerase chain reaction (PCR) results showed 17 (30.9%, 95% CI 18.7% 43.1%) of samples of QMA positive for *Brucella* spp. among the 55 analyzed. DNA sequencing demonstrated a similarity of 100% with the field strains of *Brucella* ssp. **Conclusions:** This positivity in the QMA can be considered a potential risk to public health and suggests a supposed deficiency of the local brucellosis control program in the monitoring of this specific population of dairy herds and that stronger measures of brucellosis control and prevention should be adopted in producing raw milk to ensure food safety.

Keywords: *Brucella abortus*, zoonosis, PCR, Mines cheese artisanal.

1. Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

2. Instituto Mineiro de Agropecuário, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

3. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Pedro Leopoldo, Minas Gerais, Brasil

4. Hospital Regional João Penido, FHEMIG, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil

* **Autor correspondente:** Dr. M. R. Silva, Embrapa Gado de Leite / Av. Eugênio do Nascimento, 610, CEP 36038 330, Dom Bosco, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil
E-mail: marcio-roberto.silva@embrapa.br

INTRODUÇÃO

O queijo Minas artesanal (QMA) fabricado a partir de leite cru é provavelmente o queijo mais tradicional e antigo do Brasil, com origem na colonização portuguesa, quando trouxeram para o Brasil o gado e sua receita.¹⁻³

Duas entre as sete regiões reconhecidas como produtoras de QMA foram consideradas patrimônio histórico imaterial da humanidade a ser preservado desde 2008, pelo Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional.³

O QMA representa o principal sustento de vários pequenos produtores do Estado, que produzem aproximadamente 70.000 toneladas deste tipo de queijo por ano.⁴

A fabricação do QMA é historicamente caracterizada pela utilização de leite cru, recém-ordenhado, com o acréscimo de um soro fermento endógeno chamada “pingo”. Usando o leite cru como base em sua fabricação, o QMA pode veicular particularmente patógenos zoonóticos, como *Brucella*. Este patógeno pode ser eliminado no leite de bovinos infectados e permanecer viável em produtos lácteos crus, representando riscos para a saúde dos consumidores. Anualmente, 500 mil novos casos de brucelose humana são registrados em todo mundo⁵ e uma revisão robusta apontou *Brucella* como o quarto patógeno mais envolvido em surtos de doenças transmitidas pelo leite cru e derivados em muitos países desenvolvidos, a maioria deles associados ao queijo fabricado com leite cru.⁶ Essa associação também foi verificada no Brasil.⁷

Para evitar esses riscos microbiológicos dos produtos lácteos crus, tanto o controle sanitário do rebanho quanto a higiene em todo o processo de fabricação devem ser rigorosamente adotados pelos produtores de queijos artesanais para garantir que o produto seja inócuo, pois não dependem da pasteurização como garantia extra no final do processo.

Então, mais recentemente, órgãos nacionais e estaduais de saúde animal e inspeção de alimentos no Brasil cobraram dos produtores de QMA padrões higiênico-sanitários do rebanho para obter leite e produzir queijo de leite cru adequado para consumo direto. Atualmente, o Programa de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Animal (PNCEBT), foi estabelecido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA)⁸, e adotado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA) para monitorar a presença destas doenças em rebanhos de agroindústrias produtoras de queijos artesanais no Estado de Minas Gerais. A brucelose bovina em rebanhos dessas agroindústrias é monitorada por veterinários particulares sob supervisão do IMA nesse Estado.

Apesar da reconhecida tradição e “terroir” do QMA, sua segurança nunca pode ser negligenciada. Entretanto, os autores não conhecem levantamentos randomizados relacionados à prevalência de *Brucella* spp. em queijo de leite cru de agroindústrias produtoras artesanais no Brasil. Portanto, neste estudo foi realizada uma amostragem probabilística para estimar a prevalência de *Brucella* spp. no QMA, identificada por PCR direto e confirmada por sequenciamento de DNA, em importante região produtora do Estado de Minas Gerais, Brasil. Além disso, identificar se as sequências de DNA eram da vacina B19 ou das cepas de campo de *Brucella*. Este estudo é importante para orientar as medidas de monitoramento e controle por parte das agências estaduais e federais, tanto de saúde animal quanto de inspeção de alimentos, especificamente direcionadas às agroindústrias produtoras de QMA.

MATERIAL E MÉTODOS

Desenho e localização do estudo. Este é um estudo transversal para estimar a prevalência de *Brucella* spp. no QMA produzido pelas agroindústrias da região do Serro, Estado de Minas Gerais, Brasil. Os critérios de inclusão foram as agroindústrias registradas no IMA. As agroindústrias selecionadas foram distribuídas em 11 cidades pertencentes à região do Serro, com mais detalhes: Alvorada de Minas, Coluna, Conceição do Mato Dentro, Dom Joaquim, Itambé do Mato Dentro, Matelândia, Paulistas, Rio Vermelho, Sabinópolis, Serra Azul de Minas, Serro.

Planejamento amostral. A amostra da população alvo para estimar o percentual de QMA positivo para *Brucella* spp. foi determinado por sorteio aleatório de 55 (44%) das 125 agroindústrias registradas no IMA. Como todos os queijos foram fabricados a partir de leite de conjunto de cada fazenda, apenas um queijo foi coletado por agroindústria para representá-la.

Monitoramento dos rebanhos para brucelose. Os rebanhos de todas as agroindústrias incluídas são monitorados para brucelose anualmente pelo IMA, por meio do teste de antígeno tamponado em placa, realizado por veterinários particulares habilitados pelo PNCEBT.

Coleta de dados. Cinquenta e cinco produtores de QMA, representando suas próprias agroindústrias, foram entrevistados utilizando um questionário estruturado. Este foi organizado por grupo de conteúdo, com foco nas características socioeconômicas, saúde animal, Boas Práticas Agropecuárias e Boas Práticas de Fabricação para o QMA.

Coleta de amostras de queijo. As amostras de queijo ($n = 55$) foram coletadas pela equipe de estudo treinada para realizar sua coleta, armazenamento e transporte, entre junho e dezembro de 2014. Em cada agroindústria sorteada foi coletado um queijo com tempo de maturação entre 4 e 8 dias.

As amostras contendo aproximadamente 900 g foram coletadas em embalagens próprias e mantidas em caixas isotérmicas sob refrigeração ($<4^{\circ}\text{C}$) com gelo reciclável durante o envio ao laboratório para análise.

Extração de DNA. Amostras de queijo foram fracionadas em porções menores de 100 g, envasadas em sacos estéreis para amostras sólidas ou líquidas (INLAB), seladas, identificadas, maceradas e homogeneizadas. A extração de DNA da amostra de queijo foi realizada usando o Kit de Alimentos Dneasy Food Mericon (Qiagen, Hilden, Alemanha).

Nested-PCR. O DNA extraído foi submetido à nested-PCR direcionada ao gene *eryD*, que é completo nas linhagens de *Brucella*, mas parcialmente deletado nas cepas vacinais B19 de *Brucella*. Foram utilizados os primers Bru.eryD.469.F (5'-CTTCAACCATTTTGGCCATC-3') e Bru.eryD.469.R (5'-CTTGTCCATCAGGCTTTGCT-3') para amplificar uma sequência alvo de 469 pb na primeira PCR e primers Bru.eryD.363.F (5'-GCC GCT ATT ATG TGG ACT GG -3') e

Bru.eryD.363.R (5'-GAT CGT AGT CGT CCG GGT TA -3') na segunda PCR foram utilizados para amplificar uma sequência alvo de 363 pb. O DNA isolado foi amplificado utilizando a concentração de reagentes e as condições de ciclagem para PCR: tampão MgCl_2 1,5Mm 1x Go Taq 0,05 U/ μL , DNTP 10 mM; $95^{\circ}\text{C} / 5 \text{ min}$; $40 \times 95^{\circ}\text{C} / 40 \text{ seg}$, $60^{\circ}\text{C} / 40 \text{ seg}$, $72^{\circ}\text{C} / 40 \text{ seg}$; $72^{\circ}\text{C} / 4 \text{ min}$. Os produtos de PCR foram avaliados por eletroforese em gel de agarose a 1,5% e corados com solução segura. As bandas pretendidas foram visualizadas por um transiluminador.

Sequenciamento de DNA. O sequenciamento do produto amplificado foi realizado para avaliar o grau de similaridade com amostras de DNA presentes no GenBank. O sequenciamento foi realizado de acordo com a metodologia de Sanger^{9,10} no equipamento Genetic Analyzer 3500 (Life Technologies, EUA). Os resultados foram analisados no programa BioEdit para montagem dos *contigs* e submetidos ao programa Blast.¹¹

Análises epidemiológicas. A prevalência de QMA positivo para *Brucella* spp. foi determinada com intervalo de confiança de 95% (IC).

Padrões éticos. Os autores afirmam que todos os procedimentos que contribuem para este trabalho estão em conformidade com os padrões éticos dos comitês nacionais de instituições relevantes sobre experimentação humana e com a Declaração de Helsinque de 1975, revisada em 2008. Além disso, este estudo foi inserido na Plataforma Brasil e aprovado por Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estácio de Sá, UNESA, RJ (protocolo 466748/2013).

RESULTADOS

A nested-PCR, região do gene *eryD*, identificou 17 (30,9%, IC 95% 18,7% a 43,1%) QMA positivos para *Brucella* spp. na região do Serro, Minas Gerais, Brasil.

Nove produtos de nested-PCR foram selecionados aleatoriamente e submetidos a sequenciamento de DNA. Essas análises revelaram que todos os produtos de PCR apresentaram similaridade de 100% (todos os 363 pares alinhados) com as sequências de DNA de campo de *Brucella* spp. disponíveis no GenBank.

Houve uma menor similaridade do produto amplificado com o DNA da vacina B19 de *Brucella abortus* (apenas 238 pares alinhados). Este menor alinhamento de produtos sequenciados com *Brucella abortus* B19 depositado no GenBank é devido a uma deleção de parte do gene *eryD* presente na cepa vacinal.

DISCUSSÃO

Todos os rebanhos analisados apresentaram resultados negativos para a brucelose, por meio do teste de antígeno tamponado em placa, realizado por veterinários particulares habilitados pelo PNCEBT. Porém, a nested-PCR, região do gene *eryD*, mostrou QMA positivos para *Brucella* spp. na região do Serro, em Minas Gerais, e sequenciamento de produtos de PCR amplificados demonstraram ser de campo.

A alta porcentagem (30,9%) de QMA positivo para *Brucella* spp. e, consequentemente, de rebanhos leiteiros positivos no presente estudo é expressivamente superior à prevalência de 6,0% encontrada em uma pesquisa.¹² Essa maior positividade entre os rebanhos do presente estudo pode ser decorrente da aquisição de animais com alta produção de leite, supostamente positivos, sem a cobrança por parte dos produtores de resultados negativos nos testes para a brucelose.

Os resultados do presente estudo corroboram os de Myiashiro et al., que encontraram positividade de 19,27%, utilizando testes de PCR para a detecção de *Brucella* spp. em queijos Minas frescal e em curados dos estados de Minas Gerais e São Paulo, todos vendidos sem inspeção sanitária.¹³ No entanto, o presente estudo encontrou apenas amostras de campo de *Brucella*, enquanto Myiashiro et al. encontraram 81,08% de amostras vacinais de B19 e apenas 18,92% de cepas de campo de *Brucella*.¹³

De acordo com o Decreto Estadual nº 42.645 de 5 de junho de 2002, os rebanhos de agroindústrias produtoras de QMA têm que ser negativos para a brucelose.¹⁴

Embora o teste de PCR e o sequenciamento de DNA utilizados não tenham comprovado a viabilidade de *Brucella* spp. detectada nos queijos estudados, eles atestam a presença desse problema sanitário nos rebanhos estudados e que o Decreto acima não está sendo completamente cumprido para a produção artesanal segura.

Brucella é um grupo de organismos resistentes, que podem sobreviver a períodos prolongados no leite e produtos lácteos e isso é altamente relevante para a transmissão desses patógenos para os seres humanos por produtos alimentícios. Nevot et al., utilizando uma tecnologia de queijos macios, demonstraram que oito linhagens de *Brucella*, das três principais espécies *B. melitensis*, *B. abortus* e *B. suis*, cultivadas *in vitro* e adicionadas ao leite cru, poderiam sobreviver em queijos normalmente acidificados (pH 4,5 no dia 1) por mais de 29 dias.¹⁵

A mesma equipe utilizou leite de vacas infectadas experimentalmente para estudar a sobrevivência de uma amostra virulenta de *Brucella abortus* em queijo tipo Camembert, mantido em câmara a 12 °C no momento da maturação, processados conforme citado anteriormente. Após a acidificação, as contagens diminuíram consistentemente a uma taxa tal que nenhuma *Brucella* pode ser recuperada após o 18º dia, seja por cultura bacteriológica ou por administração experimental oral em camundongos.¹⁶ Essa diferença na sobrevida pode estar relacionada à resistência de *Brucella*, que pode ser maior para algumas cepas do que para outras.

É possível que outros organismos possam influenciar a sobrevivência de *Brucella* em queijos, já que no queijo elaborado com leite cru e amadurecido a 24 °C, pH 4,0 e aw de 0,89 estirpes sobreviveram até o dia 17 e em queijo elaborado com leite pasteurizado nas mesmas condições, as cepas sobreviveram até os dias 24 a 31 de maturação. Além disso, quando o queijo foi elaborado com leite cru e maturado a 4 °C, **a sobrevivência das cepas foi de 17 a 24 dias (pH 5 e aw 0,90). Em relação ao queijo elaborado com leite pasteurizado e maturado na mesma temperatura**, as linhagens sobreviveram 31 dias (pH 5 e aw 0,90).¹⁷ Esses tempos de sobrevivência em queijo de leite cru foram muito superiores ao tempo mínimo de maturação de 17 e 22 dias proposto preliminarmente como seguro para o queijo deste estudo (Serro) e outros queijos artesanais do Brasil (Canastra), respectivamente.^{18,19} No entanto, esses períodos basearam-se na sobrevivência de alguns patógenos estabelecidos por lei para serem examinados em alimentos, mas não incluíam *Brucella* spp., *Mycobacterium bovis*, entre outros, que precisam ser pesquisados em estudos futuros de sobrevivência em queijos artesanais do Brasil.

Mesmo o período de maturação de 17 dias estipulado por lei para o queijo artesanal do Serro não é respeitado pelos produtores, cujo queijo é vendido entre apenas 4 e 8 dias após a fabricação. Isso torna essa prática ainda mais arriscada para a saúde pública, porque os baixos tempos de maturação não são suficientes para atingir o pH entre 4,0 e 3,5 necessários para a inativação lenta ou rápida de *Brucella*, de acordo com as recomendações da OMS.²⁰

A legislação do Estado de Minas Gerais não faz referência à busca de *Brucella* diretamente no QMA, apesar da importância dessa doença zoonótica para a saúde pública. Neste estado, o único controle disponível, dirigido a *Brucella* para QMA destinado ao mercado intraestadual é o controle anual do rebanho para brucelose pelo exame dos animais e vacinação de bezerras. Além disso, para as agroindústrias autorizadas a vender QMA fora deste estado, a certificação de “livre de brucelose” é um requisito adicional. Essas certificações são importantes, embora as agroindústrias “livres de brucelose” não sejam isentas para sempre para *Brucella* spp., conforme demonstrado por Soares Filho et al.²¹ Assim, controles adicionais para aumentar a segurança de produtos feitos a partir de leite cru devem ser encorajados, como maturação por período longo, e monitoramento mais frequente da segurança do leite cru usada no processamento de queijos artesanais.

Esse monitoramento da segurança do leite cru poderia tirar proveito de diagnósticos rápidos baseados na detecção direta de DNA específico, como o presente estudo fez, ou na detecção de anticorpos anti-*Brucella*. Monitorar os rebanhos dessas agroindústrias com testes rápidos para detecção de anticorpos no leite cru, como o teste do anel, poderia aumentar a garantia de que os testes de brucelose estão sendo realizados pelos veterinários privados e que os status “monitorados para” ou “livres de” brucelose **são de fato verdadeiros. Por outro lado, a detecção de DNA de *Brucella* spp. diretamente do queijo artesanal foi utilizada por este e outros estudos, mostrando-se complementares aos testes sorológicos tradicionais para *Brucella* spp. em rebanhos.**^{13, 22-24}

Os surtos de brucelose humana transmitidos por alimentos são comuns em todo o mundo.^{25,26} Também no Brasil foi observada a associação significativa ($p < 0,05$) entre as pessoas testadas positivas para brucelose e a ingestão de leite cru ou seus derivados.⁷ Dada a importância de zoonoses como a brucelose, que pode ser diretamente eliminada no leite de vacas infectadas, o IMA e outras entidades de defesa governamental devem tratar agroindústrias artesanais de queijo de leite cru como “de maior risco para o consumidor”. Esta designação não deveria ser entendida como alarmante, mas para disseminar o entendimento de que para alguns patógenos, como *Brucella*, que são diretamente transmitidos de

animais infectados por meio do leite, a erradicação desse patógeno em rebanhos específicos seria a única maneira de garantir a segurança do leite cru e seus derivados, sendo os enfoques exclusivamente focados na ordenha e higiene de fabricação insuficientes para este patógeno em questão.

Os resultados do presente estudo reforçam que o QMA contaminado com *Brucella* spp. pode representar um risco potencial à saúde pública e não pode ser negligenciado pelas autoridades sanitárias e agropecuárias brasileiras, uma vez que esse patógeno tem sido encontrado viável em queijos com o mesmo processo de fabricação e tempo de maturação deste estudo.²⁷ Como a brucelose bovina é uma doença enzoótica em praticamente todos os estados brasileiros, incluindo Minas Gerais, os procedimentos para a erradicação desta doença, seguida pelo monitoramento da doença e sistema de vigilância epidemiológica devem ser adotados pelos produtores de QMA como única forma de garantir produto seguro para consumo humano.^{28,29} Além disso, essas agroindústrias exigem um maior monitoramento pelos inspetores agropecuários sobre o controle sanitário do rebanho e a certificação do status de livre de brucelose, incluindo a vigilância ativa e a detecção do comércio informal de bovinos infectados com *Brucella*.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi apoiado pela EMBRAPA (SEG 06.11.01.012.00.00 e SEG 02.13.10.007.00.00) e pela FAPEMIG (números de outorgas CVZ-APQ-02746-14 e CVZ-PPM-00526-16).

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro JA. A evolução da tecnologia queijeira. Rev Inst Latic Cândido Tostes. 1958; 13:27-30.
2. Reis AR. Caracterização físico-química e identificação dos elementos metálicos dos queijos Minas do Serro e Minas da Serra da Canastra (dissertação). Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Univ Fed Minas Gerais. 1998; 96 pp.
3. Pires MCS. Memória e arte do Queijo do Serro: o saber sobre a mesa. Belo Horizonte: Editora UFMG. 2013; 200 pp.
4. EMATER. Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Minas Gerais. Queijo Minas Artesanal: tradição e qualidade que revelam Minas. Revista da EMATER – MG 2004; XXII:8-9.
5. Hartigan PJ. Human brucellosis epidemiology and clinical manifestations. Continuing Education. 1997; 50:15-7.
6. Verraes C, et al. A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. Int Dairy J. 2015; 50:32-44.
7. Ramos TRR, et al. Epidemiological aspects of an infection by *Brucella abortus* in risk occupational groups in the microregion of Araguaína, Tocantins. Braz J Infect Dis. 2008; 2:133-8.
8. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento Brasil. Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal (PNCEBT). Brasília: MAPA/SDA/DAS. 2006; 188 pp.
9. Sanger F, Coulson AR. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. J Mol Biol. 1975; 94:441-8.
10. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. Proc Natl Acad Sci USA. 1977; 74:5463-7.
11. Altschul SF, et al. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990; 215:403-10.
12. Gonçalves VSP, et al. Situação epidemiológica da brucelose bovina no estado de Minas Gerais. Arq Bras Med Vet Zootec. 2009; 61:35-45.
13. Miyashiro S, et al. Detection of *Brucella* DNA in ilegal cheese from São Paulo and Minas Gerais and differentiation of B19 vaccinal strain by means of the polymerase chain reaction (PCR). Braz J Microbiol. 2007; 38:17-22.
14. Minas Gerais. Decreto nº 42.645, de 05 de Junho de 2002. Aprova o Regulamento da Lei nº 14.185, de 31 Janeiro de 2002, que dispõe sobre o Processo de Produção de Queijo Minas Artesanal. Belo Horizonte: Minas Gerais.
15. Nevot A, et al. Recherches sur les conditions de survie des bactéries pathogènes dans les fromages à pâte molle. Ann Inst Pasteur. 1962; 103:128-34.
16. Plommet M, et al. Survival of *Brucella abortus* in ripened soft cheese made from naturally infected cow's milk. Le Lait. 1988; 68:115-20.
17. Santiago-Rodríguez MR, et al. Survival of *Brucella abortus* aqpx mutant in fresh and ripened cheeses. Foodborne Path Dis. 2015; 12:170-5.

18. Dores MT. Queijo Minas Artesanal da Canastra maturado à temperatura ambiente e sob refrigeração [tese]. Viçosa, Minas Gerais, Brasil. Universidade Federal de Viçosa. 2007; 91 pp.
19. Martins JM. Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do Queijo Minas Artesanal da região do Serro [tese]. Viçosa, Minas Gerais, Brasil: Universidade Federal de Viçosa. 2006; 129 pp.
20. Corbel MJ. Brucellosis in humans and animals. Geneva: World Health Organization Library. 2006; 102 pp.
21. Soares Filho PM, et al. Confirmação de infecção por Brucella abortus em um rebanho bovino certificado livre em Minas Gerais: relato de caso. Arq Bras Med Vet Zootec. 2012; 64:1133-6.
22. Ning P, et al. Short communication: evaluation of Brucella infection of cows by PCR detection of Brucella DNA in raw milk. J Dairy Sci. 2012; 95:4863-7.
23. Ota ETS. Detecção de Brucella abortus em produtos lácteos produzidos em Santa Catarina pela técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real [dissertação]. Florianópolis, Santa Catarina, Brasil: Universidade Federal de Santa Catarina. 2013; 67 pp.
24. Poulsen KP, et al. Short Report: Brucellosis in Dairy Cattle and Goats in Northern Ecuador. Am J Trop Med Hyg. 2014; 4:712-5.
25. Román JR, et al. Case Report: First Report of Orchitis in Man Caused by Brucella abortus Biovar 1 in Ecuador. Am J Trop Med Hyg. 2012; 3:524-8.
26. Román K, et al. A Foodborne Outbreak of Brucellosis at a Police Station Cafeteria, Lima, Peru. Am J Trop Med Hyg. 2013; 88:552-8.
27. Bezerra SS. Detecção da Brucella spp. em queijos de coalho produzidos com leite cru [tese]. Recife, Pernambuco, Brazil; 2014.
28. Poester FP, Gonçalves VSP, Lage AP. Brucellosis in Brazil. Vet Microbiol. 2002; 90:55-62.
29. Poester F, et al. Estudos de prevalência da brucelose bovina no âmbito do Programa Nacional de Controle e Erradicação de Brucelose e Tuberculose: introdução. Arq Bras Med Vet Zootec. 2009; 61(supl. 1):1-5.

Outbreak-Related Disease Burden Associated with Consumption of Unpasteurized Cow's Milk and Cheese, United States, 2009–2014

Solenne Costard, Luis Espejo, Huybert Groenendaal, Francisco J. Zagmutt

The growing popularity of unpasteurized milk in the United States raises public health concerns. We estimated outbreak-related illnesses and hospitalizations caused by the consumption of cow's milk and cheese contaminated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Campylobacter* spp. using a model relying on publicly available outbreak data. In the United States, outbreaks associated with dairy consumption cause, on average, 760 illnesses/year and 22 hospitalizations/year, mostly from *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. Unpasteurized milk, consumed by only 3.2% of the population, and cheese, consumed by only 1.6% of the population, caused 96% of illnesses caused by contaminated dairy products. Unpasteurized dairy products thus cause 840 (95% CrI 611–1,158) times more illnesses and 45 (95% CrI 34–59) times more hospitalizations than pasteurized products. As consumption of unpasteurized dairy products grows, illnesses will increase steadily; a doubling in the consumption of unpasteurized milk or cheese could increase outbreak-related illnesses by 96%.

Consumer demand for organic and natural foods (i.e., minimally processed foods) has been on the rise (1). However, in contrast to some perceptions (2), natural food products are not necessarily safer than conventional ones, as evidenced by higher rates of foodborne illnesses associated with unpasteurized dairy products (3–6). Pasteurization has greatly reduced the number of foodborne illnesses attributed to dairy products, and continuous efforts to reduce milk contamination pre- and post-pasteurization are further decreasing the disease burden (3). Yet, despite a decrease in dairy consumption in the United States (7), recent studies (3,6) suggest that over the past 15 years the number of outbreaks associated with unpasteurized dairy products has increased. In parallel with this increase, an easing of regulations has

facilitated greater access of consumers to unpasteurized milk (e.g., through farm sales or cow share programs). The number of states where the sale of unpasteurized milk is prohibited decreased to 20 in 2011 from 29 in 2004 (8–10). This trend toward increased availability of unpasteurized dairy products raises public health concerns, especially because raw milk consumers include children (2,4,6).

Our study aimed at estimating the outbreak-related disease burden associated with the consumption of fluid cow's milk and cheese made from cow's milk (herein also referred to as milk and cheese or dairy products) that are unpasteurized and contaminated with *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC), and *Listeria monocytogenes*. We also assessed how hypothetical increases in unpasteurized dairy consumption would affect this outbreak-related disease burden.

Methods

Data Sources

We used outbreak data from the National Outbreak Reporting System (NORS) (11) to estimate the incidence rates of illnesses and hospitalizations. NORS is a web-based platform that stores data on all foodborne disease outbreaks reported by local, state, and territorial health departments in the United States that have occurred since 2009. We included all outbreaks that occurred during 2009–2014 in which the confirmed etiologic agents were any of the 4 pathogens of interest (*Campylobacter* spp., *Salmonella* spp., STEC, and *L. monocytogenes*) and the implicated food vehicle or contaminated ingredient was milk or cheese (Figure 1). Outbreaks associated with multiple products; processed dairy products other than milk and cheese (e.g., cream, butter, yogurt, and kefir); milk produced by species other than cows; and cheese originating from species other than cows were excluded from the analysis (online Technical Appendix 1, <https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/23/6/15-1603-Techapp1.xlsx>).

Author affiliations: EpiX Analytics, Boulder, Colorado, USA (S. Costard, H. Groenendaal, F.J. Zagmutt); Consultant, St. Augustine, Florida, USA (L. Espejo)

DOI: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2306.151603>

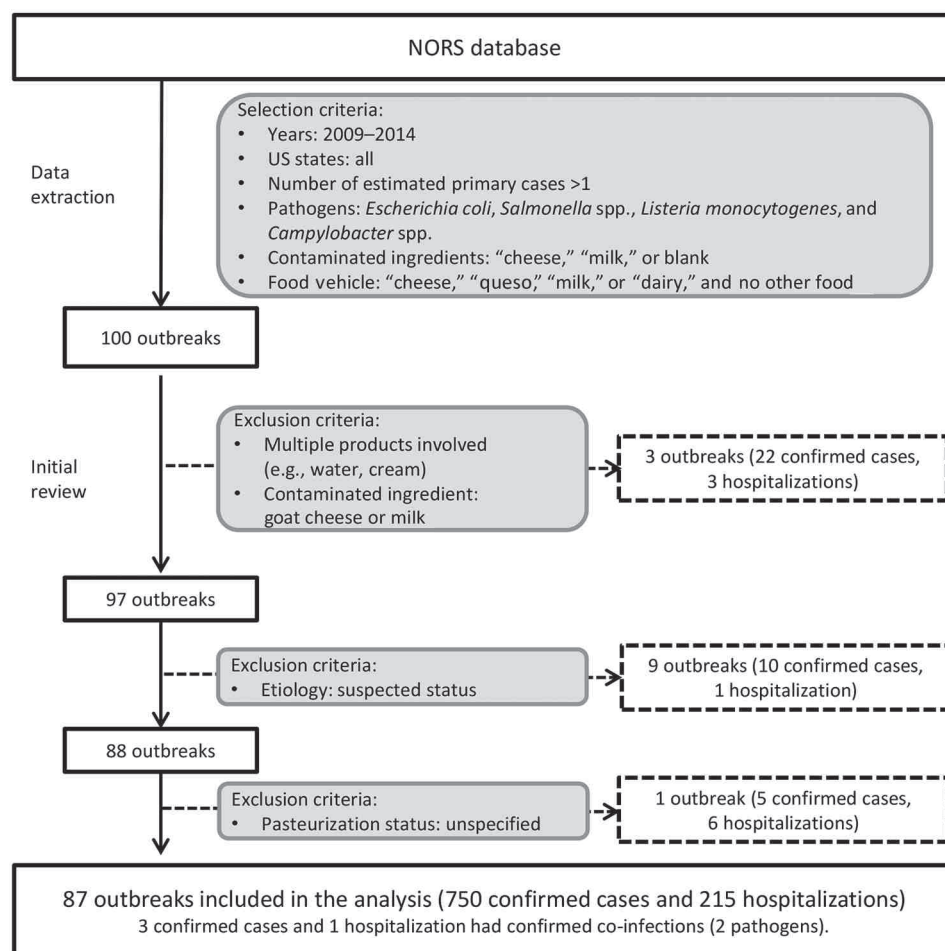


Figure 1. Process for selecting US outbreaks associated with cow's milk and cheese, 2009–2014. Laboratory-confirmed cases are cases with illness in which a specimen was collected and a laboratory was able to confirm the pathogen(s) or agent(s) causing illness. Hospitalizations are cases in which the patient was hospitalized as a result of becoming ill during the outbreak. NORS, National Outbreak Reporting System.

In addition, outbreaks with a suspected etiology status or associated with a dairy product with an unknown pasteurization status were excluded.

The stochastic model (Figure 2) was developed to estimate the following: the incidence rates of illness and hospitalization for pasteurized and unpasteurized dairy products, the excess risk associated with unpasteurized milk and cheese consumption, and the effect potential increases in consumption of unpasteurized dairy products would have on the outbreak-related disease burden (online Technical Appendix 2 Tables 1–5, <https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/23/6/15-1603-Techapp2.pdf>). Inputs (other than the outbreak data) used in the stochastic model were derived from readily available sources of information (online Technical Appendix 2). Dairy consumption estimates were derived from the Foodborne Active Surveillance Network (FoodNet) Population Survey (12).

Estimation of the Incidence of Outbreak-Related Illnesses and Hospitalizations

We modeled the uncertainty of the pathogen-specific and pasteurization status-specific incidence rates of illness and

hospitalization (λ) in the United States per serving of dairy product using a conjugate gamma distribution (13). The number of hospitalizations and laboratory-confirmed cases occurring during the study period (2009–2014) that were caused by a given pathogen after consumption of milk or cheese of a certain pasteurization status was obtained from the NORS database. For laboratory-confirmed cases, this number was adjusted for underreporting, under testing (only a proportion of suspected cases were sampled and tested), and underdiagnosis (based on diagnostic test sensitivity), in order to estimate illnesses for 2009–2014. These pathogen-specific factors were assumed to be independent of the product consumed and its pasteurization status, and constant for the years considered. The analysis did not include adjustment factors for potential misclassification in terms of etiology or pasteurization status. These 2 outbreak characteristics were carefully reviewed, and any outbreak for which the information could not be verified was excluded. It was thus assumed that etiology and pasteurization status misclassifications were negligible in this analysis.

Because NORS is a passive surveillance system, the inherent underreporting associated with it needed to be accounted for. We estimated an underreporting factor by

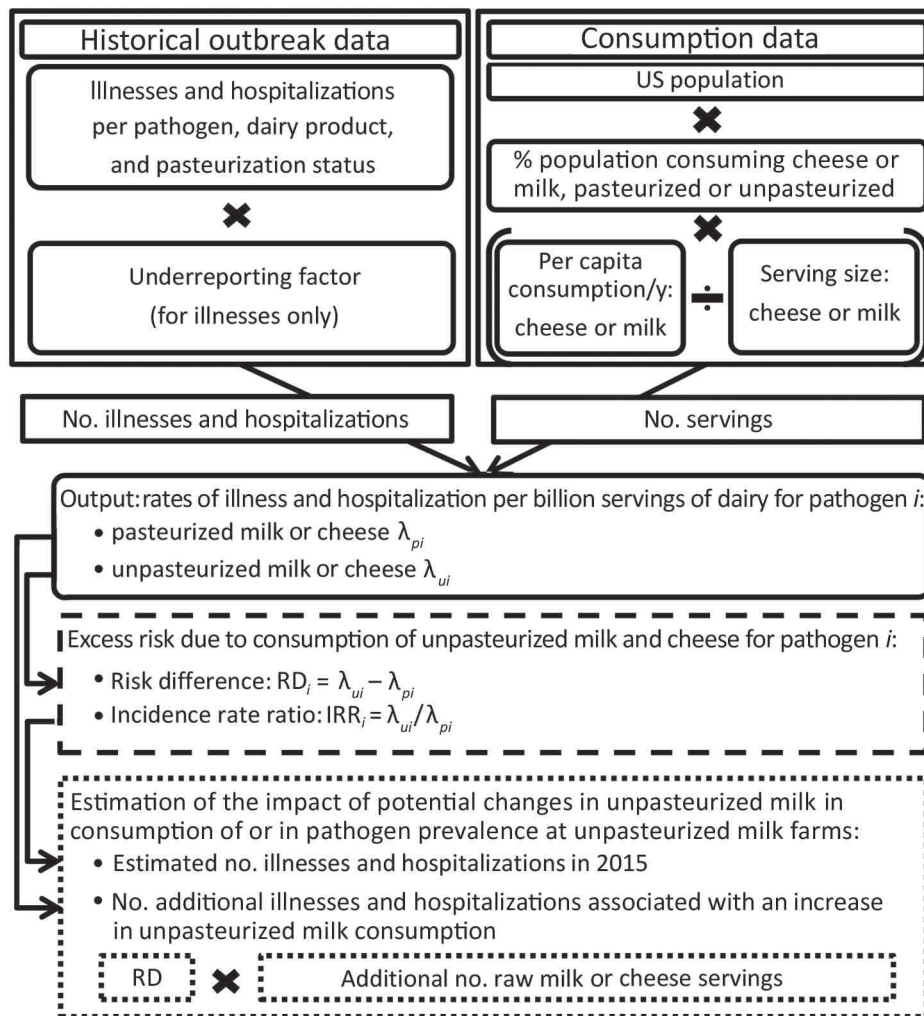


Figure 2. Stochastic model used to estimate the excess risk of outbreak-related illnesses and hospitalization due to unpasteurized dairy product consumption in the United States, 2009–2014. Model contains 3 main components: estimation of the incidence rates of illness and hospitalization for pasteurized and unpasteurized dairy products (elements in the boxes with solid lines), estimation of the excess risk associated with unpasteurized milk or cheese consumption (elements in box with dashed lines), and evaluation of the impact of hypothetical changes in consumption of unpasteurized dairy products (elements in boxes with dotted lines).

using FoodNet data, which is an active surveillance system assumed to include virtually all identified cases (online Technical Appendix 2). First, we extrapolated the total number of laboratory-confirmed cases in the US population during 2009–2013 using the incidence rates reported by FoodNet and considering the proportions of the US population included in FoodNet surveillance sites (14). Second, we estimated the total number of outbreak-related cases using the fraction of the US laboratory-confirmed cases that were outbreak-related (15). Third, we extracted the proportion of outbreak-related illnesses attributable to dairy (16). Fourth, we calculated the ratio of the number of outbreak-related, laboratory-confirmed cases linked to dairy consumption derived from the previously described calculations and the number of dairy-related, laboratory-confirmed cases reported through NORS to use as the underreporting factor in the analysis (online Technical Appendix 2). When estimating the underreporting factor, we assumed that the FoodNet surveillance population and reporting practices were representative of the entire United

States and that the food source attribution pertaining to the illnesses from confirmed and suspected outbreaks (16) were equally relevant to laboratory-confirmed cases from outbreaks of confirmed status only. We used the sensitivity of the diagnostic tests as described in Scallan et al. (15) to estimate the proportion of false-negative, laboratory-confirmed cases from NORS (underdiagnosis factor). Finally, we derived the under-testing factor by using the ratio of laboratory-confirmed primary cases to the estimated total number of primary illnesses reported to NORS (17).

The annual number of servings of milk or cheese of a given pasteurization status was calculated as the product of the number of servings of milk or cheese per person for a certain year, the resident population in the United States for that year (18) and the percentage of the population of dairy consumers that consume milk or cheese of a particular pasteurization status. The annual per capita consumption of a given dairy product (19) was divided by its average serving size (i.e., the amount of milk or cheese that is generally served) (7,20,21) to estimate the annual per capita number

of servings of milk and cheese. These totals were then summed across the years of the study period. The per capita consumption data (19) were assumed to include both pasteurized and unpasteurized dairy products. Because unpasteurized dairy products constitute a small percentage of the total consumption, this assumption (if inaccurate) would likely have only a small effect on results. We also hypothesized that the serving sizes (7,20,21) were the same for pasteurized and unpasteurized dairy products.

The estimates of the proportion of dairy consumers that consume milk or cheese of a given pasteurization status were derived from the FoodNet Atlas of Exposure (12). Answers from this FoodNet survey are provided as aggregates per survey site, rather than per respondent. Therefore, answers regarding milk and cheese consumption were treated as independent. In addition, we assumed that respondents who reported consumption of unpasteurized milk or cheese did not consume pasteurized milk or cheese. Because the information to calculate the overall proportion of the US population consuming any type of cheese was unavailable, we assumed it to be equal to the proportion of the population reporting consumption of any cheese sold as or cut from solid blocks (i.e., the type of cheese consumed most commonly). We further assumed the proportion of the US population consuming unpasteurized cheese to be equal to the proportion reporting exposure to any cheese made from unpasteurized milk in the previous 7 days.

Estimation of the Excess Risks Attributed to the Consumption of Unpasteurized Milk and Cheese

We estimated the additional risks for illness and hospitalization for consumers of unpasteurized dairy products compared with consumers of pasteurized ones. We calculated excess risk using 1) risk difference (RD), which measures the absolute difference in the observed risks for illness and hospitalization between consumers of unpasteurized dairy products and consumers of pasteurized ones, and 2) incidence rate ratio (IRR), which provides a relative comparison of the risks for illness and hospitalization between the 2 exposure groups (22).

Effects of Hypothetical Changes in Consumption of Unpasteurized Milk or Cheese

We assessed the potential public health effects of hypothetical changes in unpasteurized milk consumption. We determined the number of illnesses in 2015 in the United States using the pathogen-specific rates of illnesses and hospitalizations per serving of dairy product. The number of hospitalizations was calculated as pathogen-specific fractions of these illnesses. The pathogen-specific probabilities of hospitalization in cases of illness were assumed unconditional on the pasteurization status of the dairy product involved, but rather dependent on the severity of illness (23,24).

We estimated the additional illnesses and the additional hospitalizations for each pathogen if a hypothetical increase in consumption of unpasteurized milk or cheese occurred using 1) the change in the proportion of the population consuming unpasteurized milk or cheese, 2) the number of servings of milk or cheese for 2015, and 3) the risk difference in illnesses per serving of dairy for that pathogen. We assumed that the overall proportion of the US population consuming milk or cheese did not change; therefore, the increase in the proportion of the US population consuming unpasteurized milk or cheese corresponded to a shift of dairy consumers from pasteurized to unpasteurized. Six hypothetical scenarios were considered: 10%, 20%, 50%, 100%, 200%, and 500% increases in the proportion of the US population consuming unpasteurized milk or cheese.

Scenario and Sensitivity Analyses

We performed a sensitivity analysis to identify the parameters that most influenced our estimates. The sensitivity of the estimates to the input parameter uncertainties was calculated by using conditional means as implemented in @RISK 6.1.2 (Palisade Corporation, Ithaca, NY, USA). In addition, we assessed the robustness of our sensitivity analysis with a scenario analysis in which we calculated our estimates with different sets of outbreak data. For the main analysis, the model was run on outbreaks of confirmed etiology and pasteurization status. In the scenario analysis, the model was then re-run with either of the 2 following sets of outbreaks added to the main data set: outbreaks of suspected etiology status (17) and outbreaks involving dairy products of unspecified pasteurization status assumed to be caused by pasteurized dairy products.

Model Implementation

The model was developed in Excel 2010 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) with the Monte-Carlo simulation add-in @RISK 6.1.2. Results are expressed as means and 95% credibility intervals (CrIs, a Bayesian equivalent to the confidence interval) or prediction intervals (PIs, which provides uncertainty bounds for predictions), unless stated otherwise.

Results

Incidence Rates and Increased Risks Associated with the Consumption of Unpasteurized Milk and Cheese

We used a total of 87 outbreaks causing 750 laboratory-confirmed illnesses and 215 hospitalizations in this analysis (Table 1). The incidence rates of STEC, *Salmonella* spp., and *Campylobacter* spp. illnesses and hospitalizations per 1 billion servings were higher for unpasteurized dairy product consumers than for pasteurized dairy product consumers. Illnesses and hospitalizations caused by *L. monocytogenes*

Table 1. Dairy-related illnesses and hospitalizations from 87 outbreaks, National Outbreak Reporting System, United States, 2009–2014*

Pathogen	Outbreaks associated with milk and cheese consumption, N = 87†					
	Pasteurized			Unpasteurized		
	Outbreaks	Illnesses	Hospitalizations	Outbreaks	Illnesses	Hospitalizations
STEC	0	0	0	14‡	99	42
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0	8§	83	29
<i>Listeria monocytogenes</i>	10	100	87	1	1	1
<i>Campylobacter</i> spp.	1	2	0	53‡§	465	56
Overall	11	102	87	76	648	128

*Illnesses and hospitalizations had confirmed etiologies and were associated with the consumption of milk or cheese of known pasteurization status.

STEC, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

†Out of the 87 outbreaks, 10 outbreaks reported a total of 17 deaths, 16 of them were linked to *L. monocytogenes* and 1 to *Campylobacter* spp.

‡One outbreak (38 illnesses and 10 hospitalizations) had 3 cases with confirmed coinfection (STEC and *Campylobacter* spp.). These 3 cases were duplicated because they were assigned to each pathogen.

§One outbreak (4 illnesses and 1 hospitalization) involved 2 pathogens: 3 illnesses and 1 hospitalization were linked to *Campylobacter* spp. and 1 illness and 0 hospitalizations were linked to *Salmonella* spp.

infections were more often attributed to the consumption of pasteurized cheese than unpasteurized cheese (Table 2). Assuming no change in the consumption of unpasteurized dairy, dairy products contaminated with STEC, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, and *Campylobacter* spp. were predicted to cause 761 (95% PI 598–994) outbreak-related illnesses and 22 (PI 13–32) hospitalizations in 2015. Unpasteurized dairy products caused 96% (PI 94%–98%) of these illnesses.

We calculated the excess risk attributable to the consumption of unpasteurized milk and cheese (Table 2; Figure 3). Because no reported illnesses were caused by *Salmonella* spp. and STEC during 2009–2014 and no hospitalizations were caused by *Campylobacter* spp., the corresponding incidence rates were extremely low (Table 2). Therefore, only RDs (and not IRRs) were reported for these pathogens. If all milk and cheese consumed were pasteurized, an average of 732 (95% PI 570–966) illnesses and 21 (95% PI 12–32) hospitalizations would be prevented per year in the United States. Of these prevented cases, 54% would be salmonellosis and 43% campylobacteriosis. The mean IRR of illnesses was 838.8 (95% CrI 611.0–1,158.0) overall from all 4 pathogens of interest (Figure 3), with 0.4 (95% CrI 0–1.2) from *L. monocytogenes* and 7,601 (95% CrI 3,711–15,346) from *Campylobacter* spp. The rate of hospitalization was higher

for unpasteurized dairy consumers than for pasteurized dairy consumers (mean IRR 45.1, 95% CrI 33.7–59.2), with an IRR of 0.5 (95% CrI 0–1.7) for *L. monocytogenes*.

Effects of Hypothetical Scenarios

If the percentage of unpasteurized milk consumers in the United States were to increase to 3.8% and unpasteurized cheese consumers to 1.9% (i.e., an increase of 20%), the number of illnesses per year would increase by an average of 19% and the number of hospitalizations by 21%. If the percentages of unpasteurized milk and cheese consumers were to double, the number of illnesses would increase by an average of 96%, and the number of hospitalizations would increase by 104%, resulting in an additional 733 (95% PI 571–966) illnesses/year and 22 (95% PI 13–32) hospitalizations/year, which corresponds to a total of 1,493 (95% PI 1,180–1,955) illnesses/year (Figure 4), most caused by *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp.

Scenario and Sensitivity Analyses

The following conditional means sensitivity analysis reports the change in the output mean if the input variable is set to its 5th and 95th percentiles while other inputs are sampled at random. The rates of illnesses (λ) caused by the

Table 2. Incidence rates and risk differences for illness and hospitalization per 1 billion servings of milk or cheese, by pasteurization status and pathogen, United States, 2009–2014*

Pathogen	Illnesses			Hospitalizations		
	Unpasteurized	Pasteurized	Risk difference†	Unpasteurized	Pasteurized	Risk difference†
STEC	3.5 (2.7–4.5)	3.4×10^{-4} (3.1×10^{-7} to 1.7×10^{-3})	3.5 (2.7 to 4.5)	0.9 (0.6 to 1.2)	3.4×10^{-4} (3.0×10^{-7} to 1.7×10^{-3})	0.9 (0.6 to 1.2)
<i>Salmonella</i> spp.	49.1 (32.7–76.7)	3.4×10^{-4} (3.3×10^{-7} to 1.7×10^{-3})	49.1 (32.7 to 76.7)	0.6 (0.4 to 0.9)	3.5×10^{-4} (3.4×10^{-7} to 1.7×10^{-3})	0.6 (0.4 to 0.9)
<i>Listeria monocytogenes</i>	0.04 (0.003–0.100)	0.1 (0.08 to 0.12)	–0.06 (–0.11 to 0.02)	0.03 (2.2×10^{-3} to 0.1)	0.06 (0.05 to 0.07)	–0.03 (–0.06 to 0.04)
<i>Campylobacter</i> spp.	39.0 (30.8–48.3)	5.8×10^{-3} (2.4×10^{-3} to 1.1×10^{-2})	39.0 (30.8 to 48.3)	1.2 (0.9 to 1.5)	3.5×10^{-4} (3.5×10^{-7} to 1.7×10^{-3})	1.2 (0.9 to 1.5)
Overall	91.7 (71.8–120.9)	0.11 (0.09 to 0.13)	91.6 (71.7 to 120.8)	2.7 (2.2 to 3.3)	6.1×10^{-2} (4.9×10^{-2} to 7.5×10^{-2})	2.7 (2.2 to 3.2)

*Values are shown as mean incidence (95% credibility interval). STEC, Shiga toxin-producing *Escherichia coli*.

†Excess risk is attributable to unpasteurized dairy.

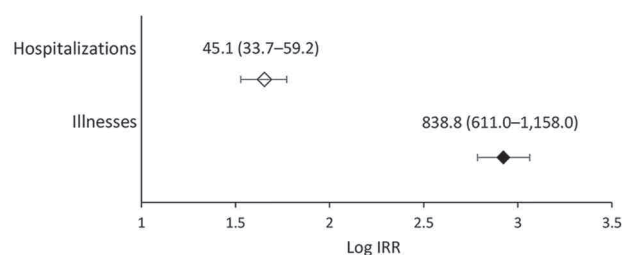


Figure 3. Forest plot showing, on a logarithmic scale, the excess risk for outbreak-related illnesses and hospitalizations caused by consumption of pasteurized and unpasteurized milk and cheese, United States, 2009–2014. Markers indicate mean log IRR of outbreak-related illnesses and hospitalizations caused by the food pathogens *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* per 1 billion servings of unpasteurized milk or cheese relative to pasteurized products. Error bars indicate 95% credibility interval (CrI). Numbers above markers and bars are the IRR (not in log scale) and 95% CrI. log (IRR) = 0 indicates no difference in incidence rates between unpasteurized and pasteurized milk and cheese. IRR, incidence rate ratio.

consumption of unpasteurized milk and cheese were most sensitive to the underreporting factors (γ) for *Salmonella* spp. (mean range λ 34.9–72.5), *Campylobacter* spp. (mean range λ 33.1–45.3), and STEC (mean range λ 3.1–4.1), and at a secondary level to the underreporting (ρ) and underdiagnosis (μ) factors (results not shown). The overall IRR of illnesses was most sensitive to the underreporting factor for *Salmonella* spp. (mean range IRR 710.1–1,049.6). The number of illnesses per year caused by the consumption of milk or cheese was most sensitive to the rates of illnesses caused by *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp., as the main uncertainties apply to the incidence calculations for all pathogens (results not shown). Including the 9 outbreaks with a suspected-etiology status or the outbreak of unspecified pasteurization status (Figure 1) into the main analysis did not change the IRRs or the predicted number of illnesses or hospitalizations per year (results not shown).

Discussion

Unpasteurized dairy products are responsible for almost all of the 761 illnesses and 22 hospitalizations in the United States that occur annually because of dairy-related outbreaks caused by STEC, *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, and *Campylobacter* spp. More than 95% of these illnesses are salmonellosis and campylobacteriosis. Consumers of unpasteurized milk and cheese are a small proportion of the US population (3.2% and 1.6%, respectively), but compared with consumers of pasteurized dairy products, they are 838.8 times more likely to experience an illness and 45.1 times more likely to be hospitalized. Illnesses caused by *L. monocytogenes*, however, were found to be more often associated with the consumption of

pasteurized cheese, albeit only causing 1 additional outbreak-related illness per year on average.

An easing of regulations has allowed greater access to unpasteurized milk in recent years (8–10), and this study shows that illnesses and hospitalizations will rise as consumption of unpasteurized dairy products increases. If such consumption were to double, the mean number of outbreak-related illnesses that occur every year would increase by 96%. Most unpasteurized dairy-related outbreaks are caused by pathogen contamination at the dairy farm (versus postpasteurization contamination for pasteurized products) (3); thus, one could assume that decreasing pathogen prevalence in bulk milk tanks on raw milk farms would help reduce illnesses. STEC has been found in 2.5% (95% CrI 0.1%–9.1%), *Salmonella* spp. in 4.6% (3.7%–5.6%), *L. monocytogenes* in 2.5% (0.1%–9.0%), and *Campylobacter* spp. in 4.7% (2.8%–7.0%) of bulk milk tanks on US raw milk farms (25–29). Given these low prevalences, strategies for further reduction are limited and involve multiple aspects of unpasteurized milk production (30). Boiling of milk before consumption seems to be a more realistic mitigation strategy, but this practice is unlikely to be implemented by unpasteurized dairy product advocates because it would affect the perceived benefits.

This study focused on the outbreak-related illnesses, which is only a fraction of all dairy-related illnesses in the United States. Two studies have documented the fraction of outbreak-related cases among FoodNet laboratory-confirmed cases (15,31); the fraction ranges from 0.5% for *Campylobacter* spp. to 19.0% for STEC according to Ebel et al. (31). These data suggest that the number of sporadic illnesses caused by contaminated dairy products in the United States might be much larger than that for outbreak-related illnesses. However, because of the lack of information on the characteristics of sporadic illnesses (such as food source attribution), we restricted the scope of this analysis to outbreak-related disease burden.

Our analysis relied on outbreak data from NORS (11), which is a passive reporting system affected by underreporting. We used dairy-related outbreak cases from FoodNet (14–16) as a comparison to estimate underreporting; therefore, any potential bias of this comparison was carried over to our estimation of outbreak-related illnesses. By extrapolating incidence rates of cases from the FoodNet catchment areas to the overall United States, we assumed that the FoodNet surveillance population and reporting practices were representative of the entire United States. However, the FoodNet catchment population represents only 15% of the US population from 10 nonrandom sites. Also, a recent study (31) suggested state-to-state variations in reporting practices; these variations might be even greater between FoodNet and non-FoodNet states. This difference might influence state-specific incidence rates or underreporting

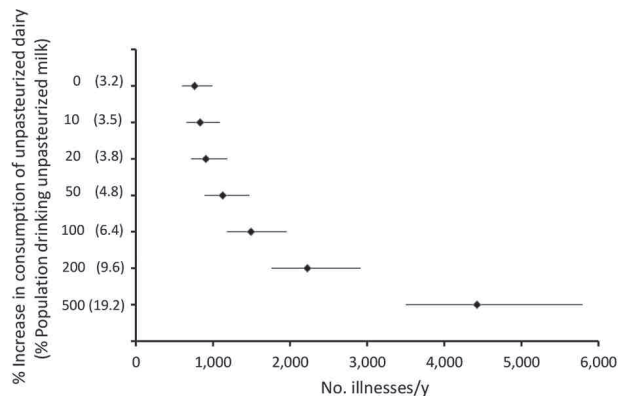


Figure 4. Number of dairy-related outbreak illnesses predicted per year in the United States if unpasteurized cow's milk and cheese consumption increases 0%, 10%, 20%, 50%, 100%, 200%, and 500%. Numbers in parentheses indicate percentage of total population consuming unpasteurized cow's milk. The illnesses graphed are those from outbreaks associated with cow's milk or cheese contaminated with Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Listeria monocytogenes*, and *Campylobacter* spp. Markers indicate means; bars indicate 95% prediction intervals. The consumption estimates were based on the year 2015, and a 0% increase corresponds to the current proportion of the US population consuming unpasteurized dairy products.

ratios, as well as other characteristics of the reported cases. For example, if a state reported the incriminated food source as the food item (e.g., homemade yogurt), it would not have been selected for inclusion in this analysis, but if they reported the ingredient used for preparation (e.g., in the case of homemade yogurt, fluid milk), it would have been included in our analysis. However, the size and direction of such biases and uncertainties associated with these complex surveillance systems (NORS and FoodNet) are difficult to quantify because of the paucity of data.

The rates of illnesses were most sensitive to the estimated underreporting factors, which were assumed to be associated with the severity of symptoms (23,24) and other factors, such as state health department resources, and thus independent of the pasteurization status. Also, because this analysis only considered outbreaks involving milk and cheese (and no other dairy products), we are probably underestimating the incidence of illnesses and hospitalizations. However, milk and cheese are the most commonly consumed dairy sources and cause the most outbreaks (milk and cheese caused 99% of dairy-related outbreaks reported to NORS during the study period), so the underestimation is likely limited. Nonetheless, the overall comparison of risk between consumers of pasteurized and unpasteurized products should remain valid.

Estimates of the proportion of the population consuming dairy products were derived from the FoodNet population survey (12). We assumed that respondents who reported consumption of unpasteurized milk or cheese were not consuming pasteurized dairy. However, if unpasteurized milk

or cheese only represented a fraction of their dairy consumption, the number of servings of unpasteurized dairy products could have been overestimated, and thus the risk for consumers of unpasteurized dairy products might have been underestimated. Also, the FoodNet population survey is based on a relatively small convenience sample and might therefore not be accurate. For example, the self-reported estimates of consumption of unpasteurized milk and cheese (3.2% and 1.6%, respectively) (12) might be underestimates or overestimates, potentially caused by consumers confusing the terms raw, organic, and natural (or other reasons). In addition, consumption might have changed since the 2007 FoodNet population survey (12), which might have resulted in an under- or overestimation of the risk from unpasteurized milk products. However, because the proportion of dairy consumers using unpasteurized products remains small, and the IRRs are very large, this overestimation is likely limited, and the trend for additional illnesses as unpasteurized dairy consumption grows remains valid. Similarly, estimates of the consumption of pasteurized cheese are underestimates: data available only provide estimates of the highest exposure to a single type of cheese, rather than to any type of cheese (12), potentially resulting in a risk overestimation for consumers of pasteurized dairy products. This is a limitation, notably for outbreaks linked to queso fresco and other Mexican-style soft cheeses. Despite these limitations, to the authors' knowledge, this study is based on the best available data and builds upon other well accepted risk attribution methods (15,16,32).

In conclusion, outbreaks linked to the consumption of cow's milk and cheese were estimated to cause on average 761 illnesses and 22 hospitalizations per year in the United States. Unpasteurized products are consumed by a small percentage of the US dairy consumers but cause 95% of illnesses; the risk for illness was found to be >800 times higher for consumers of unpasteurized milk or cheese than for consumers of pasteurized dairy products. Therefore, outbreak-related illnesses will increase steadily as unpasteurized dairy consumption grows, likely driven largely by salmonellosis and campylobacteriosis.

Acknowledgments

The authors thank collaborators E. Hovingh, D.R. Wolfgang, and H. Lysczek for their valuable input on milk production and consumption. We also thank the anonymous reviewers for their helpful suggestions.

This work was supported in part by a United States Department of Agriculture Special Research Grant (no. 2010-34163-21179) and the Pennsylvania Agricultural Experiment Station.

Dr. Costard is an epidemiologist working as a senior consultant at EpiX Analytics in Boulder, Colorado. Her general research interests include risk analysis, simulation modeling, and

quantitative decision support tools; she has special interests in health risk management strategies and food safety.

References

- Food Marketing Institute. Natural and organic foods. Arlington (VA): Food Marketing Institute; 2008 [cited 2015 Sep 29]. <https://www.fda.gov/ohrms/dockets/dockets/06p0094/06p-0094-cp00001-05-Tab-04-Food-Marketing-Institute-vol1.pdf>
- Katafiasz AR, Bartlett P. Motivation for unpasteurized milk consumption in Michigan, 2011. *Food Prot Trends*. 2012; 32:124–8.
- Langer AJ, Ayers T, Grass J, Lynch M, Angulo FJ, Mahon BE. Nonpasteurized dairy products, disease outbreaks, and state laws—United States, 1993–2006. *Emerg Infect Dis*. 2012;18:385–91. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1803.111370>
- Robinson TJ, Scheffel JM, Smith KE. Raw milk consumption among patients with non-outbreak-related enteric infections, Minnesota, USA, 2001–2010. *Emerg Infect Dis*. 2014;20:38–44. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2001.120920>
- Claeys WL, Cardoen S, Daube G, De Block J, Dewettinck K, Dierick K, et al. Raw or heated cow milk consumption: review of risks and benefits. *Food Control*. 2013;31:251–62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.09.035>
- Mungai EA, Behraves CB, Gould LH. Increased outbreaks associated with nonpasteurized milk, United States, 2007–2012. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:119–22. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140447>
- Stewart H, Dong D, Carlson A. Why are Americans consuming less fluid milk? A look at generational differences in intake frequency, ERR-149. 2013 May [cited 2015 Sep 29]. https://www.ers.usda.gov/webdocs/publications/err149/37651_err149.pdf?v=41423
- National Association of State Departments of Agriculture. Raw milk survey, November, 2004 [cited 2016 Apr 29]. <http://www.nasda.org/File.aspx?id=1582>
- National Association of State Departments of Agriculture. NASDA releases raw milk survey. 2008 Apr 21 [cited 2016 Apr 29]. <https://view.officeapps.live.com/op/view.aspx?src=http%3A%2F%2Fwww.nasda.org%2FFile.aspx%3Fid%3D2149>
- National Association of State Departments of Agriculture. NASDA releases raw milk survey. 2011 Jul 19 [cited 2016 Apr 29]. <http://www.nasda.org/file.aspx?id=3916>
- Centers for Disease Control and Prevention. National Outbreak Reporting System (NORS). Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention; 2009 [cited 2016 Apr 29]. <https://www.cdc.gov/nors/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention. Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet) population survey atlas of exposures, 2006–2007. Atlanta (GA): Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention [cited 2016 Sept 29]. https://www.cdc.gov/foodnet/surveys/FoodNetExposureAtlas0607_508.pdf
- Gelman A, Carlin JB, Stern HS, Dunson DB, Vehtari A, Rubin DB. Bayesian data analysis. 3rd ed. London: CRC Press, Taylor & Francis Group; 2013.
- Centers for Disease Control and Prevention. Foodborne Diseases Active Surveillance Network (FoodNet). Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention. 2014 [cited 2016 Apr 29]. <https://www.cdc.gov/foodnet/index.html>
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, et al. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:7–15. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1701.P11101>
- Painter JA, Hoekstra RM, Ayers T, Tauxe RV, Braden CR, Angulo FJ, et al. Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998–2008. *Emerg Infect Dis*. 2013;19:407–15. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1903.111866>
- Centers for Disease Control and Prevention. NORS: National Outbreak Reporting System guidance. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention; 2012 [cited 2016 Apr 29]. https://www.cdc.gov/nors/pdf/NORS_Guidance_5213-508c.pdf
- United States Census Bureau. Population estimates. 2016 [cited 2016 Apr 29]. <https://www.census.gov/programs-surveys/popest.html>
- United States Department of Agriculture, Economic Research Service. Dairy data. 2014 [cited 2016 Apr 29]. http://www.ers.usda.gov/data-products/dairy-data.aspx#UqJ_meJrYh
- Sebastian RS, Goldman JD, Enns CW, LaComb RP. Fluid milk consumption in the United States: what we eat in America, NHANES 2005–2006. 2010 Sep [cited 2016 Sept 29]. https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400530/pdf/DBrief/3_milk_consumption_0506.pdf
- Innovation Center for US Dairy. Dairy's role in the diet: Cheese. 2013 [cited 2017 Apr 05]. <http://www.usdairy.com/DairyResearchInstitute/NHanes/Pages/Cheese.aspx>
- Gordis L. Epidemiology. 2nd ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000.
- Haas CN, Rose JB, Gerba CP. Quantitative microbial risk assessment. New York: John Wiley & Sons; 1999.
- Interagency Microbiological Risk Assessment Guideline work-group. Microbial risk assessment guideline: pathogenic organisms with focus on food and water. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service; Environmental Protection Agency; 2012 [cited 2015 Sept 29]. <https://www.epa.gov/sites/production/files/2013-09/documents/mra-guideline-final.pdf>
- Jayarao BM, Henning DR. Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. *J Dairy Sci*. 2001;84:2157–62. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74661-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74661-9)
- Jayarao BM, Donaldson SC, Straley BA, Sawant AA, Hegde NV, Brown JL. A survey of foodborne pathogens in bulk tank milk and raw milk consumption among farm families in Pennsylvania. *J Dairy Sci*. 2006;89:2451–8. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72318-9](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72318-9)
- Van Kessel JS, Karns JS, Gorski L, McCluskey BJ, Perdue ML. Prevalence of salmonellae, *Listeria monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *J Dairy Sci*. 2004;87:2822–30. [http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73410-4](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73410-4)
- Van Kessel JA, Karns JS, Lombard JE, Kopral CA. Prevalence of *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, and *Escherichia coli* virulence factors in bulk tank milk and in-line filters from U.S. dairies. *J Food Prot*. 2011;74:759–68. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-423>
- Jayarao BM, Hovingh. Raw milk—is it safe? In: American Dairy Science Association, American Society of Animal Science, Canadian Society of Animal Science. 2014 Joint Annual Meeting abstracts. *J Anim Sci*. 2014;92(E-Suppl 2):147; *J Dairy Sci*. 2014;97(E-Suppl 1):147.
- Hoenig DE. Raw milk production: guidelines for Maine licensed dealers. 2014 Sep 4 [cited 2015 Sep 29]. <http://umaine.edu/publications/1030e/>
- Ebel ED, Williams MS, Cole D, Travis CC, Klontz KC, Golden NJ, et al. Comparing characteristics of sporadic and outbreak-associated foodborne illnesses, United States, 2004–2011. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:1193–200. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2207.150833>
- Williams MS, Ebel ED, Vose D. Framework for microbial food-safety risk assessments amenable to Bayesian modeling. *Risk Anal*. 2011;31:548–65. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1539-6924.2010.01532.x>

Address for correspondence: Solenne Costard, EpiX Analytics, 1643 Spruce St, Boulder, CO 80302, USA; email: scostard@epixanalytics.com

Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação*

Evaluation of the Safety and Quality of Microbiological Handmade Cheese Serrano and its Relation to Physical and Chemical Variables the Period of Maturity

Fernanda Danielle Melo, Karine Andrezza Dalmina, Marcella Nunes Pereira, Márcio Vargas Ramella, Andre Thaler Neto, Eliana Knackfuss Vaz & Sandra Maria Ferraz

ABSTRACT

Background: The handmade cheese serrano is a typical product created on small farms in the states of Santa Catarina and Rio Grande do Sul. Its main feature is to be manufactured from raw. Due to the physico-chemical phenomena that occur during maturation, this process is the only way to eliminate the pathogenic microorganisms that may be present contaminating the cheese. The present study aimed to evaluate the safety of handmade cheeses by isolation and identification of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. and evaluate the microbiological quality through the isolation and quantification of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and total coliforms and relate the maturation time and variations physico-chemical with the contamination of handmade cheeses.

Materials, Methods & Results: The experiment was conducted using 108 samples of handmade cheese Serrano from the towns that make up the mountainous region of SC, with maturation periods of 15, 30, 45 and 60 days. In each of the stages of maturation were analyzed twenty seven samples of cheeses, for the presence of *Listeria monocytogenes* by the method USDA/2009 and *Salmonella* spp. methodology according to ISO 6579/2007. The identification and enumeration of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and total coliform was performed in plates petrifilm™. Physicochemical analyzes consisted of determining moisture, acidity, fat and protein. In this study was evaluated a total of 108 samples, of these 63 (58.33%) were positive for total coliforms, 64 (59.26%) were positive for *Escherichia coli* and 36 (33.33%) showed counts of *Staphylococcus aureus* over 10³ CFU / g. There was a decrease in the population of coliforms and *Escherichia coli* after 30 and 45 days of maturation, respectively. The enumeration of *Staphylococcus aureus* was not influenced by maturity period, however, there was a reduction in the count of this micro-organism from 15 to 45 days and after this period there was an increase in the population of the same. *Salmonella* spp. were not detected in any analyzed maturation periods. *Listeria* spp. were isolated in 21/108 (19.44%) of the samples analyzed, 18 (16.66%) were identified as *Listeria innocua* and three (2.77%) as *Listeria monocytogenes*. The isolation of *Listeria* spp. decreased from 30 days of ripening and *Listeria monocytogenes* isolated at 30 and 45 days of ripening. The physicochemical results found in this study are presented in a range of normal variation, the maturation period only influenced the fat content, where a significant decrease was observed from 15 to 30 days, and protein content which higher performed at the end of the period.

Discussion: The presence of total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* showed deficiency in hygiene procedures during manufacturing or storage of the cheeses and the presence of *Escherichia coli* indicates fecal contamination of food, suggesting that other enteropathogens may be present. The presence of *Listeria innocua* suggests that *Listeria monocytogenes* may be present contaminating the product. *Listeria monocytogenes* makes handmade cheese unfit for human consumption. Thus, it was not possible to check a minimum maturation period of handmade cheese with no or low count of micro-organisms evaluated. The great variation in the composition of the cheeses analyzed demonstrates the lack of standardization in the production of handmade cheese.

Keywords: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, total coliform.

Descritores: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, coliformes totais.

Received: 4 June 2013

Accepted: 17 September 2013

Published: 10 October 2013

*Artigo baseado na dissertação apresentada pelo primeiro autor como requisito parcial para obtenção do título de Mestre. Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA), Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV), Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), Lages, SC, Brazil. CORRESPONDENCE: F.D. Melo [femelovet@yahoo.com.br - Tel. +55 (49) 2101-9155]. CEDIMA - CAV, Universidade do Estado de Santa Catarina. Av. Luiz de Camões n. 2090, Bairro Conta Dinheiro. CEP 88520-000 Lages, SC, Brazil.

INTRODUÇÃO

O queijo artesanal serrano é um produto típico da região serrana de Santa Catarina fabricado desde a época do tropeirismo com uma receita passada de geração a geração, há aproximadamente duzentos anos [10].

Apesar de sua produção e comercialização ocorrerem às margens da legislação e da escassez de dados sobre sua qualidade microbiológica, este queijo é um produto extremamente difundido e consumido na região. Falhas no controle de boas práticas de fabricação podem resultar em um produto de má qualidade, devido ao risco de causar intoxicações e toxinfecções nos consumidores constituindo um problema para saúde pública [27]. Por ser fabricado a partir do leite cru, o queijo artesanal serrano pode conter micro-organismos patogênicos que podem estar presentes no leite ou contaminar o produto durante a sua fabricação [16].

Sendo assim, a única forma de eliminação ou diminuição até níveis permitidos pela legislação destes micro-organismos patogênicos é através do processo de maturação, o qual consiste em uma série de processos físicos, químicos e microbiológicos que desfavorecem o desenvolvimento de bactérias patogênicas. A legislação vigente permite que a maturação de queijos elaborados a partir de leite cru seja inferior a 60 dias. No entanto, destaca a necessidade de estudos a fim de comprovarem a melhor época de maturação [8].

O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica através da contagem de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e coliformes totais, a inocuidade com o isolamento e identificação de *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp., e as características físico-químicas do queijo artesanal serrano com diferentes estágios de maturação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas 108 amostras de queijos artesanais provenientes das cidades que compõem a região serrana e participam do programa de apoio aos queijos artesanais de Santa Catarina. As coletas foram realizadas em diferentes períodos aos 15, 30, 45 e 60 dias de maturação, sendo em cada período coletado 27 queijos. Após 15 dias de fabricação os queijos foram coletados nas propriedades de origem e os demais queijos produzidos, foram datados para que ocorresse a maturação no local de produção até os prazos das demais coletas. Em seguida os queijos foram acondi-

cionados em embalagens de papel craft e transportados dentro de caixas isotérmicas ao Centro de Diagnóstico Microbiológico Animal (CEDIMA) do Centro de Ciências Agroveterinárias - CAV/UDESC em Lages onde foram realizadas as análises microbiológicas.

No laboratório os queijos foram pesados e foi removido aproximadamente um cm de espessura da parte externa, sendo em seguida, retiradas assepticamente amostras de 25 e 10 g da parte interna. Posteriormente, os queijos foram encaminhados para as análises físico-químicas realizadas no Núcleo de Inspeção e Tecnologia de Alimentos (NUTA) do CAV/UDESC.

As amostras de 25 e 10 g foram adicionadas a 225 mL de água peptonada tamponada 1% (APT) estéril e 90 mL de caldo University of Vermont (UVM), respectivamente, ambas homogeneizadas em Stomacher¹ por 2 min. As diluições foram realizadas a partir da APT 1% em tubos contendo 9 mL de solução salina (0,85%) estéril, para contagem de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Logo após homogeneizadas, as amostras foram submetidas aos protocolos de identificação e quantificação segundo Silva *et al.* [26], no qual placas de Petrifilm² foram incubadas seguindo as instruções do fabricante e o resultado foi obtido pela contagem das colônias e expresso em UFC/g de acordo com a diluição.

As pesquisas de *Salmonella* spp. e *Listeria* spp. foram conduzidas segundo Silva *et al.* [26]. Para *Salmonella* spp. seguiu-se a International Organization for Standardization - ISO 6579 (2007) que consiste em: pré-enriquecimento em caldo não seletivo, enriquecimento em caldo seletivo e plaqueamento seletivo diferencial. A partir do plaqueamento diferencial foram separadas três colônias típicas e purificadas em Triple Sugar Agar (TSA), em seguida prosseguiu-se com coloração de Gram e confirmação bioquímica do agente através das provas de: Triple Sugar Iron (TSI), Lisin Iron Agar (LIA), urease, citrato e Sulphide Indol Motility (SIM).

Para *Listeria monocytogenes* seguiu-se a United States Department of Agriculture - USDA (2009) que consiste em: enriquecimento seletivo primário, enriquecimento seletivo secundário e plaqueamento seletivo diferencial. Em seguida três colônias típicas de *L. monocytogenes* foram purificadas em placas com Trypticase Soy Agar com Yeast Extract (TSA- YE) para realização da coloração de Gram e confirmação bioquímica através dos testes de catalase, CAMP Test,

TSI, Vermelho de Metila e Voges Proskauer (VM/VP), SIM, manitol, ramanose, xilose e esculina. Para realização do CAMP Test foram utilizadas as cepas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) e *Rhodococcus equi* (ATCC 6939). Os isolados identificados foram enviados para sorotipificação na Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

L. monocytogenes (ATCC 7644), *Salmonella* sp. (ATCC 8327), *S. aureus* (ATCC 29213) e *E. coli* (ATCC 25922) foram utilizadas como controle de todos os procedimentos.

Análises físico-químicas consistiram na determinação de umidade, acidez, gordura e proteína segundo a Instrução Normativa nº 68 de dezembro de 2006 [7]. Os valores encontrados no presente estudo foram comparados com valores de referência do Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos, padronizados pela RDC nº 12 [6] da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e analisados estatisticamente pelo teste de Qui-quadrado (χ^2), utilizando-se o pacote estatístico SAS ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS

No presente trabalho avaliou-se um total de 108 amostras, destas 63 (58,33%) foram positivas para coliformes totais e 64 (59,26%) positivas para *Escherichia coli* (Tabela 1). Observou-se uma diminuição da população de coliformes totais e *E. coli* após 30 e 45 dias de maturação, respectivamente.

Das 108 amostras 37 (34,26%) e 39 (36,11%) apresentaram contagens acima de 10^3 UFC/g para coliformes totais e *Escherichia coli*, respectivamente (Tabela 1). Sendo que com um ponto de corte de 10^3 UFC/g (valor estabelecido como máximo para coliformes termotolerantes a 45°C pela legislação vigente),

houve uma diminuição significativa na população de *E. coli* após 30 dias de maturação (Tabela 1).

Trinta e seis das 108 (33,33%) amostras analisadas exibiram contagens de *Staphylococcus aureus* acima de 10^3 UFC/g (valor estabelecido como máximo pela legislação vigente para *Staphylococcus coagulase* positiva). Foi observada uma diminuição na contagem deste micro-organismo dos 15 aos 45 dias e após este período houve um aumento na população do mesmo (Tabela 1).

Em nenhum dos períodos analisados foi possível detectar a presença de *Salmonella*. *Listeria* spp. foram isoladas em 21/108 (19,44%) das amostras analisadas, sendo 18 (16,66%) identificadas como *L. innocua* e três (2,77%) como *L. monocytogenes* (Tabela 1). O isolamento de *Listeria* spp. diminuiu a partir de 30 dias de maturação, sendo *L. monocytogenes* isolada aos 30 e 45 dias.

A sorotipagem das cepas identificadas (Tabela 1) indicou a presença de quatro diferentes sorovares entre eles: *Listeria monocytogenes* 1/2b e 4b e *L. innocua* 6a e 6b. No presente estudo não foi possível estabelecer um período apropriado de maturação, porém aos 60 dias o queijo apresentou-se mais seguro, uma vez que, aos 45 dias de maturação foi isolado *L. monocytogenes*.

Os resultados físico-químicos encontrados neste estudo (Tabela 2) apresentam-se dentro de uma faixa de variação normal, pois a maioria dos coeficientes de variação encontra-se com valores próximos a 30%, o que é considerado normal para respostas obtidas na área biológica [23]. Foi observado um aumento da acidez após 30 dias (Tabela 2) de maturação. O período de maturação influenciou apenas o teor de gordura, em que se observou uma diminuição significativa dos 15 para os 30 dias e o teor de proteína o qual se apresentou mais alto ao final do período.

Tabela 1. Frequência do isolamento de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* acima de 10^3 UFC/g e isolamento e identificação de *Salmonella*, *Listeria* spp. e *Listeria monocytogenes* de queijos artesanais produzidos na região serrana de Santa Catarina no período entre outubro a dezembro de 2011.

Dias de Maturação	coliformes totais	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>Listeria</i> spp.*	<i>L. monocytogenes</i>
15	10/27 (9,26%) ^a	15/27 (13,89%) ^a	13/27 (12,04%) ^a	0/27	6/27 (22,22%)	0/27
30	13/27 (12,04%) ^a	10/27 (9,26%) ^a	10/27 (9,26%) ^a	0/27	6/27 (22,22%)	1/27 (3,70%)4b**
45	7/27 (6,48%) ^a	9/27 (8,33%) ^b	4/27 (3,70%) ^a	0/27	5/27 (18,51%)	2/27 (7,40%)1/2b**
60	7/27 (6,48%) ^a	5/27 (4,63%) ^b	9/27 (8,33%) ^a	0/27	4/27 (14,81%)	0/27
Total	37/108 (34,26%)	39/108 (36,11%)	36/108 (33,33%)	0/108	21/108 (19,44%)	3/108 (2,77%)

^{a,b}Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$). *Não houve diferença estatística entre o isolamento de *Listeria* spp. e dias de maturação ($P < 0,05$). **sorotipos encontrados.

Tabela 2. Resultados médios dos parâmetros físico-químicos de queijos artesanais produzidos na região serrana de Santa Catarina no período entre outubro a dezembro de 2011.

Dias de Maturação	Parâmetros			
	Acidez (%)	NaCl	Gordura (%)	Proteína (%)
15	0,78 ^a	0,020 ^a	32,14 ^a	24,46 ^a
30	0,75 ^a	0,021 ^a	23,06 ^b	25,38 ^a
45	0,76 ^a	0,013 ^a	23,50 ^b	25,85 ^{ab}
60	0,82 ^a	0,017 ^a	23,17 ^b	27,28 ^b
Média	0,78	0,018	25,30	25,75
CV(%)	31,73	58,09	20,06	8,1

^{a,b}Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

A diminuição da população de coliformes totais e *Escherichia coli* após 30 e 45 dias de maturação, respectivamente, pode ter ocorrido devido aos fenômenos que ocorrem ao longo do processo de maturação que envolve entre outros, a acidificação do meio e diminuição da atividade de água (aw), fazendo com que os coliformes comecem a diminuir, podendo até desaparecer [20]. O aumento da acidez encontrada no presente estudo após 30 dias (Tabela 2) indica que, este parâmetro pode ter influenciado o desenvolvimento dos coliformes.

No entanto, essas bactérias competem com as bactérias lácticas quando o pH é elevado e a temperatura é adequada, por isso, apresentam um aumento durante os primeiros períodos de maturação [20].

Embora a contagem de coliformes totais não seja exigida pela legislação vigente, sua presença em níveis elevados indica deficiência na qualidade higiênico-sanitária do produto, uma vez que estes micro-organismos geralmente são contaminantes ambientais [5]. Sua presença sugere ainda, que possíveis patógenos podem estar presentes ou a deterioração precoce do alimento. Por ser um indicador de contaminação fecal, a presença de *Escherichia coli* pode indicar a ocorrência de outros enteropatógenos, devido a condições inadequadas de higiene durante ou após a fabricação do produto [25].

No presente estudo, o *Staphylococcus aureus* apresentou comportamento semelhante aos coliformes até os 45 dias de maturação. No entanto, diferente de outros patógenos de origem alimentar, esta bactéria é mais resistente quanto às alterações de pH, baixa atividade de água e suporta concentrações de até 25% de NaCl para o seu crescimento, possibilitando assim, que as células bacterianas sobrevivam em ambientes

que seriam hostis para o desenvolvimento de outros micro-organismos [26].

Os resultados do presente experimento são semelhantes aos relatados por Brant *et al.* [5] que verificaram a diminuição da população de *Staphylococcus coagulase* positiva aos 30 dias de maturação do queijo-de-minas artesanal.

Como observado nesse estudo outros pesquisadores igualmente obtiveram contagens de *Staphylococcus aureus* acima de 10^3 UFC/g, demonstrando que estes queijos encontravam-se fora dos padrões exigidos pela legislação [3,14,24]. Práticas de higiene devem ser rigorosamente respeitadas a fim de prevenir a contaminação do produto. Sendo que, os manipuladores portadores de *S. aureus* e a matéria-prima representam as principais fontes de contaminação do alimento [26].

Entre os fatores que poderiam ter influenciado para o não isolamento da *Salmonella* sp. podem ser citados sua menor capacidade de competição frente aos coliformes e *Staphylococcus* spp. [5] e, nos períodos finais da maturação, ao desenvolvimento das bactérias ácido lácticas e seus metabólitos produzidos ao longo do processo, demonstrando assim, a importância da microbiota autóctone na obtenção de um alimento seguro para o consumidor [21]. Semelhante a este trabalho, outros autores também não isolaram *Salmonella* sp. das amostras de queijos analisadas [9,11,19,22].

Outro trabalho relata que entre os produtos lácteos, os queijos de média e alta umidade são os mais comumente contaminados por *Listeria monocytogenes* [4]. A contaminação do queijo por *Listeria* spp. pode ter origem tanto da matéria-prima (leite) de baixa qualidade, quanto de falhas na higiene durante o processo de fabricação e armazenamento do produto [26].

Resultados semelhantes aos observados neste estudo foram encontrados por outros pesquisadores

[13,19]. A diminuição após 30 dias de maturação da população de *Listeria* sp. sugere que este micro-organismo, semelhante a outros patógenos de origem alimentar, sigam desenvolvimento semelhante aos coliformes durante a maturação (diminuindo sua população ao longo do período). E uma vez que suas taxas são menores, admite-se que ao longo do período de maturação, esses micro-organismos terão desaparecido ou pelo menos, seu número será tão baixo que não chegarão a causar danos à saúde do consumidor, tornando evidente a importância de um período adequado de maturação [20]. A presença de *L. innocua* sugere que a *L. monocytogenes* pode estar presente contaminando o alimento, devido ao fato desta ser menos competitiva em relação às outras do seu gênero [12,27].

Destaca-se o fato de que os sorovares encontrados no presente estudo (1/2b e 4b) estão entre os principais causadores de doenças transmitidas por alimentos [18]. Em seu estudo Hofer *et al.* [15] realizaram análise fenotípica de 255 isolados de *Listeria* spp. obtidos de material clínico humano durante os anos de 1969 a 2000 em várias regiões do país e observaram maior incidência do sorotipo 4b (60,3%), seguido pelo 1/2a (29%), destacaram ainda que as regiões Sul e Sudeste do país apresentaram o maior número de *L. monocytogenes* (87,8%), sugerindo que este fato pode estar relacionado a diferentes hábitos alimentares. Semelhante a este trabalho, Abrahão *et al.* [1] ao analisarem a ocorrência de *L. monocytogenes* em queijos e sorvetes produzidos no estado do Paraná, encontraram três isolados da bactéria e o sorovar prevalente foi 1/2a.

Outro estudo aponta um período de 60 dias como mínimo para a obtenção da estabilidade do queijo [9]. A grande diversidade da composição dos queijos analisados pode ser devido à falta de padronização das

técnicas de produção nas propriedades produtoras do queijo artesanal serrano [16], bem como, as diferenças nas condições de criação dos animais e na produção do queijo [2]. Tais fatos podem explicar o alto coeficiente de variação do cloreto de sódio, por exemplo.

Resultados semelhantes aos deste estudo foram observados por outros pesquisadores que encontram grandes variações na composição das amostras de queijo analisadas [2,16,17].

CONCLUSÃO

A presença de coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* acima dos valores fixados como máximos pela legislação vigente, demonstra inadequadas condições de higiene durante o processo de fabricação e/ou armazenamento dos queijos.

O isolamento de *Listeria monocytogenes* torna o produto impróprio para o consumo humano, constituindo um problema de saúde pública.

A grande variação encontrada na composição dos queijos analisados demonstra a falta de padronização na produção do queijo artesanal nas unidades produtoras, bem como impediu a adequação de um período mínimo de maturação.

SOURCES AND MANUFACTURERS

¹Stomacher Lab-Blender MK 1204, ITR Ltd., Esteio, RS, Brazil.

²Petrifilm™, Neogen/Acumédia, Leasing, MI, USA.

Acknowledgements. Aos produtores por disponibilizarem seus queijos para realização do experimento. A Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) pela parceria que possibilitou a execução do projeto.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Abrahão M.W., Abrahão P.R.S., Monteiro C.L.B. & Pontarolo R. 2008. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 44(2): 289-296.
- 2 Almeida A.C., Diniz T.T., Souza M.R., Pinto M.S., Silva N.O. & Queiroz M.R.A. 2012. Caracterização da produção de queijo artesanal na região de Montes Claros, Norte de Minas Gerais. *Acta Veterinária Brasileira*. 6(4): 312-320.
- 3 Araújo V.S., Pagliares V.A., Queiroz M.L. & Freitas-Almeida A.C. 2002. Occurrence of *Staphylococcus* and enteropathogens in soft cheese commercialized in the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Applied Microbiology*. 92(6): 1172-1177.
- 4 Borges M.F., Andrade A.P.C., Arcuri E.F.A., Kabuki D.Y. & Kuaye A.Y. 2009. *Listeria monocytogenes* em leite e produtos lácteos. Embrapa Agroindústria Tropical. Junho: 30p. [Fonte: < http://www.cnpat.embrapa.br/cnpat/cd/jss/acervo/Dc_119.pdf>]. Acesso em 26 de ago de 2013.

- 5 Brant L.M.F., Fonseca L.M. & Silva M.C.C. 2007. Avaliação da qualidade microbiológica do queijo- de- minas artesanal do Serro- MG. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 59(6): 1570-1574.
- 6 Brasil. 2001. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução, RDC n.12 de 2 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos.
- 7 Brasil. 2006. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 68 de 12 de dezembro de 2006. Métodos Analíticos Oficiais Físico-Químicos, para Controle de Leite e Produtos Lácteos.
- 8 Brasil. 2011. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 57 de 16 de dezembro de 2011.
- 9 Brooks J.C., Martinez B., Stratton J., Bianchini A., Krokstrom R. & Hutkins R. 2012. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food Microbiology*. 31(2): 154-158.
- 10 Córdova U.A., Pucci A.A., Schlickmann A.F.M.B.F., Schlichting A.P., Nunes I.R., Souza L.T., Souza N.G., Jesus N.N. & Pereira S.N. 2009. Projeto de Qualificação e Certificação do Queijo Artesanal Serrano dos Campos de Altitude de Santa Catarina - Relatório Final. Convênio Epagri/Mapa 00132/2007. PAGINAS???
- 11 Dalla Santa O.R., Pelozato E.C., Santos M., Silva T.V., Mimura H.J., Alvarez D.C. & Dalla Santa H.S. 2010. Qualidade microbiológica de queijos colonial elaborados em pequenas propriedades rurais de Guarapuava, PR. *Ciência e Cultura*. 25(1): 39-44.
- 12 Duarte D.A.M., Schuch D.M.T., Santos S.B., Ribeiro A.R., Vasconcelos AM.M., Silva J.V.D. & Mota R.A. 2005. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. *Arquivos do Instituto Biológico*. 72(3): 297-302.
- 13 Feitosa T., Borges M.F., Nassu R.T., Azevedo E.H.F. & Muniz C.R. 2003. Pesquisa de *Salmonella* sp., *Listeria* sp. e microrganismos indicadores higiênico-sanitários em queijos produzidos no estado do Rio Grande do Norte. *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 23(Supl): 162-165.
- 14 Ferreira B.G., Oliveira A.C.S., Marson J.M. & Terra A.P.S. 2010. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijos tipo “Minas Frescal” comercializados na região do Triângulo Mineiro. *Revista Baiana de Saúde Pública*. 34(3): 575-589.
- 15 Hofer E., Reis M.F. & Hofer C.B. 2006. Sorovares de *Listeria monocytogenes* e espécies relacionadas, isoladas de material clínico humano. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 39(1): 32-37.
- 16 Ide L.P.A. & Benedet H.D. 2001. Contribuição ao Conhecimento do Queijo Colonial Produzido na Região Serrana de Santa Catarina, Brasil. *Ciência e Agrotecnologia*. 25(6): 1351-1358.
- 17 Machado E.C., Ferreira C.L.L.F., Fonseca L.M., Soares F.M. & Pereira F.N.J. 2004. Características físico-químicas e sensoriais do queijo minas artesanal produzido na região do Serro, Minas Gerais. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 24(4): 516-521.
- 18 Mclauchlin J. 1990. Distribution of Serovars of *Listeria monocytogenes* Isolated from Different Categories of Patients with Listeriosis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 9(3): 210-213.
- 19 Menéndez S., Godínez R., Centeno J.A. & Rodríguez-Otero J.L. 2001. Microbiological, chemical and biochemical characteristics of “Tetilla” raw cows-milk cheese. *Food Microbiology*. 18(2): 151-158.
- 20 Ordóñez Pereda J.A., Rodríguez M.I.C., Álvarez L.F., Sanz M.L.G., Minguillón G.D.G.F., Hoz Perales L. & Cortecero M.D.S. 2005. *Tecnologia de Alimentos: Alimentos de Origem Animal*. Porto Alegre: Artmed, 279p.
- 21 Ortolani M.B.T., Yamazi A.K. & Moraes P.M. 2010. Microbiological quality and safety of raw milk and soft cheese and detection of autochthonous lactic acid bacteria with antagonistic activity against *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., and *Staphylococcus aureus*. *Foodborne Pathogens and Disease*. 7(2): 175-180.
- 22 Salotti B.M., Carvalho A.C.F.B., Amaral L.A., Vidal-Martins A.M.C. & Cortez A.L. 2006. Qualidade microbiológica do queijo minas frescal comercializado no município de Jaboticabal, SP, Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*. 73(2): 171-175.
- 23 Sampaio I.B.M. 1998. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 221p.
- 24 Senger A.E.V. & Bizani D. 2011. Pesquisa de *Staphylococcus aureus* em queijo minas frescal, produzido de forma artesanal e industrial, comercializado na cidade de Canoas/RS, Brasil. *Revista de Ciências Ambientais*. 5(2): 25-42.
- 25 Silva M.P., Cavalli D.R. & Oliveira T.C.R.M. 2006. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 26(2): 352-359.

- 26 Silva N., Junqueira V.C.A., Silveira N.F.A., Taniwaki M.H., Santos R.F.S. & Gomes R.A.R. 2010.** *Manual de métodos de análise microbiológica de alimento e água*. São Paulo: Varela, 624p.
- 27 Zaffari C.B., Mello J.F. & Costa M. 2007.** Qualidade Bacteriológica de Queijos Artesanais Comercializados em Estradas do Litoral Norte do Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*. 37(3): 862-867.



J. Dairy Sci. 102

<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16373>

© American Dairy Science Association®, 2019.

Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk

Michelle de Medeiros Carvalho,¹ Luciana Oliveira de Fariña,² Daniel Strongin,³ Célia Lucia L. F. Ferreira,⁴ and Juliano De Dea Lindner^{1*}

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil

²Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85960-000, Marechal Cândido Rondon, PR, Brazil

³IM Organização e Planejamento Ltda, 22281-080, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁴Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa, MG, Brazil

ABSTRACT

Artisanal Colonial-type cheese is made from raw milk and is the main cheese produced by rural families of the southern region of Brazil. The aim of this study was to investigate, identify problems, and propose solutions for the current situation of small family farms producing and informally selling artisanal Colonial-type cheese located in the western part of Santa Catarina State in Southern Brazil. A semistructured questionnaire was employed in 12 rural properties to analyze the mode of production. Physical-chemical and microbiological analyses of water, raw milk, and cheese were performed, and it was found that 92, 50, and 100% of the samples, respectively, were outside of the current Brazilian regulatory parameters. None of the cheesemakers involved in this study met the requirements, as established by law, for artisanal cheese production from raw milk. This study concluded that technical support and changes in public policy are needed to ensure the preservation of this artisanal cheese, considering the historical importance and cultural traditions of these local communities and the socioeconomic importance of cheesemaking to family farming. Furthermore, more research on the safety of the cheese produced from raw milk is needed as well as the development of specific microbiological standards for artisanal Brazilian cheeses. Public policies aimed at guaranteeing food safety that formalize the commercialization of these cheeses will increase food security in those communities that currently produce artisanal cheese informally.

Key words: family farm, raw milk, food safety, agricultural economic development

INTRODUCTION

Traditional Brazilian artisan cheeses are made from raw milk (Carvalho et al., 2015). Brazilian legislation prohibits the commercialization of cheeses produced from raw milk unless they have been ripened for no less than 60 d or are proven to be safe through laboratory testing (Brazil, 1996, 2017a). According to current legislation, cheeses ripened less than 60 d must be manufactured from pasteurized milk to ensure the safety of the product. However, given the transient nature of scientific knowledge and current cheesemaking practices, traditional cheeses that were never designed to undergo extended ripening, such as the French Camembert, may experience increased risk for *Listeria monocytogenes* when ripened for 60 d (D'Amico et al., 2008). Similarly, traditional Brazilian cheeses, such as Serro, Canastra, Serrano, and Colonial cheeses, have been consumed for decades without being ripened for 60 d (Cruz and Menasche, 2014).

Although pasteurization has introduced important safety measures to products such as cheese, eliminating pathogens from raw milk, it carries some constraints due to elimination of the autochthonous microbial population responsible for the flavor component of the majority of traditional cheese manufactured with raw milk (Gobbetti et al., 2018). The species of microorganisms present in the milk and their selection in relation to the specific process of production, such as the interaction of the lactic acid bacteria consortium, the developmental kinetics, species, and biotypes involved in the characterization of different cheeses, therefore, are key determinants for the success of a quality product (De Dea Lindner et al., 2008). To compensate for the reduction of autochthonous microbiota, microbial starter cultures are added to the process, fundamentally aiding the cheese produced from pasteurized milk with the goal of inhibiting potential pathogens (De Dea Lindner, 2016).

Received January 25, 2019.

Accepted June 10, 2019.

*Corresponding author: juliano.lindner@ufsc.br

To avoid losing the traditional character of their product, Brazilian cheesemakers, especially family farmers, maintain cheese production with raw milk and natural microbial starters (Dores et al., 2013; Martins et al., 2015). However, due to the regulatory requirements cited above, the cheese produced by such farmers is considered illegal and cannot be made formally available to the public. Thus, these producers work informally (Wilkinson and Mior, 1999) at the risk of having their products seized by the inspecting authorities and preventing them from gaining access to important economic policies and incentive programs for family agriculture, such as the Brazilian National School Feeding Program (Programa Nacional de Alimentação Escolar; Brazil, 2009). Among the pillars of the Programa Nacional de Alimentação Escolar is the use of a variety of healthy, safe and culturally important regional foods, supporting sustainable development through the acquisition of local food produced by family farming, which contributes substantially to reducing the economic insecurity of small producers who have difficulties marketing their food through conventional supply chains (Brazil, 2009).

The Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply [Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (**MAPA**)], which is responsible for the inspection of animal-based products, published Normative Instruction no. 30 (Brazil, 2013) with the aim of authorizing the manufacture of cheese from raw milk with a ripening period of less than 60 d, adjusting the mandatory requirements for industrial cheese production from nonpasteurized milk (Cruz and Menasche, 2014). For a cheese to be marketed with a ripening period of less than 60 d, certain prerequisites must be met, such as the use of raw milk of high quality originating from zoonosis-free animals (brucellosis and tuberculosis), potable and chlorinated water, and the application of good milking and manufacturing practices to achieve the microbiological standards for cheeses.

Artisanal Colonial-type cheese (**CTC**) is made from raw milk and is the main cheese produced by the rural families of farmers from the southern region of Brazil (Carvalho et al., 2015). According to the latest agricultural Brazilian census, artisanal cheese production in Santa Catarina State involves more than 15,200 properties with an annual production estimated in 8,210 t (IBGE, 2017).

Outbreaks caused by various ready-to-eat foods have been reported all over the world. Foodborne illnesses linked to cheese consumption have occurred in many countries. For example, cheeses have been linked to illnesses in the United States, Switzerland, Denmark, and France since 1985 (De Buyser et al., 2001). Several

microbial risk assessments related to *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* infections, causing cheese-related foodborne illnesses, have been conducted in different countries. However, in Brazil, to our knowledge, in part due to the lack of epidemiological data for foodborne illnesses linked to cheese consumption, no risk assessment was conducted for specific production chains of cheeses produced from raw milk. For accurate quantitative microbial risk assessment, data including interventions such as technological conditions and ripening periods should be available for predictive models developed with cheese consumption amounts and intake frequencies as well as dose-response models (Choi et al., 2016).

In this context, the objective of this study was to investigate the microbiological quality of the water, raw milk, and CTC produced and sold informally by family farmers in a municipality located in the western region of Santa Catarina State. The study aimed to identify purported issues resulting from informal cheese production, to summarize the relevant knowledge, and to recommend potential solutions while providing assistance and supporting information to regulatory Brazilian agencies, contributing to solutions for the current problem of the informal production of Brazilian artisanal cheeses.

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out in fall (May) in the municipality of Seara (CREDISEARA: credit system comprising the entirety of the cooperative partners). These partners (around 600 families) are responsible for the whole milk production in this municipality of the state of Santa Catarina, Brazil. Of these, 71 families produce and sell CTC. Only one family produces cheese with pasteurized milk and therefore has formalized their activity and was not included in the sampling. The samples were chosen randomly from among 70 families who produce CTC in the traditional manner using raw milk, resulting in a total of 12 rural properties in the study. Considering the situation of informality, and thereby, the possibility of some of the farms refusing to participate in the research (which occurred with 3 properties), the number of sample units surveyed was higher than what was statistically necessary for a representative sample.

The conditions for production of the CTC were studied using a semistructured method, which took into account how the milk was obtained, whether good manufacturing practices were employed, and the structure of these dairies. Physical-chemical and microbiological analyses were carried out on the water, milk,

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

Table 1. Microbiological quality [most probable number (MPN)/100 mL] of the water on the rural properties

Rural property	Water source	Total coliforms	<i>Escherichia coli</i>
1	Artesian well	>2,419.2	21.3
2	Natural spring	>2,419.2	32.3
3	Natural spring	224.7	<1.0 (absent)
4	Artesian well	204.6	<1.0 (absent)
5	Natural spring	>2,419.2	<1.0 (absent)
6	Artesian well	>2,419.2	51.2
7	Artesian well	<1.0 (absent)	<1.0 (absent)
8	Artesian well	1,203.3	24.6
9	Artesian well	464.1	<1.0 (absent)
10	Natural spring	>2,419.2	29.9
11	Natural spring	>2,419.2	488.4
12	Natural spring	>2,419.2	307.6
Standard ¹		Absent in 100 mL	Absent in 100 mL

¹Source: Ministério da Saúde (Brazil, 2011).

and cheese. The water and raw milk were collected on 2 consecutive days in each of the properties studied. Water was collected at the cheese manufacturing site, and raw milk was collected before the beginning of cheese production directly from the vat. The cheeses were collected for analysis after the full manufacturing period, according to the time of ripening practiced by each of the cheesemakers. All samples collected were transported and maintained at 5°C in coolers until analysis.

The most probable number method was applied using the Colilert system (Idexx Laboratories, Westbrook, ME) for presumptive enumeration and identification of coliform and *E. coli* (AOAC International, 2007; Brazil, 2011). The SCC and total bacterial count (**TBC**) were determined in the raw milk samples. The analyses were carried out in a laboratory accredited by the Brazilian Laboratory Network of Milk Quality Control (Rede Brasileira de Qualidade do Leite) using the methodologies recommended by MAPA (Brazil, 2011).

Physical-chemical and microbiological analyses of the CTC samples followed the methodologies established by Normative Instruction no. 62 of MAPA (Brazil, 2003). Fat determination was performed using the Gerber butyrometric method, and moisture was determined by the greenhouse evaporation technique. For the microbiological analyses, the following microorganisms were investigated in duplicate in the cheese samples according to the Bacteriological Analytical Manual of the US Food and Drug Administration: *E. coli* and coliform bacteria, *S. aureus*, *Salmonella* sp., and *L. monocytogenes* (BAM, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

The size of the surveyed properties ranged from 2.5 to 29.3 ha (average: 13.9 ha), with a milk production of

15 to 280 L/d (average: 147.5 L/d), and the production of CTC utilized raw milk.

Of the analyzed water samples (Table 1), 91.7% did not comply with the current standards for total coliforms and 58.3% did not comply with the standards for *E. coli*; 50.0% of the water came from natural sources and 50.0% came from artesian wells. Only one sample (8.3%) of water sourced from an artesian well was within the current standards (rural property 7).

Despite the evident importance of water quality, few artisanal cheese producers monitor their water supplies, which contributes to bacterial contamination in the CTC (Piana et al., 2014). Water is widely used in food processing, and its physical-chemical and microbiological characteristics directly interfere with the sanitary quality of the food produced (Roloff, 2006). According to Brazilian legislation for the production of cheese with raw milk, dairies must carry out chlorination and ensure the potability of water used in all activities involved in processing, from obtaining raw material to final production (Brazil, 2013). The high incidence of water contamination in rural properties is a common feature detected in other regions where cheese is made with raw milk (Pinto et al., 2009; Rangel et al., 2015). Although the source of the contamination was not evaluated in this study, the problem usually originates from water sources without adequate protection, inadequate material used in the water collection system that can allow for the formation of biofilms in the water reservoirs, as well as inadequate materials used in cleaning the water collection systems. These inadequacies can represent a risk factor for the health of the producers since the analyzed water samples were used both in the manufacture of the CTC and for family consumption.

The owners of the properties evaluated did not have training in water quality control to ensure potability,

Table 2. Raw milk quality produced on the rural properties¹

Rural property	Type of milking	TBC/mL	SCC/mL
1	Mechanical	9,000	386,000
2	Manual	99,000	853,000
3	Manual	42,000	316,000
4	Mechanical	504,000	269,000
5	Mechanical	211,000	269,000
6	Mechanical	1,546,000	575,000
7	Mechanical	37,000	416,000
8	Mechanical	1,786,000	1,084,000
9	Mechanical	26,000	149,000
10	Manual	52,000	347,000
11	Mechanical	82,000	838,000
12	Mechanical	115,000	924,000
Standard (southern region of Brazil) ²		Maximum 300,000	Maximum 500,000

¹TBC = total bacteria count.²Source: Ministério da Agricultura (Brazil, 2018).

nor did they perform chlorination, which could help them solve the problems encountered. Studies carried out in other Brazilian regions found between 95 and 100% of rural farms producing milk and cheese evaluated were outside of the legal microbiological parameters for water quality (Horstmann et al., 2011; Rangel et al., 2015). If all producers of CTC were trained in the standards of good manufacturing practices, the levels of contamination observed would decrease. Therefore, the authors of this study strongly recommend that training in the proper management of water supplies be introduced and implemented in all CTC production facilities.

A total of 25 and 41.7% of the raw milk samples did not comply with standards for TBC and SCC to determine the quality of milk used for the manufacturing of CTC, respectively (Table 2).

Milk suffers contamination from the time it is collected until the time of manufacturing that can vary according to the time, temperature, and mode of exposure, thereby raising the TBC. High numbers may represent hygienic failures during milking, both in the procedures and in the hygiene of the equipment, as well as inadequate storage of the milk after it has been obtained. When manufacturing raw milk, it must be processed immediately after milking or stored in appropriate and sanitized equipment under adequate refrigeration. Studies indicate that raw milk, particularly from animals with some degree of mastitis (Ribeiro et al., 2009), is the main source vectoring *S. aureus* in cheese (Andre et al., 2008). In addition to other potential pathogens such as *E. coli*, the teat of the animal is considered a repository of pathogens that will infect raw milk and, consequently, cheeses (Picoli et al., 2014). When these microorganisms cross the streak canal and reach the mammary glands of the animal, they

can cause clinical, subclinical, or chronic mastitis. The defense cells involved in this mechanism (somatic cells) increase their concentration in milk. Somatic cells are defined as all cells found in milk, including leukocytes of sanguine origin and epithelial cells of the secretory gland epithelium (Oliveira et al., 2011). For this reason, control of mastitis with SCC monitoring in milk is an indicator of animal health (Lopes and Souza, 2012). In addition to indicating problems in the health of the animal, an increase in SCC can lead to economic losses, since the inflammatory process is related to a decrease in milk production in the affected teats and a decrease in yield in cheese production (Silva et al., 2012).

To obtain a quality milk, it is necessary for the milk producers to be able to detect any potential health problems during milking, including subclinical mastitis, and employ appropriate hygienic procedures and correct handling. As shown in Table 2, the largest TBC were those for which the milk was obtained with mechanical milking: 1.5 and 1.7 million TBC/mL refer, respectively, to the production units 6 and 8. Mechanical milking, if misused, causes damage to the teat of the animal through improper pressure as well as increased TBC in milk through inadequate cleaning and sanitation. Therefore, these producers need training to identify these possible faults promptly to avoid nonconforming results, such as those found during this study.

The CTC was produced by the studied properties starting with the addition of chymosin-based liquid coagulant (rennet) to fresh milk (in 34% of dairies) or a mixture of the milk of the previous afternoon's milking with that just obtained on the morning of the day of manufacture (in 66% of dairies). For the addition of the rennet, the milk was preheated indirectly using a container in contact with a flame on a wood burning or gas

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

stove, or without any heating (in 16% of dairies). The temperature at coagulation is not measured by the producers and may constitute a critical point involved in the wide variation in the characteristics of the cheeses produced in the same region. After complete coagulation, which lasts between 30 and 60 min, cutting of the curd is accomplished with the aid of knives or wire curd cutting tools. After cutting, the curd is stirred for 10 to 20 min until the curds are ready to be drained. In 83% of the cases, after the cut, the curds are heated to temperatures not exceeding 40°C and are maintained at this temperature for between 1 and 10 min.

The addition of salt occurs in one of 3 ways: (1) direct addition of the salt to milk (in 25% of dairies); (2) addition after the drain point has been obtained (in 25% of dairies); or (3) addition after pressing when dry (in 50% of dairies). The cheeses are pressed with the aid of a small mechanical press (in 58% of dairies) or manually (42%). After pressing and salting, in some cases, the cheeses are submitted to a ripening process at ambient temperature (in 50% of dairies), under refrigeration (in 25% of dairies), or both (in 25% of dairies). This stage is also a critical point in determining the specific legislation for CTC, since each of the conditions of ripening result in cheeses with different physical-chemical, microbiological, and sensorial characteristics. Thus, based on curd treatment, the CTC produced in this region can be classified as semicooked or uncooked paste (Brazil, 1996).

The mean fat concentration (%; Table 3) ranged from 16.00 (SD $\pm$ 1.73) to 31.17 (SD $\pm$ 1.26), resulting in these cheeses being classified, in relation to the fat content, into 3 categories: (1) semifat (58.4%), (2) fat (33.3%), and (3) extra fat (8.3%). This variation is because, in some properties, the cream is produced from the afternoon milk by skimming the surface fat off the top, and then, the partially skim milk is held under refrigeration until the following day. This skim milk is then added to the morning milk of the following morning and used in the production of the CTC. In addition to the variation in the raw material from mixing whole morning milk with skim milk from the afternoon before, the breed and feeding practices of the animal are also critical points in the fat content of the CTC of that region.

Another important variable in cheese is the moisture (%), which ranged from 33.88 (SD $\pm$ 1.15) to 47.19 (SD $\pm$ 2.03) in the samples. According to the current Brazilian legislation, the samples in the present study were classified as (1) low, (2) average, or (3) high moisture. All samples in the present study were classified as high moisture. The variations of moisture content identified in the samples may be related to the different modes of cheese production. High moisture content in cheeses at

the end of a relatively prolonged ripening may be associated with the high relative humidity of the existing environment in the winter season in the region studied. In periods of lower relative humidity and in other periods of the year, the moisture contents obtained at the end of ripening would likely be lower, for example, after 30 d. Large variations in the composition of the CTC, both moisture and fat content were also observed by Oliveira et al. (2012), Silveira et al. (2012), and Silva et al. (2015).

Microbiological parameters were evaluated according to the moisture content (Brazil, 1996). For total coliforms, only one sample (8%) was within the standards; however, according to the legislation of the National Sanitary Surveillance Agency (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) responsible for the inspection of animal products at the point of sale, there are no parameters for total coliforms. These cheeses, therefore, are all eligible for sale in this respect. The specific bacteria counted among the total coliforms belonged to the genera *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Klebsiella*. Of these, only *E. coli* has the intestinal tract of humans and other warm-blooded animals as its primary habitat. Other species, such as *Citrobacter*, *Enterobacter*, and *Klebsiella*, in addition to being found in human and animal feces, are also present in other environments, such as plants and soil. Consequently, the presence of total coliforms in the food does not necessarily indicate fecal contamination or the occurrence of enteropathogens, probably explaining why the Agência Nacional de Vigilância Sanitária does not use total coliform levels as a microbiological parameter (Franco and Landgraf, 2008).

As for thermotolerant coliforms, 4 samples (33.3%) were within the standards, and for coagulase-positive staphylococci, no sample was present within the standards. These 2 microorganisms were responsible for the samples testing outside of the legal parameters. It is worth highlighting data from producer number 7. The water, milk, and cheese from this producer were within the standards, except for *S. aureus* in the cheese where the numbers (5.6×10^3 cfu/g) were close to the standard (lower than 1.0×10^3 cfu/g), which demonstrates the importance of these controls to obtain a quality cheese. This discussion could go further when we consider that the current standards are those used for cheese produced with pasteurized milk. When using the European Union standards for cheese made with raw milk, the cheese from producer number 7 would be fit for consumption, as well as producers 2, 4, 5, 8, 10, and 11 (European Union, 2005).

The bacteria belonging to the thermotolerant coliforms, also called fecal coliforms by the current legislation (Brazil, 2001), which correspond to the total coli-

Table 3. Microbiological and physical-chemical quality of the Colonial-type cheese

Rural property	Ripening ¹ (d)	Moisture (% $\pm$ SD)	Fat (% $\pm$ SD)	Total coliforms ² (MPN/g)	Thermotolerant coliforms (MPN/g)	Coagulase-positive staphylococci (cfu/g)	<i>Listeria monocytogenes</i> (per 25 g)	<i>Salmonella</i> sp. (per 25 g)
1	10	46.28 ($\pm$ 0.60)	29.50 ($\pm$ 0.50)	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	5.2×10^5	Absent	Absent
2	30	35.43 ($\pm$ 2.37)	19.33 ($\pm$ 1.15)	2.1×10^3	2.1×10^3	2.0×10^4	Absent	Absent
3	30	47.03 ($\pm$ 0.73)	16.00 ($\pm$ 1.73)	$>2.4 \times 10^4$	2.4×10^4	1.2×10^5	Absent	Absent
4	15	36.83 ($\pm$ 0.18)	19.67 ($\pm$ 1.53)	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	1.0×10^5	Absent	Absent
5	12	47.19 ($\pm$ 2.03)	16.33 ($\pm$ 1.15)	$>2.4 \times 10^4$	4.6×10^3	9.9×10^4	Absent	Absent
6	12	45.84 ($\pm$ 2.11)	20.67 ($\pm$ 0.58)	$>2.4 \times 10^4$	4.3×10^2	2.0×10^5	Absent	Absent
7	36	49.29 ($\pm$ 1.36)	30.83 ($\pm$ 0.76)	$>2.4 \times 10^4$	2.1×10^2	5.6×10^3	Absent	Absent
8	20	33.88 ($\pm$ 1.15)	24.83 ($\pm$ 0.29)	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	3.5×10^4	Absent	Absent
9	12	34.01 ($\pm$ 1.24)	30.83 ($\pm$ 1.04)	$>2.4 \times 10^4$	2.4×10^4	1.8×10^5	Absent	Absent
10	5	40.72 ($\pm$ 0.39)	31.17 ($\pm$ 1.26)	$>2.4 \times 10^4$	4.3×10^2	9.2×10^3	Absent	Absent
11	12	38.14 ($\pm$ 3.34)	29.17 ($\pm$ 0.29)	$>2.4 \times 10^4$	2.4×10^4	4.9×10^3	Absent	Absent
12	36	35.05 ($\pm$ 0.78)	19.67 ($\pm$ 1.53)	$>2.4 \times 10^4$	4.6×10^2	1.6×10^5	Absent	Absent
				(cfu/g)	(cfu/g)	(cfu/g)		
Microbiological standards for cheese ³		Low moisture		Maximum 1×10^3	Maximum 5×10^2	Maximum 1×10^3	Absent	Absent
		Average moisture		Maximum 5×10^3	Maximum 5×10^2	Maximum 1×10^3	Absent	Absent
		High moisture		Maximum 1×10^4	Maximum 5×10^3	Maximum 1×10^3	Absent	Absent

¹Time of ripening practiced by each of the cheesemakers.²The Agência Nacional de Vigilância Sanitária does not establish parameters for total coliforms. Standard from Portaria no. 146 (Brazil, 1996). Source: Resolução no. 12 (Brazil, 2001). MPN = most probable number.³Standard from Portaria no. 146 (Brazil, 1996).

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

forms, have the capacity to continue fermenting lactose and produce CO₂ when incubated at the temperature of 44 to 45°C. In these conditions, approximately 90% of the bacteria present are *E. coli*, whereas among the other genera, only some strains of *Enterobacter* and *Klebsiella* present this characteristic (Franco and Landgraf, 2008). These microorganisms are used as indicators of hygienic-sanitary conditions applied in industrial manufacturing processes; however, in cheese made from raw milk, these microorganisms may be present in the raw material, demonstrating a need to better understand the current regulatory standards and whether they are relevant to the production of artisanal cheese from raw milk (D'Amico and Donnelly, 2010).

There are different species of the genus *Staphylococcus*, but the coagulase-positive biotypes of *S. aureus* are the most important because they are frequently associated with staphylococcal contamination in food. Because of this, testing for staphylococcal toxins would be a more effective way to judge whether an artisanal cheese is suitable for consumption rather than counting these microorganisms: the toxin is not produced in the food under all environmental conditions. Although *S. aureus* counts are above those permitted by current legislation, the count tends to decrease with ripening and does not rise, as it does in industrial products. This could safely allow for the elimination of the current safety margin in the regulatory standards, which are kept low to compensate for the tendency of counts to rise in industrially produced pasteurized products. The current standard jeopardizes the ability of CTC to earn the classification "within the standards" (Dores et al., 2013; Hunt et al., 2015; Martins et al., 2015).

Discussion of the standards required for artisanal products, because of the origin of the raw material and the type of processing employed, led the US Food and Drug Administration and the European Union to stop monitoring nontoxigenic *E. coli* in cheeses made with raw milk so as not to impede the production of these foods due to the rigor of industrial and international standards. In accordance with the World Trade Organization, US public health standards must be based on sound scientific evidence (Trmčić et al., 2016). The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health issued an opinion in 1999 on the evaluation of microbiological criteria for food products of animal origin for human consumption. It highlighted the relevance of basing microbiological criteria on formal risk assessment and internationally approved principles. The opinion recommends that microbiological criteria should be relevant and effective in relation to consumer health protection.

The microbiological criteria for foodstuffs adopted by the European Union (2005) states that, for cheeses

made from raw milk, coagulase-positive staphylococci may not exceed 10⁵ cfu/g (*M*) during the manufacturing process when the number of staphylococci is expected to be highest. In the case of unsatisfactory results, the cheese batch has to be tested for staphylococcal enterotoxins, and improvements in production hygiene and selection of raw materials need to be implemented. The microbiological limit applied in the European Union is 10² cfu/g higher than that applied in Brazil. The European value is reasonable considering that, for cheeses made from raw milk, the microbiological count tends to decrease with ripening, thus a safety parameter as high as the Brazilian standard is not required. Using the European Union criterion, 58,3% of the samples from this study would meet the standards without any intervention in the process being deemed necessary.

Contamination above the current Brazilian limits for both thermotolerant coliforms and *S. aureus* (Table 3) may be associated with the quality of the raw material, as well as its incorrect handling and packaging, which, from the initial TBC, allowed the proliferation of these quantified microorganisms in the cheese. However, it cannot be disregarded that the CTC is produced from a raw material that has not undergone heat treatment. This means that using industrial parameters of products made with pasteurized milk as hygienic indicators for an artisanal product made with raw milk is not adequate, making it necessary to have a specific parameter for this type of product. A fair parameter, one that guarantees the safety of these handmade foods while allowing the producers the opportunity to commercialize their product and sustain themselves economically, should be implemented.

All the samples tested were within the standards for *L. monocytogenes*, a result equivalent to that presented in other studies of cheese produced with raw milk (Dores et al., 2013; Martins et al., 2015). The complex matrix composed of diverse microbes and unfavorable pH found in CTC potentially inhibited the development of *L. monocytogenes*. The autochthonous microbiota from raw milk may naturally inhibit the proliferation of pathogenic microorganisms during the cheese-making process (Millet et al., 2006; Aragon-Alegro, 2007). The cheeses evaluated in this study also met the standards for *Salmonella* sp.

Because the production is located more specifically in the western region of Santa Catarina, the CTC was exposed to large fluctuations in temperature throughout the year, which hinders the ability to standardize the temperature when ripening occurs in ambient temperature without the aid of temperature-controlled aging rooms. These seasonal fluctuations cause some producers to ripen their cheeses in a household refrigerator, especially in the summer, explaining why cheeses

with a ripening period of 30 d may still show results outside the legal microbiological criteria (Dores et al., 2013; Martins et al., 2015). This situation reinforces the idea that the best way to achieve legal standards and ensure the safety of the product is the adoption of good handling, milking, and manufacturing practices. In some cases, the use of aging rooms with controlled temperatures and humidity could be advisable, but the use of climate-controlled environments will incur costs for artisanal production, requiring public aid for family farming.

The properties sampled were not certified or controlled as free from brucellosis and tuberculosis as required by legislation for the production of cheese with raw milk (Brazil, 2013). The primary reasons given by the producers were (1) lack of adequate assistance for monitoring animal health, (2) high costs, and (3) lack of government support for the certification of the herd. The lack of control of zoonosis in the herds compromises the production of cheese from the raw milk, since it is essential that the animals be proven free of these pathogens to avoid risking transmission to the consumer. Faria et al. (2014) demonstrated the presence of the etiological agent of tuberculosis in artisanal Coalho-type cheese produced from raw milk and marketed in northeast Brazil. Recently, the Brazilian National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, instituted in 2001 by the MAPA, revised the technical regulation and published Normative Instruction no. 10 in 2017 that aims to reduce the prevalence and incidence of these diseases in cattle (Brazil, 2017b). The action strategy of the Brazilian National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis is based on the classification of the federative units as to the degree of risk for these diseases and on the definition and application of animal health defense procedures, according to the classification of risk. To mitigate the huge challenge for the program to certify herds in a continental country such as Brazil, zoonosis control could be decentralized to the municipality level.

CONCLUSIONS

We demonstrated in this study that the production of CTC is not capable of meeting the existing legal microbiological parameters. However, that may not prove that the cheeses studied are unfit for human consumption. A more comprehensive analysis is needed, as the microbiological parameters currently used were developed to evaluate products processed industrially from pasteurized milk. Microbiological standards specific to artisan cheese made from raw milk are urgently

needed. These new regulatory standards need to take into account how the manufacturing method differs for raw material that carries an inherent microbiological load and take into account how the risks linked to the health of the herd are managed to determine whether the product is suitable for human consumption. The ban on the production and marketing of these noncompliant products is not the appropriate way to solve the problem. Risk analysis studies should be performed to better understand the true sanitary risks. The development of specific policies to support these rural producers would be of fundamental importance, not through punitive oversight, but through concrete corrective actions leading to real improvement in the health of the herd and the quality of water, milk, and cheese. Examples of concrete actions that would assist in the evolution and improvement of CTC production would be (1) the creation of programs, decentralized from MAPA, to monitor and certify properties as zoonosis free; (2) the protection of water sources in rural properties linked to improving the quality control of the water obtained from those sources; the implementation of training for the application of good handling, milking, and manufacturing practices; (3) constant monitoring of the quality of the milk and cheeses produced; (4) and the need to evaluate the microbiological risks involved in the chain of production of traditional raw milk artisan cheeses such as CTC.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. The authors are grateful to the Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC) in the municipalities of Chapecó and Seara and to the Cooperativa de Crédito Rural Seara (CREDISEARA) for generous assistance and support during the study.

REFERENCES

- Andre, M. C. D. P. B., M. R. H. Campos, L. J. Borges, A. Kipnis, F. C. Pimenta, and A. B. Serafini. 2008. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. *Food Control* 19:200–207.
- AOAC International. 2007. Method 991.15: Total coliforms and *Escherichia coli* in water. In *Official Methods of Analysis of AOAC International* - 18th ed. AOAC International, Rockville, MD.
- Aragon-Alegro, L. C. 2007. Influência dos Coliformes no Comportamento de *Listeria monocytogenes* em Queijo Minas Frescal. 93 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo.
- BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2018. Accessed in May 22, 2018. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>.

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

- Brazil. 1996. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria 146 de 07 de março de 1996. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 de março de 1996.
- Brazil. 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.
- Brazil. 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003.
- Brazil. 2009. Lei nº 11.947, de 16 de junho de 2009. Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar e do Programa Dinheiro Direto na Escola aos alunos da educação básica. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 de junho de 2009.
- Brazil. 2011. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 13 de dezembro de 2011.
- Brazil. 2013. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 30 de 7 de agosto de 2013. 2013. Estabelece critérios adicionais para elaboração de Queijos Artesanais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 8 de agosto de 2013.
- Brazil. 2017a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de março de 2017.
- Brazil. 2017b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa SDA nº 10 de 3 de março de 2017. Estabelece o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT e a Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para as doenças brucelose e tuberculose, assim como a definição de procedimentos de defesa sanitária animal a serem adotados de acordo com a classificação. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 de junho de 2017.
- Brazil. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. 2018. Instrução Normativa nº 31 de 29 de junho de 2018. Altera a tabela 2 do item 3.1.3.1, do Anexo II da Instrução Normativa nº. 62, de 29 de dezembro de 2011, que aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de junho de 2018.
- Carvalho, M. M., J. De Dea Lindner, and L. O. Fariña. 2015. A produção de queijo colonial artesanal no município de Seara, estado de Santa Catarina, frente à legislação brasileira. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes 70. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v70i5.463>.
- Choi, K. H., H. Lee, S. Lee, S. Kim, and Y. Yoon. 2016. Cheese microbial risk assessments - A review. Asian-australas. J. Anim. Sci. 29:307–314.
- Cruz, F. T., and R. Menasche. 2014. Tradition and diversity jeopardised by food safety regulations? The Serrano cheese case, Campos de Cima da Serra region, Brazil. Food Policy 45:116–124.
- D'Amico, D. J., and C. W. Donnelly. 2010. Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. J. Dairy Sci. 93:134–147.
- D'Amico, D. J., M. J. Druart, and C. W. Donnelly. 2008. 60-day aging requirement does not ensure safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a postprocessing contaminant. J. Food Prot. 71:1563–1571.
- De Buyser, M. L., B. Dufour, M. Maire, and V. Lafarge. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. Int. J. Food Microbiol. 67:1–17.
- De Dea Lindner, J. 2016. Characteristics and production of microbial cultures. Pages 267–294 in Fermented Foods of Latin America: From Traditional Knowledge to Innovative Applications. 1st ed. Vol. 1. Ana Lucia Barretto Penna, Luis A. Nero, and Svetoslav D. Todorov, ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- De Dea Lindner, J., V. Bernini, A. De Lorentiis, A. Pecorari, E. Neviani, and M. Gatti. 2008. Parmigiano Reggiano cheese: Evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. Dairy Sci. Technol. 88:511–523.
- Dores, M. T., J. E. Nobrega, and C. L. L. F. Ferreira. 2013. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. Food Sci. Technol. (Campinas) 33:180–185.
- European Union. 2005. Commission Regulation (EC) N° 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union. L 338/26.
- Faria, A. C., D. G. Schwarz, I. A. Carvalho, B. B. Rocha, C. K. N. Castro, M. R. Silva, and M. A. Moreira. 2014. Short communication: viable *Mycobacterium avium* subspecies para tuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. J. Dairy Sci. 97:4111–4114.
- Franco, B. G. M., and M. Landgraf. 2008. Microbiologia dos alimentos. Atheneu, São Paulo, Brazil.
- Gobbetti, M., E. Neviani, and P. Fox. 2018. The main characteristics of the Italian cheeses. Pages 61–88 in The Cheeses of Italy: Science and Technology. Vol. 1. 1st ed. Marco Gobbetti, Erasmo Neviani, and Patrick Fox, ed. Springer.
- Horstmann, J., C. A. V. L. Rosa, A. T. Neto, L. C. A. Picini, J. J. Fuck, and G. Marin. 2011. Qualidade da água utilizada na ordenha de propriedades leiteiras do Meio Oeste Catarinense, Brasil. Rev. Ciênc. Agrovet. 10:9–15.
- Hunt, K., F. Butler, and K. Jordan. 2015. Modelling production of *S. aureus* enterotoxin Cbovine in milk, and its production during cheesemaking. Dairy Sci. Technol. 95:747–757.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. Censo Agropecuário Brasileiro.
- Lopes, J. E. F., and G. N. Souza. 2012. Contagem de Células Somáticas e Liberação de Bactérias de Quartos Mamários de Vacas com Mastites Subclínicas. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes 67:73.
- Martins, J. M., E. Galinari, N. J. Pimentel-Filho, J. I. Ribeiro Jr., M. M. Furtado, and C. L. L. F. Ferreira. 2015. Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. Braz. J. Microbiol. 46:219–230.
- Millet, L., M. Saubusse, R. Didiene, L. Tessier, and M. C. Montel. 2006. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. Int. J. Food Microbiol. 108:105–114.
- Oliveira, C. M. C., M. G. S. Sousa, N. S. Silva, C. L. Mendonça, J. A. S. Silveira, R. P. Oaigen, and J. T. Andrade. 2011. Prevalência e etiologia da mastite bovina leiteira de Rondon do Pará. Pesqui. Vet. Bras. 31:104–110.
- Oliveira, D. F., C. E. C. Bravo, and I. B. Tonial. 2012. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 64:521–523.
- Piana, S. C., S. C. Piana, L. O. Fariña, F. A. Falconi, and J. Bursarello. 2014. Avaliação da qualidade microbiológica da água de propriedades leiteiras dos municípios de Campo Bonito, Cascavel e Guaraniacú – PR. Semin. Ciênc. Biol. Saude 35:25–34.
- Picoli, T., J. L. Zani, F. S. Bandeira, V. F. B. Roll, M. E. R. Ribeiro, G. A. Vargas, S. O. Hübner, M. Lima, M. C. A. Meireles, and G. Fischer. 2014. Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de microorganismo em leite cru. Semin. Ciênc. Agrar. 35(suplemento):2471–2480.
- Pinto, M. S., C. L. L. F. Ferreira, J. M. Martins, V. A. M. Teodoro, A. C. S. Pires, L. B. A. Fontes, and P. I. R. Vargas. 2009. Segurança alimentar do queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, em

DE MEDEIROS CARVALHO ET AL.

- função da adoção de boas práticas de fabricação. *Pesqui. Agropecu. Trop.* 39:342–347.
- Rangel, A. H. N., R. M. B. Freire, L. H. F. Borba, D. M. Lima Jr., and L. P. Novaes. 2015. Qualidade microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes* 70:9–16.
- Ribeiro, M. G., J. S. Geraldo, H. Langoni, J. H. B. Lara, A. K. Siqueira, T. Salerno, and M. C. Fernandes. 2009. Microorganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. *Pesqui. Vet. Bras.* 29:52–58.
- Roloff, T. A. 2006. Efeitos da não aplicação do controle de qualidade da água nas indústrias alimentícias. *SaBios: Rev. Saúde e Biologia*, v. 1, n. 1.
- Silva, F., G. Silva, I. B. Tonial, and F. P. Castro-Cislaghi. 2015. Qualidade microbiológica e físico-química de queijos Coloniais com e sem inspeção, comercializados no Sudoeste do Paraná. *B. Ceppa*, V. 33, n. 2.
- Silva, N. M. A., L. P. F. Bastos, D. L. S. Oliveira, M. C. P. P. Oliveira, and L. M. Fonseca. 2012. Influence of somatic cell count and total bacterial counts of raw milk in cheese yield using small-scale methodology. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 64. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000500038>.
- Silveira, J. F. Jr., D. F. Oliveira, F. Braghini, E. M. S. Loss, C. E. C. Bravo, and I. B. Tonial. 2012. Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes* 67:67–80.
- Trmčić, A., K. Chauhan, D. J. Kent, R. D. Ralyea, N. H. Martin, K. J. Boor, and M. Wiedmann. 2016. Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. *J. Dairy Sci.* 99:6105–6120.
- Wilkinson, J., and L. C. Mior. 1999. Setor informal, produção familiar e pequena agroindústria: Interfaces. *Estud. Soc. Agric.* 13:29–45.



Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens

J.C. Brooks^a, B. Martinez^a, J. Stratton^{a,b}, A. Bianchini^{a,b}, R. Krokstrom^b, R. Hutkins^{a,*}

^a Department of Food Science and Technology, University of Nebraska-Lincoln, 338 Food Industry Complex, Lincoln, NE 68583-0919, USA

^b The Food Processing Center, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE 68583-0919, USA

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 September 2011

Received in revised form

17 February 2012

Accepted 25 March 2012

Available online 3 April 2012

Keywords:

Cheese

Raw milk

Food safety

ABSTRACT

Cheese may be manufactured in the United States using raw milk, provided the cheese is aged for at least 60 days at temperatures not less than 35 °F (1.7 °C). There is now increased concern among regulators regarding the safety of raw milk cheese due to the potential ability of foodborne pathogens to survive the manufacturing and aging processes. In this study, 41 raw milk cheeses were obtained from retail specialty shops, farmers' markets, and on-line sources. The cheeses were then analyzed for the presence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Staphylococcus aureus*, and *Campylobacter*. Aerobic plate counts (APC), coliform and yeast/mold counts were also performed. The results revealed that none of the enteric pathogens were detected in any of the samples tested. Five samples contained coliforms; two of those contained *E. coli* at less than 10² cfu/g. Three other cheese samples contained *S. aureus*. The APC and yeast-mold counts were within expected ranges. Based on the results obtained from these 41 raw milk cheeses, the 60-day aging rule for unpasteurized milk cheeses appears adequate for producing microbiologically safe products.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In the United States, interstate retail sales and distribution of raw milk is not allowed, and many states prohibit raw milk retail sales of any kind (Oliver and Murinda, 2011). However, cheese made from unpasteurized milk is permitted throughout the U.S., provided the cheese has been aged according to federal guidelines. These guidelines, originally codified in 1950 in the U.S. Code of Federal Regulations, state that unpasteurized milk can be used for cheese-manufacturing as long as the resulting cheese is "cured" or held at a temperature of not less than 35 °F (1.7 °C) for at least 60 days (21 CFR, Part 133 – FDA, 2011). This rule was based on the assumption that pathogenic organisms, even if present initially in the milk or curd, would eventually die in the low pH, low water activity, high salt, competitive cheese environment (Baylis, 2009; Donnelly, 2005; Johnson, 2001; Knight et al., 2008).

Since the implementation of this regulation more than 60 years ago, raw milk cheeses had been, for many years, only sporadically associated with foodborne illnesses in the U.S. (Altekruse et al., 1998). The safety of raw milk cheese has been questioned, however, as several large outbreaks of foodborne disease due to consumption of raw milk cheeses have been reported in the past

10–20 years (Ryser, 2001; Vasavada, 1988; West, 2008). In addition, several studies in which milk was intentionally inoculated with pathogenic bacteria have shown that some pathogens can survive the manufacturing process and/or the 60 day aging period (D'Amico et al., 2008a; D'Amico et al., 2010; Goepfert et al., 1968; Schwartzman et al., 2011). Other factors may have also led to renewed interest in the safety of raw milk cheese. For example, at the time the raw milk cheese regulation was implemented, the main cheeses produced and consumed in the U.S. were primarily hard cheeses, such as Cheddar-type, Swiss, and hard Italian type cheeses. In general, these cheeses, if aged for the prescribed time, were not known to support survival of pathogens. In contrast, many of the fungal and surface ripened cheeses that have more recently become popular and that are considered to be at risk for pathogens were rarely consumed in the U.S. during the 1950s. It is also important to note that this rule was based on the prevalence of known pathogens of that era (i.e., mainly *Salmonella* and *S. aureus*) and long before contemporary pathogens such as *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Campylobacter* had been recognized (Zottola and Smith, 1991). Not only do these bacteria cause serious disease and even deaths, but some are also able to tolerate inhospitable environments, including cheese.

As a result of these outbreaks and other reports, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) is now reviewing these regulations and have indicated that more strict requirements may be proposed

* Corresponding author. Tel.: +1 402 472 2820; fax: +1 402 472 1693.
E-mail address: rhutkins1@unl.edu (R. Hutkins).

(Neuman, 2011). These changes may range from extension of the 60 day aging period to outright rescinding of the regulation. Changes in the CFR 21, Part 133 would have a major impact on artisan and specialty cheese manufacturers who often produce raw milk cheese exclusively. Other manufacturers, as well as various consumer groups, have also expressed concern that restrictions on the manufacture and sales of raw milk cheese would deprive consumers of many popular types of cheese (Neuman, 2011).

Analyses of the microbiological quality of raw milk and cheese made from raw milk have revealed varying levels of quality and safety, ranging from raw milk samples that met pasteurized milk standards to those that tested positive for several pathogens (D'Amico et al., 2008a,b; D'Amico and Donnelly, 2010; Giannino et al., 2009; Little et al., 2008). However, there have been few nation-wide surveys of raw milk cheese that have specifically screened for the presence of pathogenic bacteria. Therefore, the objective of this study was to assess the microbiological quality and safety of cheeses made from raw milk.

2. Materials and methods

2.1. Sample collection

Cheese samples were collected, on a nation-wide basis, from retail specialty shops, farmers' markets, and on-line sources. All were labeled as having been made from raw milk. Samples were stored at refrigeration temperature (2–4 °C) from the time of purchase to delivery to the lab. Once the samples were received, the cheese type, source of milk, location of manufacture, and purchase location were recorded, and each sample was coded and then repackaged using a clean washable cutting board, sterile knife, and plastic wrap.

2.2. Microbiological analysis

Cheese samples were analyzed for Aerobic Plate Count (APC), coliform, generic *E. coli*, yeast/mold, and *Staphylococcus aureus* according to standard methods. In general, the samples were obtained from the core or interior portions of the cheese, although small amounts of surface material may have also been incorporated into some of the samples.

Briefly, 25 grams of cheese were weighed into sterile Whirl Pack bags (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) and homogenized in 225 ml of buffered peptone water in a Stomacher Model 400 (Seward Laboratory Systems, Bohemia, NY) for 2 min. Serial dilutions were made in Butterfield's buffer. For APC, counts were determined by the spread plating technique according to standard methods. Coliform/*E. coli* and *S. aureus* counts were determined according to AOAC methods 991.14 and 2001.05, respectively, using Petrifilm (3M Microbiology, St. Paul, MN). After incubation, according to the manufacturer's directions, all plates were enumerated using a Gallenkamp colony counter (Loughborough, UK). For yeast and mold, 1:10 dilutions were plated onto Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) Agar (Acumedia, Lansing, MI). Plates were incubated at 25 °C for five days and counted as above.

Cheese samples were examined for *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* using SDIX RapidChek (Strategic Diagnostics, Newark, DE) lateral flow ELISA tests. Enrichment cultures were first prepared from each cheese using 25 g samples weighed into Whirl Pack bags, to which 225 ml of the appropriate enrichment broths were added, followed by mixing in a Stomacher 400 for 30 s. For *Salmonella*, 225 ml of buffered peptone water (Acumedia) were added, mixed, and incubated at 37 °C for 24 h. Then, 1.0 ml of sample was transferred to 10 ml of tetrathionate broth (Acumedia) and incubated for 24 h at 41 °C. For *E. coli* O157:H7, 225 ml of mTSB (Acumedia) were added to the cheese

sample, mixed, and incubated at 37 °C for 24 h. For *Listeria*, 225 ml of RapidChek base enrichment media for *Listeria* (with RapidChek *Listeria* supplement) was added, mixed, and incubated at 32 °C for 48 h. Enrichment samples were then applied to the pathogen-specific test strips according to the manufacturer's directions. The sensitivity of the test is one cell per 25 g of sample.

Detection of *Campylobacter* was performed using modified Campy-Cefex media according to the direct plating method of Oyarzabal et al. (2005). *Campylobacter* plates were incubated at 42 °C for 48 h under microaerophilic conditions (10% CO₂, 5% O₂, and 85% N₂) utilizing CampyGen atmosphere generating packs (Oxoid, Basingstoke, England).

2.3. Water activity and pH

The pH of all cheese samples was measured in duplicate using an Orion Model SA 720 (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Water activities were determined using an AquaLab Series 3TE instrument (Decagon Devices Inc., Pullman, Washington).

3. Results

3.1. Collection of cheese samples

A total of 41 raw milk cheese samples were obtained from retail specialty stores (29 samples), farmers' markets (6 samples), and

Table 1
Characteristics of raw milk cheeses.

Sample	Location	Type	Milk	<i>a_w</i>	pH
A	Northeast	Semi-hard	Cow	0.88	5.4
B	Northeast	Cheddar	Cow	0.93	7.0
C	Northeast	Blue	Goat	0.93	6.3
D	Northeast	Hard	Cow	0.90	6.3
E	Northeast	Semi-soft	Cow	0.94	7.1
F	Midwest	Gouda	Cow	0.86	5.4
G	Northeast	Hard	Cow	0.94	5.8
H	Northeast	Semi-hard	Cow	0.91	5.5
I	Midwest	Hard	Cow	0.91	5.4
J	West	Semi-hard	Sheep	0.95	6.0
K	Midwest	Blue	Cow	0.89	6.4
L	Northwest	Blue	Cow	0.94	7.0
M	Northeast	Blue	Cow	0.93	7.1
N	Northeast	Gruyere	Cow	0.94	5.4
O	Northeast	Semi-hard	Cow	0.93	5.6
P	Northeast	Semi-hard	Cow	0.95	5.3
Q	Northeast	Soft	Cow	0.90	5.5
R	Northeast	Gouda	Cow	0.93	6.4
S	Northeast	Semi-soft	Cow	0.95	7.4
T	Northeast	Cheddar	Cow	0.91	5.6
U	Northeast	Romano	Sheep	0.93	5.8
V	Northeast	Romano	Sheep	0.97	5.0
W	Northeast	Romano	Sheep	ND ^a	ND
X	Northeast	Semi-soft	Cow	0.97	6.3
Y	Northeast	Semi-soft	Cow	0.95	7.3
Z	Northeast	Blue	Cow	0.92	6.9
AA	Midwest	Cheddar	Cow	0.96	4.9
BB	Midwest	Monterey Jack	Cow	0.95	4.9
CC	Midwest	Cheddar	Cow	0.95	4.8
DD	Midwest	Cheddar	Goat	0.95	5.1
EE	Midwest	Gouda	Cow	0.92	5.0
FF	Midwest	Hard	Cow	0.91	5.2
GG	Midwest	Cheddar	Cow	0.92	5.3
HH	Northeast	Hard	Cow	0.93	6.2
II	Midwest	Gouda	Cow	0.92	5.5
JJ	Northeast	Cheddar	Cow	0.94	5.3
KK	Northeast	Blue	Cow	0.92	6.9
LL	Northeast	Cheddar	Cow	0.95	5.0
MM	Midwest	Cheddar	Cow	0.94	5.2
NN	Midwest	Blue	Cow	0.93	4.9
OO	Midwest	Gouda	Cow	0.88	5.2

^a Not determined.

online sources (6 samples). Samples were also categorized by location of manufacture, cheese type, and milk type (Table 1). Water activity (a_w) and pH values ranged from 0.86 to 0.97 and 4.8 to 7.3, respectively (Table 1).

3.2. General microbiological quality

Results of the cultural enumerations for APC, coliforms, *E. coli*, *Staphylococcus*, and yeast/mold are shown in Table 2. The APC results of the 41 samples ranged from 2.7×10^4 cfu/g to 2.1×10^8 cfu/g. Only five samples contained detectable coliforms, with counts ranging from 5×10^1 to 1.7×10^3 cfu/g, and only two of those samples contained *E. coli*, with both less than 10^2 cfu/g. Another three samples had detectable *S. aureus*; two contained less than 10^2 cfu/g, but one sample contained greater than 10^4 cfu/g. Although only seven cheeses were specifically identified as mold-ripened cheeses (and were not analyzed for yeast-mold), mold growth was apparent on the surface of several of the remaining 34 cheeses. Of these cheeses, 24 contained yeast-mold counts between 10^1 and 10^4 cfu/g (Table 2).

3.3. Pathogen detection

All 41 cheese samples were enriched and then screened for the presence of pathogens using lateral flow rapid ELISA tests for *E. coli*

O157:H7 (Neogen Reveal, Lansing, MI), *Listeria* sp., and *Salmonella* (SDIX RapidChek; Strategic Diagnostics, Newark, DE). These devices contain antibodies to the target organism to ensure sensitivity and specificity and have integrated visual control lines that provide definitive interpretations. Pathogens were not detected in any of the samples (data not shown). *Campylobacter* was also absent from all of the samples (<10 cfu/g; data not shown).

4. Discussion

In the U.S., federal regulations permit the manufacture and sale of cheese made from unpasteurized milk, provided the cheese has been aged for at least 60 days at a temperature not less than 1.7 °C (CFR 21, Part 133). This regulation, in force since 1950, was based on the assumption that pathogenic bacteria, if present in the raw milk, would not survive the manufacture and aging process. Because the FDA had few studies on which to base this regulation, it was likely established on the observation that raw milk cheese, aged for at least 60 days, had rarely been associated with foodborne disease. Subsequently, however, several challenge studies suggested that pathogenic bacteria, if present in milk prior to cheese making, could survive the manufacture and aging process (Bachmann and Spahr, 1995; Leyer and Johnson, 1992; Reitsma and Henning, 1996). Nonetheless, this regulation remained in force, perhaps because relatively few outbreaks due to consumption of aged raw milk

Table 2
Microbiological quality of raw milk cheeses.

Sample	APC	Coliform	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus</i>	Yeast	Mold
A	7.3×10^5	1.7×10^3	<10	<10	$>5.6 \times 10^{6a}$	$>5.6 \times 10^{6a}$
B	1.9×10^7	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
C	6.5×10^4	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
D	8.7×10^5	<10	<10	<10	9.8×10^2	5.0×10^2
E	2.7×10^7	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
F	5.2×10^4	<10	<10	<10	2.6×10^2	1.5×10^3
G	2.1×10^6	<10	<10	<10	5.9×10^4	2.7×10^2
H	4.0×10^5	<10	<10	<10	4.9×10^3	2.3×10^2
I	1.2×10^5	<10	<10	<10	3.2×10^3	1.0×10^1
J	3.2×10^7	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
K	1.5×10^5	<10	<10	<10	1.4×10^3	2.6×10^3
L	8.3×10^6	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
M	2.1×10^8	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
N	2.7×10^4	<10	<10	<10	$>5.6 \times 10^{6a}$	2.0×10^1
O	1.4×10^6	<10	<10	<10	$>5.6 \times 10^{6a}$	<10
P	2.5×10^7	<10	<10	<10	$>5.6 \times 10^{6a}$	<10
Q	1.9×10^6	<10	<10	<10	1.5×10^5	9.0×10^1
R	9.0×10^7	<10	<10	<10	6.0×10^1	4.6×10^2
S	2.1×10^8	<10	<10	<10	1.7×10^5	4.0×10^2
T	3.4×10^7	<10	<10	<10	1.0×10^3	8.5×10^2
U	1.0×10^6	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
V	1.5×10^8	5.0×10^1	3.0×10^1	<10	ND ^b	ND ^b
W	8.1×10^7	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
X	1.4×10^8	2.0×10^1	1.0×10^1	2.0×10^1	9.1×10^3	1.2×10^4
Y	8.6×10^7	2.7×10^3	<10	1.0×10^1	<10	3.3×10^2
Z	1.3×10^8	<10	<10	$>3.0 \times 10^{4a}$	ND ^b	ND ^b
AA	5.9×10^7	<10	<10	<10	<10	<10
BB	8.6×10^7	<10	<10	<10	3.3×10^1	3.3×10^1
CC	$>5.6 \times 10^{9a}$	<10	<10	<10	<10	<10
DD	5.6×10^5	2.3×10^2	<10	<10	<10	<10
EE	2.2×10^7	<10	<10	<10	1.0×10^2	1.0×10^2
FF	1.1×10^7	<10	<10	<10	1.0×10^1	2.3×10^2
GG	6.4×10^4	<10	<10	<10	3.6×10^3	1.8×10^3
HH	1.1×10^8	<10	<10	<10	$>5.6 \times 10^{6a}$	1.2×10^4
II	1.3×10^7	<10	<10	<10	<10	8.0×10^1
JJ	9.8×10^4	<10	<10	<10	9.0×10^1	8.3×10^1
KK	1.5×10^7	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
LL	8.3×10^4	<10	<10	<10	2.2×10^4	1.0×10^2
MM	3.8×10^5	<10	<10	<10	3.3×10^1	3.0×10^2
NN	6.2×10^6	<10	<10	<10	ND ^b	ND ^b
OO	1.3×10^4	<10	<10	<10	1.3×10^3	1.0×10^1

^a Estimated.

^b Not determined.

cheese had been reported between 1950 and 1990 (Zottola and Smith, 1991). In the past 20 years, however, many small and several large foodborne outbreaks linked to consumption of cheese made from unpasteurized milk have occurred, both in Europe and in the U.S. (Goulet et al., 1995; FDA, 2010a,b,c; Hall and French, 2011). These outbreaks prompted the FDA to announce that they were initiating a review of this regulation (Neuman, 2011).

To assess the microbiological safety of raw milk cheeses, we examined 41 different cheeses from sources around the U.S. Standard methods and AOAC-approved test kits and procedures were used for sample enrichment and pathogen testing. Importantly, all of the cheeses tested negative for the four major pathogens (*E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, and *Campylobacter*) associated with recent raw milk cheese outbreaks. For these analyses (except for *Campylobacter*), immunoassay-based SDIX RapidChek and Neogen Reveal devices were used. These types of rapid test systems are AOAC performance tested for use in a variety of foods and environmental samples (Henning et al., 2004). They are typical device platforms that would be used by commercial testing labs to provide preliminary screening results (Dwivedi and Jaykus, 2010). Rapid methods are generally used as screening techniques only, with negative results accepted as is, but positive results require further confirmation by the appropriate official method (Feng, 2001).

Three samples did contain *S. aureus*, although neither coagulase reactions nor enterotoxin assays were determined. One sample (sample Z) contained levels that by European Commission standards would qualify this cheese as being of unsatisfactory microbial quality (Giammanco et al., 2011). Other investigators, however, also reported the presence of *S. aureus* in raw milk cheeses noted that that none of the 33 *S. aureus* isolates produced enterotoxins (Cremonesi et al., 2007). In contrast, D'Amico and Donnelly (2011) isolated several strains of *S. aureus* from raw milk intended for cheese manufacture that were capable of enterotoxin production. However, the type of enterotoxin produced (type C) is usually not associated with foodborne illness (D'Amico and Donnelly, 2011).

Although many of these cheeses also contained high yeast-mold counts, this was not unexpected given the absence of plastic or other packaging materials for many of the cheeses. In addition, 36 (88%) of the samples were within the standards expected for coliform bacteria in pasteurized milk (<10/g), according to the United States Grade A Pasteurized Milk Ordinance (U.S. Department of Health and Human Services, 2009).

Despite the popularity of domestically-produced raw milk cheeses among consumers, their availability is considerably more limited compared to cheeses made from pasteurized milk. Accordingly, cheese samples were obtained from specialty stores, on-line sources, and farmers' markets. The manufacturing locations included 12 different states, and although it was not always possible to establish the production size of the manufacturer, some were self-identified as being very small (i.e., with production less than 100 pounds per week). In addition, cheese samples represented different types of milk (i.e., cow, sheep, and goat) as well as varieties of cheese (i.e., Cheddar, Gouda, smear-type, and blue-veined) and aging periods (from 90 days to more than 2 years). Although compositional analyses were not done, the pH and water activity for all of the cheeses were within the expected ranges. In addition, APC were typical of aged cheese, ranging from 2.7×10^4 to 2.1×10^8 cfu/g.

The results from this survey showing that *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, and *Campylobacter* were absent in these 41 raw milk aged cheese samples is generally consistent with other recently published prevalence studies. A large survey of 181 raw milk cheeses revealed only 1 sample that tested positive for *L. monocytogenes* (Ryser, 2007). In another large survey of 1,819 raw or thermized milk cheeses manufactured primarily in Europe and

the United Kingdom, none contained *Salmonella* (Little et al., 2008). However, in the same study 17 tested positive for *L. monocytogenes*. In a survey of 83 Spanish raw sheep milk cheeses, two samples tested positive for STEC by a PCR-based method (Caro and Garcia-Armesto, 2007). Recently, a survey of 122 raw bovine and caprine milk cheese samples from Norway, collected during various stages of cheese manufacture and aging, revealed that while *S. aureus* was common, only one sample tested positive for *L. monocytogenes* (Jakobsen et al., 2011). Other surveys, however, have detected pathogens at somewhat higher prevalence rates. In one recent study, 26 out of 400 raw milk cheese samples tested positive for EHEC, based on a PCR-based method that relied on combinations of virulence determinants (Madic et al., 2011). Similarly, STEC were recovered in 136 out of 1,039 French raw milk cheese samples (Vernozy-Rozand et al., 2005). The presence of *L. monocytogenes* in European raw milk cheeses has also been frequently reported (Knight et al., 2008). Indeed, in many parts of Europe, where production of fresh, soft raw milk cheeses is permitted, the prevalence of pathogens appears to be more common (de Buyser et al., 2001). For example, Williams and Withers (2010) reported that of 25 raw milk cheeses analyzed, 21 tested positive for one of four pathogens (*Bacillus cereus*, *Listeria*, *S. aureus*, or *Mycobacterium paratuberculosis*) and 7 tested positive for two pathogens.

Currently, raw milk cheese accounts for a very small part of the total domestic cheese market. However, the market for these cheeses continues to expand (West, 2008). Although foodborne disease outbreaks associated with raw milk cheese in the U.S. have been infrequent, as production and consumption rates increase, manufacturers may expect that federal and local surveillance of products and manufacturing facilities may also increase. Moreover, although the results from this study would appear to indicate that the current regulations for producing safe, high quality raw milk cheese are adequate, risk assessment models suggest that efforts aimed at improving hygiene and on-farm milk practices (i.e., by adoption of Good Manufacturing Practices and HACCP) can be even more effective at reducing risks of foodborne disease (Dixon, 2000; Knight et al., 2008). These include such practices as regular checks of animal health, testing of milk and the processing establishment to meet hygiene requirements, and the monitoring of critical points in the process such as temperature during cooling and transport (Dixon, 2000).

Acknowledgements

We thank the Department of Food Science and Technology (UNL) for providing funding for this project. This work was also supported by a Research Experience for Undergraduates Grant (Grant number DBI 0851593) from the National Science Foundation.

References

- Altekruse, S.F., Timbo, B.B., Mowbray, J.C., Bean, N.H., Potter, M.E., 1998. Cheese-associated outbreaks of human illness in the United States, 1973 to 1992: sanitary manufacturing practices protect consumers. *J. Food Prot.* 61 (10), 1405–1407.
- Bachmann, H.P., Spahr, U., 1995. The fate of potentially pathogenic bacteria in Swiss hard and semi-hard cheeses made from raw milk. *J. Dairy Sci.* 78 (3), 476–483.
- Baylis, C.L., 2009. Raw milk and raw milk cheeses as vehicles for infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Int. J. Dairy Technol.* 62 (3), 293–307.
- Caro, I., Garcia-Armesto, M.R., 2007. Occurrence of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a Spanish raw ewe's milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 116 (3), 410–413.
- Cremonesi, P., Perez, G., Pisoni, G., Moroni, P., Morandi, S., Luzzana, M., Brasca, M., Castiglioni, B., 2007. Detection of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* isolates in raw milk cheese. *Lett. Appl. Microbiol.* 45 (6), 586–591.
- D'Amico, D.J., Donnelly, C.W., 2011. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from raw milk utilized in small-scale artisan cheese production. *J. Food Prot.* 74 (8), 1353–1358.

- D'Amico, D.J., Donnelly, C.W., 2010. Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. *J. Dairy Sci.* 93 (1), 134–147.
- D'Amico, D., Druart, M., Donnelly, C.W., 2008a. 60-Day aging requirement does not ensure the safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a post-processing contaminant. *J. Food Prot.* 71 (8), 1563–1571.
- D'Amico, D., Groves, E., Donnelly, C.W., 2008b. Low incidence of foodborne pathogens of concern in raw milk utilized for farmstead cheese production. *J. Food Prot.* 71 (8), 1580–1589.
- D'Amico, D., Druart, M., Donnelly, C.W., 2010. Behavior of *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and aging of Gouda and stirred-curd Cheddar cheese manufactured from raw milk. *J. Food Prot.* 73 (12), 2217–2224.
- de Buyser, M.L., Dufour, B., Maire, M., Lafarge, V., 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. *Int. J. Food Microbiol.* 67 (1–2), 1–17.
- Dixon, P., 2000. European systems for the safe production of raw milk cheese. Available from: http://www.vtcheese.com/vtcheese/rawmilk_files/rawmilk.html.
- Donnelly, C., 2005. The pasteurization dilemma. In: Kindstedt, P. (Ed.), *American Farmstead Cheese: The Complete Guide to Making and Selling Artisan Cheeses*. Chelsea Green Publishing Company, White River Junction, Vermont, pp. 173–196.
- Dwivedi, H.P., Jaykus, L.A., 2010. Detection of pathogens in foods: the current state-of-the-art and future directions. *Crit. Rev. Microbiol.* 37 (1), 40–63.
- FDA, 2010a. U.S. Food and Drug Administration. FDA news release: FDA: Consumers should not eat Sally Jackson cheese due to risk of *Escherichia coli* O157:H7. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm237381.htm>.
- FDA, 2010b. U.S. Food and Drug Administration. FDA news release: Morningland Dairy conducting nationwide voluntary recall of all cheese labeled as Morningland Dairy & Ozark Hills Farm because of possible health risk.
- FDA, 2010c. U.S. Food and Drug Administration. FDA news release: FDA, CDC, and Costco warn consumers to avoid Bravo Farms Dutch Style Gouda cheese. <http://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm232748.htm>.
- FDA, 2011. Code of Federal Regulations, Title 21 — Food and Drugs, Part 133 Cheeses and Related Cheese Products. Washington, DC.
- Feng, P., 2001. Rapid Methods for Detecting Foodborne Pathogens. *Bacteriological Analytical Manual Online*. Appendix 1. Jan. 2001.
- Giannino, M.L., Marzotto, M., Dellaglio, F., Feligini, M., 2009. Study of microbial diversity in raw milk and fresh curd used for Fontina cheese production by culture-independent methods. *Int. J. Food Microbiol.* 130 (3), 188–195.
- Giammanco, G.M., Pepe, A., Aleo, A., D'Agostino, V., Milone, S., Mammina, C., 2011. Microbiological quality of Pecorino Siciliano “primosale” cheese on retail sale in the street markets of Palermo, Italy. *New Microbiol.* 34 (2), 179–185.
- Goepfert, J.M., Olson, N.F., Marth, E.H., 1968. Behavior of *Salmonella typhimurium* during manufacture and curing of cheddar cheese. *Appl. Microbiol.* 16 (6), 862–866.
- Goulet, V., Jacquet, C., Vaillant, V., Rebic'e, I., Mouret, E., Lorente, C., Maillot, E., Stainer, F., Rocourt, J., 1995. Listeriosis from consumption of raw-milk cheese. *Lancet* 345 (8964), 1581–1582.
- Hall, W.F., French, N., 2011. An assessment of available information on raw milk cheeses and human disease 2000–2010. Ministry of Agriculture and Forestry Technical Paper No: 2011/58.
- Henning, D.R., Flowers, R., Reiser, R., Ryser, E.T., 2004. Pathogens in milk and milk products. In: Wehr, H.M., Frank, J.F. (Eds.), *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 17th ed. American Public Health Association, Washington, DC, pp. 103–152.
- Jakobsen, R.A., Heggebø, R., Sunde, E.B., Skjervheim, M., 2011. *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in Norwegian raw milk cheese production. *J. Food Microbiol.* 28 (3), 492–496.
- Johnson, M.E., 2001. Cheese products. In: Marth, E.H., Steele, J.L. (Eds.), *Applied Dairy Microbiology*, second ed. Marcel Dekker Inc., New York, NY, pp. 345–384.
- Knight, A.J., Worosz, M.R., Todd, E.C.D., Bourquin, L.D., 2008. *Listeria* in raw mild soft cheese: a case study of risk governance in the United States using the IRGC Framework. In: Renn, O., Walker, K. (Eds.), *Global Risk Governance*. Springer, Berlin and Dordrecht, pp. 179–220.
- Leyer, G.J., Johnson, E.A., 1992. Acid adaptation promotes survival of *Salmonella* spp. in cheese. *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (6), 2075–2080.
- Little, C.L., Rhoades, J.R., Sagoo, S.K., Harris, J., Greenwood, M., Mithani, V., Grant, K., McLauchlin, J., 2008. Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiol.* 25 (2), 304–312.
- Madic, J., Vingadassalon, N., de Garam, C.P., Marault, M., Scheutz, F., Brugère, H., Jamet, E., Auvray, F., 2011. Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O26:H11, O103:H2, O111:H8, O145:H28, and O157:H7 in raw-milk cheeses by using multiplex real-time PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 77 (6), 2035–2041.
- Neuman, W., 2011. Raw milk cheesemakers fret over possible new rules. http://www.nytimes.com/2011/02/05/business/05cheese.html?_r=1.
- Oliver, S.P., Murinda, S.E., 2011. Milk and raw milk consumption as a vector for human disease. In: Krause, D., Hendrick, S. (Eds.), *Zoonotic Pathogens in the Food Chain*. CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK, pp. 99–118.
- Oyarzabal, O.A., Macklin, K.S., Barbaree, J.M., Miller, R.S., 2005. Evaluation of agar plates for direct enumeration of *Campylobacter* spp. from poultry carcass rinses. *Appl. Environ. Microbiol.* 71 (6), 3351–3354.
- Reitsma, C.J., Henning, D.R., 1996. Survival of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 during the manufacture and curing of cheddar cheese. *J. Food Prot.* 59 (5), 460–464.
- Ryser, E.T., 2001. Public health concerns. In: Marth, E.H., Steele, J.L. (Eds.), *Applied Dairy Microbiology*, second ed. Marcel Dekker Inc., New York, NY, pp. 397–546.
- Ryser, E.T., 2007. Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in cheese and other fermented dairy products. In: Ryser, E.T., Marth, E.H. (Eds.), *Listeria, Listeriosis and Food Safety*, third ed. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 405–502.
- Schvartzman, M.S., Maffee, A., Tenenhaus-Aziza, F., Sanna, M., Jordan, K., 2011. Modeling the fate of *Listeria monocytogenes* during manufacture and ripening of smeared cheese made with pasteurized or raw milk. *Int. J. Food Microbiol.* 145 (Suppl. 1), S31–S38.
- U.S. Department of Health and Human Services, 2009. Grade “A” Pasteurized Milk Ordinance, 2009 Revision. Food and Drug Administration.
- Vasavada, P.C., 1988. Pathogenic bacteria in milk — a review. *J. Dairy Sci.* 71 (10), 2809–2816.
- Vernozy-Rozand, C., Montet, M.P., Berardin, M., Baval, C., Beutin, L., 2005. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains from raw milk cheeses in France. *Lett. Appl. Microbiol.* 41 (3), 235–241.
- West, H.G., 2008. Food fears and raw-milk cheese. *Appetite* 51 (1), 25–29.
- Williams, A.G., Withers, S.E., 2010. Microbiological characterization of artisanal farmhouse cheeses manufactured in Scotland. *Int. J. Dairy Technol.* 63 (3), 356–369.
- Zottola, E.A., Smith, L.B., 1991. Pathogens in cheese. *Food Microbiol.* 8 (3), 172–182.



Processo SAR 00002021/2020

Dados da Autuação

Autuado em: 28/09/2020 às 14:10

Setor origem: SAR/PROTSAR - Protocolo da Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca

Setor de competência: SAR/GABS - Gabinete do Secretário

Interessado: ASSEMBLEIA LEGISLATIVA DE SANTA CATARINA

Classe: ENCAMINHAMENTO

Assunto: ENCAMINHAMENTO

Detalhamento: Encaminha expediente referente Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Artesanal.



OF/GMN/053/2020

Florianópolis, SC, em 23 de setembro de 2020.

Senhor Secretário Ricardo de Gouvêa,

Cumprimentando-o cordialmente, sirvo-me do presente para encaminhar a esta Secretaria, expediente recebido de um grupo de trabalho (composto de pesquisadores, extensionistas, técnicos, profissionais e entidades) interessados na proposta de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do Queijo Colonial Artesanal - de que trata a Lei nº 17.486/2018.

Da análise do expediente, consistente em Ofício direcionado à esta Secretaria de Estado da Agricultura e datado de 10 de setembro de 2020, constata-se a importância do atendimento ao pleito nele retratado, consistente na: (a) reavaliação do RTIQ, especialmente para cumprir o acordo firmado entre Estado de Santa Catarina e a instituição coordenadora do grupo de trabalho ocorrida em março de 2019; e, (b) seja a proposta colocada em consulta pública no Estado de Santa Catarina.

Feitas estas considerações, ao tempo em que encaminhamos os documentos anexos, solicitamos nos sejam prestadas informações quanto ao acatamento (ou não) dos pleitos nele constantes e acima citados.

Aproveito a oportunidade, para reiterar votos de estima e consideração.

Atenciosamente,


Mauro de Nadal
Deputado Estadual

Exmo.

RICARDO DE GOUVÊA

Secretário de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural
Florianópolis - SC

PALÁCIO BARRIGA-VERDE

Rua Doutor Jorge Luz Fontes, 310 - Centro

88020-900 - Florianópolis - SC – Fone: (48) 3221-2702 - Sala 101

Florianópolis, 10 de setembro de 2020

À Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca de Santa Catarina (SAR)

Assunto: RTIQ Queijo Colonial Artesanal

Prezados Senhores,

Considerando o Ofício no 343/2020, encaminhado por esta Secretaria, vimos por meio deste, prestar esclarecimentos que entendemos necessários para elucidação da proposta de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do Queijo Colonial Artesanal.

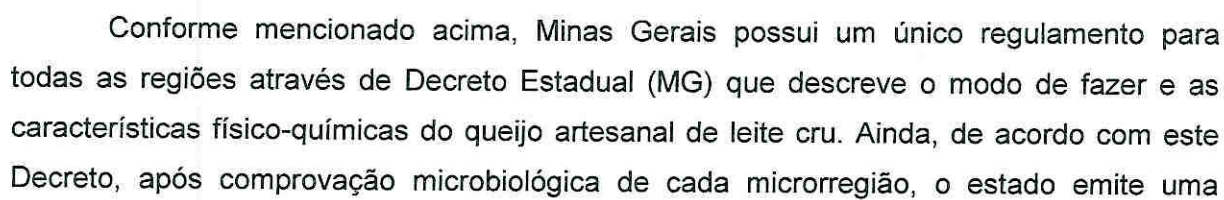
Conforme disposto no documento de apresentação do RTIQ do Queijo Colonial Artesanal protocolado junto a SAR:

“Conforme encaminhamento de reunião realizada em março de 2019 entre representantes da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Secretaria da Agricultura e Pesca de Santa Catarina - SAR e Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa - CIDASC, protocolamos junto a esta Secretaria a proposta de Regulamento de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Santa Catarina.”

A reunião supramencionada foi realizada com a representante da Secretaria da Agricultura e Pesca de Santa Catarina (SAR), a Sra. Mara Rúbia Romeu Pinto e da Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa (CIDASC), Sra. Lúcia Correia, que autorizaram os pesquisadores da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), prof. Juliano De Dea Lindner e doutoranda Michelle M Carvalho do Departamento de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, a conduzirem a elaboração do RTIQ do Queijo Colonial Artesanal conforme foi apresentado para esta Secretaria.

Na referida reunião, ficou acordado que o RTIQ seria elaborado de forma genérica e abrangeria todos os produtores de queijo colonial artesanal do Estado de Santa Catarina, bem como suas variedades nas diferentes regiões. Ademais, foi discutido o modelo utilizado por Minas Gerais e por consenso entre os presentes na reunião, este modelo deveria ser seguido para implementação em Santa Catarina.

O Queijo Minas Artesanal é produzido em sete microrregiões de Minas Gerais como disposto no mapa abaixo (Fonte: EMATER), que inclui a produção de mais de 9 mil produtores exclusivamente para este tipo de queijo, de acordo com dados informados pela EMATER (2020). Santa Catarina possui aproximadamente 15 mil produtores de queijo artesanal em todo o estado, conforme IBGE (2017). Com base no conhecimento dos integrantes do Grupo de Trabalho e estudos por nós desenvolvidos, inferimos que em torno de 90% são produtores de Queijo Colonial, ou seja, aproximadamente 13.500 produtores.



portaria definindo o tempo de maturação daquela região, conforme se extrai da Portaria IMA Nº 1736 DE 27/07/2017:

“§ 1º Fica definido o período de maturação do queijo Minas Artesanal como mínimo de 14 (quatorze) dias para a microrregião de Araxá, mínimo de 17 (dezessete) dias para a microrregião do Serro, e mínimo de 22 (vinte e dois) dias para as microrregiões da Canastra, do Cerrado, do Campo das Vertentes, de Serra do Salitre e do Triângulo Mineiro, até que sejam realizadas novas pesquisas ratificando ou retificando os referidos tempos de maturação.”

Na ocasião da reunião supramencionada, o Decreto Estadual 362/2019 (SC) ainda não havia sido publicado. De acordo com informações prestadas pela representante da SAR, estava em vias de aprovação e publicação, o que ocorreu no Diário Oficial do Estado (DOE) em novembro de 2019.

Após o encaminhamento da reunião, formamos um grupo de trabalho multidisciplinar para elaboração da proposta do RTIQ do Queijo Colonial Artesanal.

Este grupo de trabalho contou com a participação de produtores, pesquisadores, técnicos e extensionistas de diferentes regiões do estado de Santa Catarina. Estes, discutiram exaustivamente a elaboração da proposta de RTIQ, conforme disposto na carta de apresentação:

“O trabalho técnico de construção da proposta contou com a participação de pesquisadores de distintas instituições e de extensionistas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI). A proposta ainda contou com a participação / colaboração de diversas entidades que atuam direta ou indiretamente com a produção de Queijo Colonial Artesanal no Estado de Santa Catarina, as quais subscrevem este documento.”

Para discussão da proposta utilizou-se como referência inicial, um artigo científico publicado na revista *Journal of Dairy Science*, que possui *Qualis A1*, realizado por pesquisadores integrantes do grupo de trabalho em uma microrregião (município de Seara), o qual foi apresentado para essa Secretaria, intitulado *Traditional Colonial-type cheese from south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk*.

O referido trabalho demonstra a variabilidade do processo produtivo do Queijo Colonial em uma única microrregião no que concerne aos parâmetros físico-químicos e o modo de fazer o queijo. Comparando com trabalhos de outras regiões, também publicados em revistas científicas, em suma, esses artigos indicam que a variabilidade de processamento e parâmetros identificados se assemelham a outras regiões produtoras de Queijo Colonial Artesanal.

Além deste artigo, o grupo também consultou trabalhos publicados em eventos regionais, bem como trabalhos em andamentos e não publicados realizados por membros integrantes da discussão. Além disso, consideramos como referência, os relatos de representantes de produtores que não tinham ainda em sua região trabalhos científicos realizados.

Nesta ampla discussão e análises, observamos que as informações se assemelhavam, o que permitiu ao grupo chegar a conclusão de que a elaboração deste único regulamento para o Queijo Colonial Artesanal atenderia todas as produções existentes nas diferentes regiões do estado de Santa Catarina.

Neste sentido, o “N amostral” questionado por esta Secretaria não se resume apenas ao trabalho científico publicado apresentado mas, como relatado, reflete a realidade de diversas entidades que contribuíram para a proposta em questão.

A Lei Estadual nº 17.486 de 2018 estabelece em seu Artigo 1º.

“Art. 1º Esta Lei dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru, no Estado de Santa Catarina. § 1º Para os fins desta Lei, considera-se: I – queijo artesanal: aquele elaborado com leite cru da própria fazenda, com métodos tradicionais, com vinculação ao território de origem, conforme Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) estabelecido para cada tipo e variedade, sendo permitida a aquisição de leite de propriedades rurais próximas desde que atendam todas as normas sanitárias pertinentes; e”

Extraí-se deste parágrafo grifado que os queijos artesanais, bem como suas variedades, possuirão regulamentos técnicos que definirão seus padrões de identidade e qualidade.

De acordo com o Artigo 4º,

“Art. 4º Para cada tipo de queijo será elaborado um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ). § 1º A elaboração dos regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos diferentes tipos de queijos, contará com a participação de uma equipe multidisciplinar incluindo os produtores envolvidos ou seus representantes, além de pesquisadores e profissionais especializados no tema. § 2º O período de maturação dos queijos artesanais, quando aplicável e estabelecido em regulamento técnico específico para cada tipo de queijo, será definido mediante comprovações laboratoriais de atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes.”

Extraí-se do Artigo 4º que cada tipo de queijo terá um RTIQ, ou seja, trazendo para nosso produto alvo: o Queijo Colonial Artesanal deverá possuir um RTIQ e suas variedades dispostas neste mesmo documento. Entendemos que qualquer exigência que não atende este artigo, não se enquadra na Lei Estadual nº 17.486.

Em nossa proposta de RTIQ elencamos cinco variedades do Queijo Colonial Artesanal produzidas no Estado de Santa Catarina conforme disposto no Art. 3º do RTIQ:

“Art. 3º - O Queijo Colonial Artesanal poderá ter as seguintes denominações de venda:

I - Queijo Colonial Artesanal

II - Queijo Colonial Artesanal com (especificar o alimento e/ou condimento adicionado)

III - Queijo Colonial Artesanal Maturado com Mofo (deverá ser especificado o gênero e espécie do mofo utilizado)

IV - Queijo Colonial Artesanal ao Vinho (quando se tratar de outra bebida, a mesma deverá ser especificada)

V - Queijo Colonial Artesanal Defumado”

Neste sentido, a proposta elaborada e acordada com membros do Estado (SAR e CIDASC) não fere o disposto na Lei Estadual nº 17486/2018, tampouco o Decreto Estadual 362/2019 que regulamenta a Lei.

É importante e oportuno mencionar que membros do Grupo de Trabalho que elaborou o RTIQ do Queijo Colonial Artesanal contribuíram ativamente na redação da Lei Estadual, a qual foi apresentada pelo Deputado João Amin na Assembleia Legislativa de Santa Catarina e sancionada pelo então governador do Estado. Isso indica que os integrantes do GT entendem perfeitamente o que está proposto na Lei Estadual nº 17.486.

No que se refere à segurança do produto, extrai-se do documento protocolado junto à SAR a seguinte recomendação:

“Considerando a variabilidade geográfica dentro do Estado de Santa Catarina, sugere-se que os produtores de Queijo Colonial Artesanal, de forma individual ou coletiva, realizem ensaios microbiológicos durante a maturação para a verificação de qual período é suficiente para o atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes de acordo com sua realidade produtiva.”

Já na proposta de RTIQ dar-se destaque para os seguintes artigos:

Art. 7º - O Queijo Colonial Artesanal deverá preencher os seguintes requisitos:

I - Requisitos Microbiológicos: correspondente ao estabelecido pelos diferentes teores de umidade determinado por Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a qual o produto corresponder ou de acordo com resultados oriundos de estudos científicos específicos.

Art. 9º - Os produtores de Queijo Colonial Artesanal, de forma individual ou coletiva, deverão comprovar, através de análises laboratoriais, atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes determinando o período mínimo de maturação para o tipo de queijo elaborado conforme disposto no Art. 7.

Parágrafo único - O produtor de Queijo Colonial Artesanal deverá implantar um controle de rastreabilidade na produção, especialmente no processo de maturação dos queijos, e assegurar a realização do período mínimo de maturação para garantir a comercialização de produtos inócuos para a saúde do consumidor.

Art. 10º - As queijarias que elaboram o Queijo Colonial Artesanal devem possuir Programas de Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação implantados e a propriedade rural deve ser certificada como livre de brucelose e tuberculose.

Art. 13º - Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não devem estar presentes no Queijo Colonial Artesanal em quantidades superiores aos limites estabelecidos por legislação específica. O Queijo Colonial Artesanal

não deverá conter impurezas ou substâncias estranhas de qualquer natureza.

Art. 14º - O leite utilizado na elaboração do Queijo Colonial Artesanal deverá cumprir os requisitos de qualidade estabelecidos por legislações vigentes, especialmente no que se refere à contagem de células somáticas (CCS).

Art. 15º - O leite antes de ser utilizado na elaboração do Queijo Colonial Artesanal deverá ser submetido ao processo de filtração (manual ou mecânica).

Todo o exposto demonstra que a proposta de RTIQ elaborada pelo grupo de trabalho e apresentada à SAR demonstra a pretensão de produção de um alimento seguro e, para isso, traz em detalhes como o produtor deve proceder, além de identificar o queijo catarinense, objetivo principal de uma proposta de RTIQ.

A aprovação do RTIQ pela SAR não significa a liberação do produto para a comercialização imediata, muito pelo contrário, o produtor deverá percorrer todo o caminho desenhado pelo RTIQ para obter sua liberação através de um órgão oficial de inspeção, seja municipal, estadual ou federal.

A afirmação do Ofício 343/2020 de que a proposta “fundamentalmente não contempla os requisitos microbiológicos mínimos para garantia sanitária da saúde pública, bem maior a ser considerado para que o Estado conceda a validação de um produto para consumo da população” não se sustenta, tendo em vista todo o exposto para garantia da qualidade do produto na proposta de RTIQ. Reforçando que, além de atender o RTIQ, o produtor ainda terá que atender o disposto na Lei Estadual nº 17.486 de 2018 e no seu Decreto regulamentador.

É importante reafirmar que a legalização desta atividade produtiva é urgente e o estabelecimento de normas muito burocráticas, e muitas vezes inatingíveis, irão dificultar ainda mais o acesso dessas famílias ao mercado formal, fazendo com que os mesmos continuem comercializando informalmente e permanecendo em risco de segurança alimentar.

Cabe também lembrar, que recentemente a SAR regulamentou o Queijo Colonial produzido com leite pasteurizado para todo o estado sem nenhuma pesquisa científica, através da Portaria 32/2018: “Art. 1º - Aprovar a Norma Interna Regulamentadora do Queijo Colonial no Estado de Santa Catarina”. Por esta ótica, não faz sentido autorizar um único regulamento de Queijo Colonial com leite pasteurizado para todo o Estado para atender as indústrias e impedir/dificultar a aprovação do regulamento técnico, também para todo o Estado, do Queijo Colonial Artesanal feito com leite cru para atender os produtores artesanais.

Considerando todo o exposto, entendemos que a proposta de RTIQ não foi adequadamente compreendida. Assim sendo, por meio deste, solicitamos a reavaliação do documento apresentado, especialmente para se cumprir o acordo firmado entre o Estado de Santa Catarina e a instituição coordenadora do grupo de trabalho ocorrida em março de 2019, bem como entre seus membros participantes.

Solicitamos, ainda, que a proposta seja colocada em consulta pública no Estado de Santa Catarina. Isso possibilitará que outras representações de produtores que não participaram da discussão também tenham oportunidade de se manifestarem, atingindo, dessa forma, o objetivo do grupo: a construção de um regulamento inclusivo e que permita a formalização da atividade de todos os produtores de Queijo Colonial Artesanal catarinense. Além disso, a legalização da atividade permitirá a produção de alimentos seguros para os consumidores e devidamente inspecionados.

Subscrevem o documento:

Pesquisadores:

Doutoranda Michelle de Medeiros Carvalho, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Doutorando Mikael Oliveira Linder, Facoltà di Scienza e Tecnologia, Libera Università di Bolzano, Italia

Doutoranda Belisa Lamas Gaudereto, Departamento de Ciências Sociais, Instituto de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP

Pós-Doutoranda Andréia Tecchio, Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Celia Lucia de Lucas Fortes Ferreira, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), Universidade Federal de Viçosa - UFV

Prof. Juliano De Dea Lindner, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Luciana Oliveira de Fariña, Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Rural Sustentável, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE

Extensionistas:

Aline Siminski Bellincanta - Eng. Agrônoma - Extensionista Rural - EPAGRI Seara / SC

Nelita Fabiana Moratelli - Eng. Agrônoma - Extensionista Rural - EPAGRI Blumenau / SC

Remy Narciso Simão - Eng. Agrônomo - Extensionista Rural - EPAGRI Major Gercino / SC

Sônia Maria Abatti - Pedagoga - Extensionista Social - EPAGRI Aurora / SC

Tomás Pellizzaro Pereira - Eng. Agrônomo - Extensionista Rural - EPAGRI Petrolândia / SC

Técnicos:

Clair Lorenzet - Médico Veterinário - Consultor Técnico - Chapecó / SC

Ezequiel Giaretta, Técnico Agrícola , Assessor Técnico - Seara / SC

Entidades representantes dos produtores

Associação Brasileira de Criadores de Búfalos - ABCB

Associação Brasileira dos Criadores de Ovinos Leiteiros - ABCOL

Associação dos Pequenos Agricultores do Oeste Catarinense - APACO

Associação dos Produtores e Agropecuaristas de Major Gercino

Associação Regional dos Criadores e Protetores da Raça Bovina Montbeliarde Oeste SC - Montbeliarde Oeste

Centro Vida Orgânica - CVO

Convívio Slow Food Diamante

Convívio Slow Food Verde Seara

Cooperativa de Crédito Rural Seara - CREDISEARA

Cooperativa de Produção e Consumo Familiar de Seara

Fortaleza do Queijo de Leite Cru de Seara - *Slow Food*

Rede Latino-Americana Int. de Plantas Medicinais, Aromáticas e Nutracêuticas - RELIPLAM

Unidade Central das Agroindústrias Familiares do Oeste Catarinense - UCAF



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Ofício nº 117/2021

Florianópolis, 01 de março de 2021.

Senhor Consultor Jurídico

Em atenção ao OF/GMN/053/2020, enviado pelo Deputado Mauro de Nadal, encaminhando expediente recebido de um grupo de trabalho interessado na proposta de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru, de que trata a Lei nº 17.486/2018, informando que consiste em Ofício direcionado à Secretaria de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural (SAR), cujo pleito relatado, segundo o Nobre Deputado, constata-se a importância no atendimento do mesmo, sendo protocolado como SAR nº 2120/2020.

Solicita no Ofício enviado:

- a) Reavaliação do RTIQ, especialmente para **cumprir o acordo entre Estado de Santa Catarina e a instituição coordenadora do grupo de trabalho ocorrida em março de 2019** e, *(grifo nosso)*
- b) Seja a proposta colocada em consulta pública no Estado de Santa Catarina.

Encaminha documento anexo e solicita que sejam prestadas informações quanto ao acatamento (ou não) dos pleitos nele constantes.

Ao Senhor
JOSÉ SILVESTRE CESCO NETTO JUNIOR
Consultor Jurídico da SAR
Florianópolis – SC

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br ddea@agricultura.sc.gov.br



**ESTADO DE SANTA CATARINA**

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 2 do Ofício nº 117/2021

Cabe aqui enfatizar que os documentos encaminhados pelo grupo citado, que se referiam à uma proposta de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Queijo Colonial Artesanal de Leite Cru, foi formalmente respondida por meio do Processo SAR nº 1063/2020, encontrando-se na íntegra anexado a este PARECER. A referida solicitação foi encaminhada “em nome” da UFSC, porém após envio e resposta, nossa Consultoria Jurídica na época instruiu que qualquer documento enviado em nome de determinada instituição só deveria ser aceita quando encaminhada por meio de documento oficial do órgão, no caso real, pela Reitoria, Centro ou Departamento da UFSC.

É importante salientar que este PARECER é baseado em fatos técnicos e científicos e nas normativas vigentes quando se refere à segurança alimentar, visando a preservação da saúde pública, bem maior a ser preservado e se baseia na Lei nº 17.485/2018 e no Decreto nº 362/2019 que a regulamenta, prezando também pela manutenção da credibilidade do produtor catarinense frente ao mercado consumidor.

Primeiramente, gostaríamos de esclarecer ao Douto Deputado, que na reunião “informal” que ocorreu no dia 13/03/2019, com a presença de Michelle Carvalho e seu orientador de Doutorado, Prof. Juliano De Dea Lindner; Mara Rúbia Romeu Pinto, médica veterinária da SAR; Lucia Correia, médica veterinária da CIDASC, foram tratados assuntos diversos referentes aos queijos artesanais de leite cru, inclusive um pleito de ajuda financeira e informação de qual forma Minas Gerais trabalhava o tema, realizado pela Sra. Michelle Carvalho e pelo Sr. Juliano De Dea Lindner, informação por parte da SAR e da CIDASC que o Decreto ainda não tinha sido publicado e estava em elaboração por uma equipe técnica com competência para tal. No entanto, nada

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 3 do Ofício nº 117/2021

houve de compromisso compactuado em que ficasse margem ao entendimento que seria possível se trabalhar com um RTIQ único para todo o Estado de Santa Catarina, sendo que o incentivo à pesquisa sobre as qualidade e identidade de cada tipo de queijo, obviamente se constitui num dos mais importantes pilares no estabelecimento de parâmetros próprios do produto estudado, especialmente ao que concerne ao período de maturação inferior ao previsto em normativas, sempre de maneira específica e não generalista, haja vista o que a própria Lei no Inciso I, §1º, do Art. 1º, instrui:

....

*I – queijo artesanal: aquele elaborado com leite cru da própria fazenda, om métodos tradicionais, **com vínculo ao território de origem**, conforme Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ), **estabelecido para cada tipo e variedade**, sendo permitida a aquisição de leite de propriedades rurais próximas desde que atendam todas as normas sanitárias pertinente, e (grifo nosso)*

.....

Ainda, a Lei 17.485/2018, no seu Artigo 4º e no § 1º do mesmo Artigo, traz a seguinte redação:

Art. 4º Para cada tipo de Queijo será elaborado um Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ).

§ 1º A elaboração dos regulamentos técnicos de identidade e qualidade dos diferentes tipos de queijo, contará com uma equipe multidisciplinar incluindo os produtores envolvidos ou seus representantes, além de pesquisadores e profissionais especializados no tema.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 4 do Ofício nº 117/2021

Regulamentando o exposto acima, o Decreto 362/2019, por meio da Subseção II – Do Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade, que traz a seguinte redação em seus Artigos 9º e 10º, corroborando o texto da Lei e esclarecendo como deve ser composta a equipe multidisciplinar, conforme segue

Subseção II

Art. 9º Para cada tipo de queijo artesanal será elaborado um RTIQ.

Art. 10. O RTIQ dos diferentes tipos de queijos artesanais será definido pela SAR, mediante a participação de equipe multidisciplinar, composta por 8 (oito) membros, assim constituída:

I – 2 (dois) membros indicados pela cadeia produtiva, representada pelos produtores dos queijos artesanais;

II - 2 (dois) membros indicados pela CIDASC;

III - 2 (dois) membros indicados pela SAR;

IV - 2 (dois) membros indicados pela Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) ou por entidade de pesquisa relacionada ao estudo do produto a ser avaliado.

Parágrafo único: A SAR poderá solicitar a participação de outros entes para compor a equipe, caso julgue necessário.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 5 do Ofício nº 117/2021

Importante e necessário esclarecer que os períodos de maturação inferior ao período mínimo legal para pedidos de registro, inclusive no estado de MG, se basearam em estudos técnicos-científicos e não em uma deliberação administrativa. (Resumos dos trabalhos de pesquisa dos Queijo Serro e Queijo Araxá anexos a este Parecer).

O consumo de produtos de origem animal sem critérios trazem à tona que assuntos envolvendo a saúde única não podem ser tratados de maneira a privilegiar determinados grupos em detrimento às normas sanitárias, tendo que se amparar nas mais sólidas evidências científicas que temos à disposição até o momento.

Cabe ao poder executivo, regulamentar matéria exarada pelo poder legislativo, cada um com sua competência e independência, devendo convergir para o bem comum e sempre que possível com um alinhamento harmônico. Neste contexto, em se tratando de matéria que tem impacto na saúde da população, o poder executivo, por intermédio de seu corpo técnico, tem a obrigação de tratar o tema com a maior responsabilidade, haja vista que o objetivo final é resguardar a saúde pública, portanto, deve se basear nos preceitos sanitários estabelecidos e nas normativas vigentes, apontando sempre que necessário os desvios dentro deste escopo.

Salientamos que para a elaboração do Decreto nº 362/2019, foi realizada uma ampla revisão de literatura científica, baseada em dados publicados em revistas renomadas, cujos alguns exemplos podem ser visualizados no Processo SAR nº 2020/2020, em resposta ao Ofício OF/GMN/052/2020, encaminhado também pelo Deputado Mauro de Nadal.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 6 do Ofício nº 117/2021

Gostaríamos de esclarecer que esta Secretaria de Estado se encontra à disposição para acolher e apreciar qualquer RTIQ específico, dentro dos preceitos legais e técnicos.

Para tal, o primeiro passo é a constituição da equipe multidisciplinar, conforme regulamentada no Decreto nº 362/2019, a qual será inclusive formalmente nominada em Portaria expedida por esta Pasta e após a conclusão dos trabalhos o RTIQ específico, juntamente com seus anexos comprobatórios, será também publicado em Portaria da SAR.

Achamos pertinente informar que já temos um RTIQ publicado, referente ao Queijo Kochkäse, que pode servir como exemplo para os RTIQs que o grupo em questão venha a solicitar.

Quanto à solicitação de consulta pública, embora não prevista na Lei, nem no Decreto que regulamenta a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru, acreditamos que o assunto pode ser discutido com a equipe multidisciplinar.

Na página 7 do anexo que compõe o OF/GMN/053/2020, ocorre a menção que o Grupo de Trabalho que elaborou o RTIQ em questão contribuiu ativamente na redação da Lei Estadual, a qual foi apresentada pelo Deputado João Amim, indicando que entendem perfeitamente o que está proposto na Lei estadual nº 17.486/2018.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 7 do Ofício nº 117/2021

Cabe aqui esclarecer que ao executivo não cabe legislar, mas sim regulamentar matéria exarada pelo legislativo, **objetivamente** se baseando no que está escrito na Lei e normativas relativas ao tema, aplicando o conhecimento técnico da sua equipe especializada no assunto para redigir o Decreto. Interpretações subjetivas não elencadas são impossíveis de serem presumidas, tampouco avaliadas. Ademais o estudo do grupo da Sra. Michelle Carvalho apresentado como subsídio ao requerimento de RTIQ, embora com relevância acadêmica e publicado em Revista *Qualis A*, depõe contra a aprovação de RTIQ, uma vez que em sua grande maioria, os dados apresentados estão em desacordo com as normativas sanitárias vigentes, sendo o mesmo pode ser visualizado na íntegra anexo a este parecer por meio do Processo SAR nº 1063/2020.

No documento anexo ao ofício OF/GMN/053/2020, folha 8 do Processo SAR nº 2120/2020, referindo-se ao pedido anterior postulado através do Processo SAR nº 1063/2020, há a seguinte citação:

No que se refere à segurança do produto, extrai-se do documento protocolado junto à SAR a seguinte recomendação:

“Considerando a variabilidade geográfica dentro do Estado de Santa Catarina, sugere-se que os produtores de Queijo Colonial Artesanal, de forma individual ou coletiva, realizem ensaios microbiológicos durante a maturação para a verificação de qual período é suficiente para o atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes de acordo com sua realidade produtiva.”



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 8 do Ofício nº 117/2021

Ato contínuo, que pode ser visualizado no Processo SAR nº 1063/2020, discorrem sobre como poderia se dar a comprovação de inocuidade do produto, principalmente nos critérios microbiológicos e de período de maturação, sem, no entanto, apresentá-los, o que é algo *sine qua non* para a aprovação de um RTIQ por esta SAR, caso contrário, o instrumento RTIQ perderia totalmente a utilidade e fundamento.

Entendemos que os estudos técnicos-científicos são difíceis e onerosos para serem custeados pelo produtor, ou mesmo, por uma associação ou similar que os represente. Ao mesmo tempo que os produtores são mestres na produção do produto, em sua grande maioria, carecem de conhecimento básico de uma pesquisa científica e dos meios adequados para realizá-las. Também entendemos que estudos deste teor, majoritariamente são feitos em conjunto com universidades ou órgãos de pesquisa que tenham *expertise* para tal, com a finalidade de cumprir o rigor científico e ao mesmo tempo viabilizá-los.

Tais estudos não são solicitados por um capricho das normativas, muito menos para dificultar a vida do produtor, mas pelo seu caráter metodológico, imparcial e representativo, cujos resultados subsidiam os parâmetros que irão compor as normas, uma vez que a análise individual de cada peça de produto seria inviável prática, técnica e economicamente.

Da página 10 que compõe o Processo SAR 2120/2020, extrai-se a seguinte colocação:

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 9 do Ofício nº 117/2021

Cabe também lembrar, que recentemente a SAR regulamentou o Queijo Colonial produzido com leite pasteurizado para todo o estado sem nenhuma pesquisa científica, através da Portaria 32/2018: “Art. 1º - Aprovar a Norma Interna Regulamentadora do Queijo Colonial no Estado de Santa Catarina”. Por esta ótica, não faz sentido autorizar um único regulamento de Queijo Colonial com leite pasteurizado para todo o Estado para atender as indústrias e impedir/difícultar a aprovação do regulamento técnico, também para todo o Estado, do Queijo Colonial Artesanal feito com leite cru para atender os produtores artesanais.

O Queijo Colonial feito a partir do **leite pasteurizado** já tem registro no estado há muitos anos. Não é considerado um queijo artesanal, portanto não sendo regido pela Lei nº 17.485/2018 e Decreto nº 362/2019. Justamente por ser um produto de **leite pasteurizado** não necessita da apresentação de pesquisa científica quanto ao prazo de maturação, haja vista que a pasteurização é o processo utilizado para eliminar a flora patogênica do leite e foi regulamentado por outro instrumento. O objetivo de ser regulamentado através do instrumento denominado Norma Interna Regulamentadora é para que ocorra uma padronização do produto com esta denominação pré-existente às normas alvo deste parecer.

A afirmação que o objetivo da referida regulamentação (NIR do Queijo Colonial no Estado de Santa Catarina) foi de atender às indústrias e impedir/difícultar a aprovação de regulamento técnico (implícito do Queijo Artesanal Colonial de Leite Cru) para todo o estado é caluniosa, e devido ao conhecimento atribuído em próprio favor pelos postulantes que apresentam os pleitos do ofício OF/GMN/053/2020, poderia até ser considerada como de má-fé, uma vez que é público e notório que a



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 10 do Ofício nº 117/2021

regulamentação de produtos lácteos pasteurizados é totalmente diferente que à de produtos artesanais de leite cru, onde a primeira preza pela padronização dos produtos e a segunda pelo reconhecimento da diversidade embarcada na filosofia da produção de queijos artesanais de leite cru.

Considerando o exposto, acreditamos que a busca conjunta por recursos que subsidiem tais pesquisas, seja via universidades, órgãos de fomento à pesquisa, ou, se possível, também por meio de emendas parlamentares, podem constituir um grande avanço no que tange ao tema, a exemplo do que ocorreu com o queijo Kochkäse, que por intermédio de uma união de forças entre produtores, EPAGRI, FURB, SAR, CIDASC, AMMVI e outros, culminou com a publicação do primeiro RTIQ embasado na Lei nº 17.485/2018 e Decreto nº 362/2019, baseado na lisura dos procedimentos, na adequação às normas, primando pela regulamentação desde produto de maneira clara e legal.

Sabemos que muitos Queijos Artesanais de Leite Cru podem vir a ser regulamentados no Estado e segundo informações, alguns, como o Queijo Diamante, já se apresentam em estágios avançados para num futuro próximo pleitear a regularização.

Nos colocamos à disposição na construção de processo tão relevante para os produtores e para o Estado, haja vista que produtos de qualidades únicas só têm a contribuir para que Santa Catarina cada vez mais se consolide como um Estado de excelência em seus produtos agropecuários e em especial aos Queijos Artesanais de



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 11 do Ofício nº 117/2021

Leite Cru, que uma vez produzidos em conformidade com o disposto no Decreto nº 362/2019 e demais normas correlatas e que em consonância com o Art. 59 do mesmo Decreto, estarão aptos a receber o selo ARTE, portanto, poderão acessar também o mercado nacional. Muitos deles, inclusive, por suas características únicas, poderão ser alvo de proteção reconhecida pelo Instituto Nacional de Propriedade Intelectual (INPI) internacionalmente, como as Indicações Geográficas e Marcas Coletivas, caso seja de interesse da entidade representativa dos produtores.

Atenciosamente,

Daniela Carneiro do Carmo

Diretora de Qualidade e Defesa Agropecuária



Processo SAR 00001063/2020

Dados da Autuação

Autuado em: 15/06/2020 às 19:55

Setor origem: SAR/DDEA - Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária

Setor de competência: SAR/DDEA - Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária

Interessado: UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Classe: SOLICITACAO

Assunto: SOLICITACAO

Detalhamento: Solicitação de avaliação de proposta de Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Santa Catarina



MARA RÚBIA ROMEU PINTO <mararubia@agricultura.sc.gov.br>

Minuta Queijo Colonial Artesanal

Michelle Carvalho <michelle@leitecon.com.br>

10 de junho de 2020 15:05

Para: "mararubia@agricultura.sc.gov.br" <mararubia@agricultura.sc.gov.br>

Cc: "juliano.lindner@gmail.com" <juliano.lindner@gmail.com>

Boa tarde Mara Rúbia

Segue a proposta para RTIQ de Queijo Colonial Artesanal conforme combinado.

Pedimos por gentileza para nos enviar um protocolo de recebimento.

Aguardamos para maiores informações.

Atenciosamente

Michelle M Carvalho e prof. Juliano De Dea Lindner
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Centro de Ciências Agrárias
Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

3 anexos



Carta para apresentar RTIQ.pdf

19K



RTIQ Queijo Colonial Artesanal.pdf

19K



Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil.pdf

1050K



MARA RÚBIA ROMEU PINTO <mararubia@agricultura.sc.gov.br>

Minuta Queijo Colonial Artesanal

Michelle Carvalho <michelle@leitecon.com.br>

12 de junho de 2020 11:37

Para: MARA RÚBIA ROMEU PINTO <mararubia@agricultura.sc.gov.br>

Oi Mara Rúbia, bom dia.

O CNPJ da UFSC é 83.899.526-0001/82.

Nós temos um grupo, o mesmo que trabalhou para aprovação da lei, onde compartilhamos todas as informações. Tudo o que nos for repassado será encaminhado para esse grupo.

Um abraço, tudo de bom pra você. Espero que tenha melhorado.

Michelle

De: "MARA RÚBIA ROMEU PINTO" <mararubia@agricultura.sc.gov.br>

Enviada: 2020/06/10 19:31:23

Para: michelle@leitecon.com.br

Assunto: Re: Minuta Queijo Colonial Artesanal

Prezada Michelle,

Recebi seu e-mail e vou cadastrar e protocolar no início da semana que vem.

Solicito que vc informe o interessado, a quem os encaminhamentos serão enviados.

Pelo seu último e-mail, entendi que será a UFSC que centralizará o processo, é isso?

Caso seja a Universidade ou outra pessoa jurídica, peço a gentileza que envie o CNPJ para cadastro, ou caso seja uma pessoa física, o nome e o CPF.

Assim que cadastrado no SGPe te encaminharei o número do processo.

Desejo um ótimo feriado e fim de semana!

Atenciosamente,

Em qua., 10 de jun. de 2020 às 15:05, Michelle Carvalho <michelle@leitecon.com.br> escreveu:

15/06/2020

E-mail de Secretaria de Estado da Agricultura e da Pesca - Minuta Queijo Colonial Artesanal

[Texto das mensagens anteriores oculto]

[Texto das mensagens anteriores oculto]

Anexo Ofício nº 1174/CC-DIAL-GEMAT (0045084)

SEI 21.0.000009022-8 / pg. 119

Florianópolis, 10 de junho de 2020

À Secretaria de Agricultura e Pesca de SC

Prezados(as) Senhores(as):

Conforme encaminhamento de reunião realizada em março de 2019 entre representantes da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, Secretaria da Agricultura e Pesca de Santa Catarina - SAR e Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa - CIDASC, protocolamos junto a esta Secretaria a proposta de Regulamento de Identidade e Qualidade do Queijo Colonial Artesanal de Santa Catarina.

A referida proposta foi elaborada baseada em estudos técnico-científicos realizados no Estado de Santa Catarina e publicada na revista internacional *Journal of Dairy Science* (avaliação *qualis* A1), publicação que segue em anexo.

O trabalho técnico de construção da proposta contou com a participação de pesquisadores de distintas instituições e de extensionistas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI). A proposta ainda contou com a participação / colaboração de diversas entidades que atuam direta ou indiretamente com a produção de Queijo Colonial Artesanal no Estado de Santa Catarina, as quais subscrevem este documento.

Considerando a variabilidade geográfica dentro do Estado de Santa Catarina, sugere-se que os produtores de Queijo Colonial Artesanal, de forma individual ou coletiva, realizem ensaios microbiológicos durante a maturação para a verificação de qual período é suficiente para o atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes de acordo com sua realidade produtiva.

A proposta de regulamento apresenta os requisitos, especialmente microbiológicos, a serem atingidos, porém é preciso destacar que os produtores, particularmente os pequenos, necessitam de apoio do Estado para atender estes requisitos. Este apoio pode ser efetivado junto a Laboratórios estatais, públicos e entre as Universidades regionais, que estarão, sem dúvidas, de portas abertas junto a seus Laboratórios para subsidiar, barateando estas necessidades dos produtores artesanais, apoiados sempre pelo governo, seus órgãos relacionados e políticas públicas. Lembrando que este apoio amplo é efetivado mesmo em países chamados de primeiro-mundo como Itália e França.

Vale ressaltar que é justamente esse apoio de subsídios estatais e políticas públicas que faz com que nestes países citados, os produtores sejam na sua maioria pequenos e que efetivamente os colocam com possibilidades concretas de residirem nas suas aldeias para manterem a tradição e o nível turístico que gira em volta dessas mesmas atividades. Dando a fama histórica de suas produções que tanto ouvimos e vemos nos respectivos países.

Diante do exposto colocamos para apreciação o documento e aguardamos demais orientações para participação no grupo de trabalho de construção do RTIQ do Queijo Colonial Artesanal de Santa Catarina.

Sem mais para o momento, pedimos deferimento.

Subscrevem o documento

Pesquisadores:

Doutoranda Michelle de Medeiros Carvalho, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Doutorando Mikael Oliveira Linder, Facoltà di Scienza e Tecnologia, Libera Università di Bolzano, Italia

Doutoranda Belisa Lamas Gaudereto, Departamento de Ciências Sociais, Instituto de Filosofia e Ciências Humanas, Universidade Estadual de Campinas- UNICAMP

Pós-Doutoranda Andréia Tecchio, Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Celia Lucia de Lucas Fortes Ferreira, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (BIOAGRO), Universidade Federal de Viçosa - UFV

Prof. Juliano De Dea Lindner, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC

Prof. Luciana Oliveira de Fariña, Programa de Pós-graduação em Desenvolvimento Rural Sustentável, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE

Extensionistas:

Aline Siminski Bellincanta - Eng. Agrônoma - Extensionista Rural - EPAGRI Seara / SC

Nelita Fabiana Moratelli - Eng. Agrônoma - Extensionista Rural - EPAGRI Blumenau / SC

Remy Narciso Simão - Eng. Agrônomo - Extensionista Rural - EPAGRI Major Gercino / SC

Sônia Maria Abatti - Pedagoga - Extensionista Social - EPAGRI Aurora / SC

Tomás Pellizzaro Pereira - Eng. Agrônomo - Extensionista Rural - EPAGRI Petrolândia / SC

Técnicos:

Clair Lorenzet - Médico Veterinário - Consultor Técnico - Chapecó / SC

Ezequiel Giaretta, Técnico Agrícola , Assessor Técnico - Seara / SC

Entidades representantes dos produtores

Associação Brasileira de Criadores de Búfalos - ABCB

Associação Brasileira dos Criadores de Ovinos Leiteiros - ABCOL

Associação dos Pequenos Agricultores do Oeste Catarinense - APACO

Associação dos Produtores e Agropecuaristas de Major Gercino

Associação Regional dos Criadores e Protetores da Raça Bovina Montbeliarde Oeste SC - Montbeliarde Oeste

Centro Vida Orgânica - CVO

Convívio Slow Food Diamante

Convívio Slow Food Verde Seara

Cooperativa de Crédito Rural Seara - CREDISEARA

Cooperativa de Produção e Consumo Familiar de Seara

Fortaleza do Queijo de Leite Cru de Seara - Slow Food

Rede Latino-Americana Int. de Plantas Medicinais, Aromáticas e Nutracêuticas - RELIPLAM

Unidade Central das Agroindústria Familiares do Oeste catarinense - UCAF

Entidade apoiadora dos produtores de Queijo Colonial Artesanal

Associação de Comerciantes de Queijos Artesanais Brasileiros - COMERQUEIJO

MINUTA PARA REGULAMENTO TÉCNICO DE IDENTIDADE E QUALIDADE (RTIQ) DO QUEIJO COLONIAL ARTESANAL DE SANTA CATARINA

Art. 1º - Este RTIQ tem como objetivo estabelecer a identidade e os requisitos mínimos de qualidade que deverão ser apresentados pelo Queijo Colonial Artesanal destinado ao consumo humano.

Parágrafo único - A presente norma interna regulamentadora refere-se ao Queijo Colonial Artesanal elaborado no Estado de Santa Catarina.

Art. 2º - Entende-se como Queijo Colonial Artesanal aquele obtido por coagulação do leite cru, fresco ou não, integral ou parcialmente desnatado, por meio de coalho ou outras enzimas coagulantes, complementada ou não pela adição de fermentos lácteos específicos.

Art. 3º - O Queijo Colonial Artesanal poderá ter as seguintes denominações de venda:

I - Queijo Colonial Artesanal

II - Queijo Colonial Artesanal com (especificar o alimento e/ou condimento adicionado)

III - Queijo Colonial Artesanal Maturado com Mofo (deverá ser especificado o gênero e espécie do mofo utilizado)

IV - Queijo Colonial Artesanal ao Vinho (quando se tratar de outra bebida, a mesma deverá ser especificada)

V - Queijo Colonial Artesanal Defumado

Parágrafo único - O Queijo Colonial Artesanal que for elaborado a partir de espécies não bovinas deverá conter, junto à denominação de venda, a espécie de animal utilizada (cabra, ovelha, búfala ou outras).

Art. 4º - O Queijo Colonial Artesanal deverá informar no painel principal do rótulo a região ou microrregião produtora e/ou o município de origem.

Art. 5º - O Queijo Colonial Artesanal terá a seguinte composição:

I - Ingredientes obrigatórios

- a) Leite cru;
- b) Coalho / Coagulante;
- c) Sal.

II - Ingredientes opcionais

- a) Fermento lácteo;
- b) Condimento, alimento (inteiro ou em pedaço) ou outra substância alimentícia de origem natural;
- c) Mofo;
- d) Vinho ou outra bebida permitida.

Art. 6º - O Queijo Colonial Artesanal deverá apresentar as seguintes características:

- I - Consistência macia, firme ou dura e textura elástica, amanteigada ou quebradiça;
- II - Cor amarelo palha a amarelo ouro, sabor ligeiramente ácido ou amendoado e odor lácteo;
- III - Casca com cor esbranquiçada ou azulada quando se tratar de Queijo Colonial Artesanal maturado com mofo;
- IV - Formato redondo, quadrado ou retangular;
- V - Peso variável de 0,5 a 8 Kg.

Art. 7º - O Queijo Colonial Artesanal deverá preencher os seguintes requisitos:

I - Requisitos Microbiológicos: correspondente ao estabelecido pelos diferentes teores de umidade determinado por Resolução da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a qual o produto corresponder ou de acordo com resultados oriundos de estudos científicos específicos.

II - Requisitos Físico Químicos:

Gordura:

- a) Semi-gordo;
- b) Gordo;
- c) Extra gordo.

Umidade:

- e) Baixa;
- f) Média;
- g) Alta umidade.

Art. 8º - O processo de elaboração de Queijo Colonial Artesanal poderá apresentar as seguintes características distintas:

- I - Utilização de leite cru recém ordenhado, sendo permitido a junção dos leites da ordenha da tarde do dia anterior com o leite da ordenha da manhã do dia seguinte. O leite da ordenha da tarde poderá sofrer desnate;
- II - Salga no leite, na massa ou na superfície do queijo (salga a seco ou em salmoura);
- III - Massa crua ou semi-cozida;
- IV - Prensagem manual ou mecânica;
- V - Maturação em temperatura ambiente ou em temperaturas de refrigeração em período suficiente para garantia da inocuidade microbiológica;
- VI - Utilização opcional de utensílios de madeira durante o processo de fabricação e maturação.

Art. 9º - Os produtores de Queijo Colonial Artesanal, de forma individual ou coletiva, deverão comprovar, através de análises laboratoriais, atendimento aos parâmetros microbiológicos existentes determinando o período mínimo de maturação para o tipo de queijo elaborado conforme disposto no Art. 7.

Parágrafo único - O produtor de Queijo Colonial Artesanal deverá implantar um controle de rastreabilidade na produção, especialmente no processo de maturação dos queijos, e assegurar a realização do período mínimo de maturação para garantir a comercialização de produtos inócuos para a saúde do consumidor.

Art. 10º - As queijarias que elaboram o Queijo Colonial Artesanal devem possuir Programas de Boas Práticas Agropecuárias e de Fabricação implantados e a propriedade rural deve ser certificada como livre de brucelose e tuberculose.

Parágrafo único - Parágrafo único. As propriedades rurais próximas, fornecedoras de leite às queijarias, devem atender ao disposto neste artigo.

Art. 11º - O Queijo Colonial Artesanal poderá ser mantido em temperatura ambiente ou em temperaturas de refrigeração conforme determinado pelo produtor de acordo com as características do produto.

Art. 12º - O Queijo Colonial Artesanal poderá ser acondicionado em embalagem plástica, em películas de uso alimentício ou em papel manteiga reacondicionado com uma embalagem secundária de acordo com as características do produto.

Parágrafo Único - O Queijo Colonial Artesanal poderá ser armazenado e comercializado sem embalagem, desde que transportado em embalagem que assegure sua proteção, segurança e integridade até o ponto de comercialização. Será necessária a identificação na peça, com marcação de relevo ou com a utilização de material atóxico, as informações mínimas a seguir: denominação de venda, o estabelecimento produtor e data de fabricação. O produtor também deverá disponibilizar nos postos de venda ou junto ao queijo material informativo com as demais informações obrigatórias para o consumidor.

Art. 13º - Os contaminantes orgânicos e inorgânicos não devem estar presentes no Queijo Colonial Artesanal em quantidades superiores aos limites estabelecidos por legislação específica. O Queijo Colonial Artesanal não deverá conter impurezas ou substâncias estranhas de qualquer natureza.

Art. 14º - O leite utilizado na elaboração do Queijo Colonial Artesanal deverá cumprir os requisitos de qualidade estabelecidos por legislações vigentes, especialmente no que se refere à contagem de células somáticas (CCS).

Art. 15º - O leite antes de ser utilizado na elaboração do Queijo Colonial Artesanal deverá ser submetido ao processo de filtração (manual ou mecânica).

Art. 16º - Para o Queijo Colonial Artesanal aplicam-se as metodologias de análises estabelecida em legislação específica pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

Art. 17º - Para a amostragem do Queijo Colonial Artesanal aplicam-se os métodos estabelecidos em legislação específica pela ANVISA.



J. Dairy Sci. 102

<https://doi.org/10.3168/jds.2019-16373>

© American Dairy Science Association®, 2019.

Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk

Michelle de Medeiros Carvalho,¹ Luciana Oliveira de Fariña,² Daniel Strongin,³ Célia Lucia L. F. Ferreira,⁴ and Juliano De Dea Lindner^{1*}

¹Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 88034-001, Florianópolis, SC, Brazil

²Departamento de Ciências Agrárias, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85960-000, Marechal Cândido Rondon, PR, Brazil

³IM Organização e Planejamento Ltda, 22281-080, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

⁴Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 36570-900, Viçosa, MG, Brazil

ABSTRACT

Artisanal Colonial-type cheese is made from raw milk and is the main cheese produced by rural families of the southern region of Brazil. The aim of this study was to investigate, identify problems, and propose solutions for the current situation of small family farms producing and informally selling artisanal Colonial-type cheese located in the western part of Santa Catarina State in Southern Brazil. A semistructured questionnaire was employed in 12 rural properties to analyze the mode of production. Physical-chemical and microbiological analyses of water, raw milk, and cheese were performed, and it was found that 92, 50, and 100% of the samples, respectively, were outside of the current Brazilian regulatory parameters. None of the cheesemakers involved in this study met the requirements, as established by law, for artisanal cheese production from raw milk. This study concluded that technical support and changes in public policy are needed to ensure the preservation of this artisanal cheese, considering the historical importance and cultural traditions of these local communities and the socioeconomic importance of cheesemaking to family farming. Furthermore, more research on the safety of the cheese produced from raw milk is needed as well as the development of specific microbiological standards for artisanal Brazilian cheeses. Public policies aimed at guaranteeing food safety that formalize the commercialization of these cheeses will increase food security in those communities that currently produce artisanal cheese informally.

Key words: family farm, raw milk, food safety, agricultural economic development

INTRODUCTION

Traditional Brazilian artisan cheeses are made from raw milk (Carvalho et al., 2015). Brazilian legislation prohibits the commercialization of cheeses produced from raw milk unless they have been ripened for no less than 60 d or are proven to be safe through laboratory testing (Brazil, 1996, 2017a). According to current legislation, cheeses ripened less than 60 d must be manufactured from pasteurized milk to ensure the safety of the product. However, given the transient nature of scientific knowledge and current cheesemaking practices, traditional cheeses that were never designed to undergo extended ripening, such as the French Camembert, may experience increased risk for *Listeria monocytogenes* when ripened for 60 d (D'Amico et al., 2008). Similarly, traditional Brazilian cheeses, such as Serro, Canastra, Serrano, and Colonial cheeses, have been consumed for decades without being ripened for 60 d (Cruz and Menasche, 2014).

Although pasteurization has introduced important safety measures to products such as cheese, eliminating pathogens from raw milk, it carries some constraints due to elimination of the autochthonous microbial population responsible for the flavor component of the majority of traditional cheese manufactured with raw milk (Gobbetti et al., 2018). The species of microorganisms present in the milk and their selection in relation to the specific process of production, such as the interaction of the lactic acid bacteria consortium, the developmental kinetics, species, and biotypes involved in the characterization of different cheeses, therefore, are key determinants for the success of a quality product (De Dea Lindner et al., 2008). To compensate for the reduction of autochthonous microbiota, microbial starter cultures are added to the process, fundamentally aiding the cheese produced from pasteurized milk with the goal of inhibiting potential pathogens (De Dea Lindner, 2016).

Received January 25, 2019.

Accepted June 10, 2019.

*Corresponding author: juliano.lindner@ufsc.br

To avoid losing the traditional character of their product, Brazilian cheesemakers, especially family farmers, maintain cheese production with raw milk and natural microbial starters (Dores et al., 2013; Martins et al., 2015). However, due to the regulatory requirements cited above, the cheese produced by such farmers is considered illegal and cannot be made formally available to the public. Thus, these producers work informally (Wilkinson and Mior, 1999) at the risk of having their products seized by the inspecting authorities and preventing them from gaining access to important economic policies and incentive programs for family agriculture, such as the Brazilian National School Feeding Program (Programa Nacional de Alimentação Escolar; Brazil, 2009). Among the pillars of the Programa Nacional de Alimentação Escolar is the use of a variety of healthy, safe and culturally important regional foods, supporting sustainable development through the acquisition of local food produced by family farming, which contributes substantially to reducing the economic insecurity of small producers who have difficulties marketing their food through conventional supply chains (Brazil, 2009).

The Brazilian Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply [Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA)], which is responsible for the inspection of animal-based products, published Normative Instruction no. 30 (Brazil, 2013) with the aim of authorizing the manufacture of cheese from raw milk with a ripening period of less than 60 d, adjusting the mandatory requirements for industrial cheese production from nonpasteurized milk (Cruz and Menasche, 2014). For a cheese to be marketed with a ripening period of less than 60 d, certain prerequisites must be met, such as the use of raw milk of high quality originating from zoonosis-free animals (brucellosis and tuberculosis), potable and chlorinated water, and the application of good milking and manufacturing practices to achieve the microbiological standards for cheeses.

Artisanal Colonial-type cheese (CTC) is made from raw milk and is the main cheese produced by the rural families of farmers from the southern region of Brazil (Carvalho et al., 2015). According to the latest agricultural Brazilian census, artisanal cheese production in Santa Catarina State involves more than 15,200 properties with an annual production estimated in 8,210 t (IBGE, 2017).

Outbreaks caused by various ready-to-eat foods have been reported all over the world. Foodborne illnesses linked to cheese consumption have occurred in many countries. For example, cheeses have been linked to illnesses in the United States, Switzerland, Denmark, and France since 1985 (De Buyser et al., 2001). Several

microbial risk assessments related to *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli* infections, causing cheese-related foodborne illnesses, have been conducted in different countries. However, in Brazil, to our knowledge, in part due to the lack of epidemiological data for foodborne illnesses linked to cheese consumption, no risk assessment was conducted for specific production chains of cheeses produced from raw milk. For accurate quantitative microbial risk assessment, data including interventions such as technological conditions and ripening periods should be available for predictive models developed with cheese consumption amounts and intake frequencies as well as dose-response models (Choi et al., 2016).

In this context, the objective of this study was to investigate the microbiological quality of the water, raw milk, and CTC produced and sold informally by family farmers in a municipality located in the western region of Santa Catarina State. The study aimed to identify purported issues resulting from informal cheese production, to summarize the relevant knowledge, and to recommend potential solutions while providing assistance and supporting information to regulatory Brazilian agencies, contributing to solutions for the current problem of the informal production of Brazilian artisanal cheeses.

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out in fall (May) in the municipality of Seara (CREDISEARA: credit system comprising the entirety of the cooperative partners). These partners (around 600 families) are responsible for the whole milk production in this municipality of the state of Santa Catarina, Brazil. Of these, 71 families produce and sell CTC. Only one family produces cheese with pasteurized milk and therefore has formalized their activity and was not included in the sampling. The samples were chosen randomly from among 70 families who produce CTC in the traditional manner using raw milk, resulting in a total of 12 rural properties in the study. Considering the situation of informality, and thereby, the possibility of some of the farms refusing to participate in the research (which occurred with 3 properties), the number of sample units surveyed was higher than what was statistically necessary for a representative sample.

The conditions for production of the CTC were studied using a semistructured method, which took into account how the milk was obtained, whether good manufacturing practices were employed, and the structure of these dairies. Physical-chemical and microbiological analyses were carried out on the water, milk,

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

Table 1. Microbiological quality [most probable number (MPN)/100 mL] of the water on the rural properties

Rural property	Water source	Total coliforms	<i>Escherichia coli</i>
1	Artesian well	>2,419.2	21.3
2	Natural spring	>2,419.2	32.3
3	Natural spring	224.7	<1.0 (absent)
4	Artesian well	204.6	<1.0 (absent)
5	Natural spring	>2,419.2	<1.0 (absent)
6	Artesian well	>2,419.2	51.2
7	Artesian well	<1.0 (absent)	<1.0 (absent)
8	Artesian well	1,203.3	24.6
9	Artesian well	464.1	<1.0 (absent)
10	Natural spring	>2,419.2	29.9
11	Natural spring	>2,419.2	488.4
12	Natural spring	>2,419.2	307.6
Standard ¹		Absent in 100 mL	Absent in 100 mL

¹Source: Ministério da Saúde (Brazil, 2011).

and cheese. The water and raw milk were collected on 2 consecutive days in each of the properties studied. Water was collected at the cheese manufacturing site, and raw milk was collected before the beginning of cheese production directly from the vat. The cheeses were collected for analysis after the full manufacturing period, according to the time of ripening practiced by each of the cheesemakers. All samples collected were transported and maintained at 5°C in coolers until analysis.

The most probable number method was applied using the Colilert system (Idexx Laboratories, Westbrook, ME) for presumptive enumeration and identification of coliform and *E. coli* (AOAC International, 2007; Brazil, 2011). The SCC and total bacterial count (**TBC**) were determined in the raw milk samples. The analyses were carried out in a laboratory accredited by the Brazilian Laboratory Network of Milk Quality Control (Rede Brasileira de Qualidade do Leite) using the methodologies recommended by MAPA (Brazil, 2011).

Physical-chemical and microbiological analyses of the CTC samples followed the methodologies established by Normative Instruction no. 62 of MAPA (Brazil, 2003). Fat determination was performed using the Gerber butyrometric method, and moisture was determined by the greenhouse evaporation technique. For the microbiological analyses, the following microorganisms were investigated in duplicate in the cheese samples according to the Bacteriological Analytical Manual of the US Food and Drug Administration: *E. coli* and coliform bacteria, *S. aureus*, *Salmonella* sp., and *L. monocytogenes* (BAM, 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

The size of the surveyed properties ranged from 2.5 to 29.3 ha (average: 13.9 ha), with a milk production of

15 to 280 L/d (average: 147.5 L/d), and the production of CTC utilized raw milk.

Of the analyzed water samples (Table 1), 91.7% did not comply with the current standards for total coliforms and 58.3% did not comply with the standards for *E. coli*; 50.0% of the water came from natural sources and 50.0% came from artesian wells. Only one sample (8.3%) of water sourced from an artesian well was within the current standards (rural property 7).

Despite the evident importance of water quality, few artisanal cheese producers monitor their water supplies, which contributes to bacterial contamination in the CTC (Piana et al., 2014). Water is widely used in food processing, and its physical-chemical and microbiological characteristics directly interfere with the sanitary quality of the food produced (Roloff, 2006). According to Brazilian legislation for the production of cheese with raw milk, dairies must carry out chlorination and ensure the potability of water used in all activities involved in processing, from obtaining raw material to final production (Brazil, 2013). The high incidence of water contamination in rural properties is a common feature detected in other regions where cheese is made with raw milk (Pinto et al., 2009; Rangel et al., 2015). Although the source of the contamination was not evaluated in this study, the problem usually originates from water sources without adequate protection, inadequate material used in the water collection system that can allow for the formation of biofilms in the water reservoirs, as well as inadequate materials used in cleaning the water collection systems. These inadequacies can represent a risk factor for the health of the producers since the analyzed water samples were used both in the manufacture of the CTC and for family consumption.

The owners of the properties evaluated did not have training in water quality control to ensure potability,

Table 2. Raw milk quality produced on the rural properties¹

Rural property	Type of milking	TBC/mL	SCC/mL
1	Mechanical	9,000	386,000
2	Manual	99,000	853,000
3	Manual	42,000	316,000
4	Mechanical	504,000	269,000
5	Mechanical	211,000	269,000
6	Mechanical	1,546,000	575,000
7	Mechanical	37,000	416,000
8	Mechanical	1,786,000	1,084,000
9	Mechanical	26,000	149,000
10	Manual	52,000	347,000
11	Mechanical	82,000	838,000
12	Mechanical	115,000	924,000
Standard (southern region of Brazil) ²		Maximum 300,000	Maximum 500,000

¹TBC = total bacteria count.²Source: Ministério da Agricultura (Brazil, 2018).

nor did they perform chlorination, which could help them solve the problems encountered. Studies carried out in other Brazilian regions found between 95 and 100% of rural farms producing milk and cheese evaluated were outside of the legal microbiological parameters for water quality (Horstmann et al., 2011; Rangel et al., 2015). If all producers of CTC were trained in the standards of good manufacturing practices, the levels of contamination observed would decrease. Therefore, the authors of this study strongly recommend that training in the proper management of water supplies be introduced and implemented in all CTC production facilities.

A total of 25 and 41.7% of the raw milk samples did not comply with standards for TBC and SCC to determine the quality of milk used for the manufacturing of CTC, respectively (Table 2).

Milk suffers contamination from the time it is collected until the time of manufacturing that can vary according to the time, temperature, and mode of exposure, thereby raising the TBC. High numbers may represent hygienic failures during milking, both in the procedures and in the hygiene of the equipment, as well as inadequate storage of the milk after it has been obtained. When manufacturing raw milk, it must be processed immediately after milking or stored in appropriate and sanitized equipment under adequate refrigeration. Studies indicate that raw milk, particularly from animals with some degree of mastitis (Ribeiro et al., 2009), is the main source vectoring *S. aureus* in cheese (Andre et al., 2008). In addition to other potential pathogens such as *E. coli*, the teat of the animal is considered a repository of pathogens that will infect raw milk and, consequently, cheeses (Picoli et al., 2014). When these microorganisms cross the streak canal and reach the mammary glands of the animal, they

can cause clinical, subclinical, or chronic mastitis. The defense cells involved in this mechanism (somatic cells) increase their concentration in milk. Somatic cells are defined as all cells found in milk, including leukocytes of sanguine origin and epithelial cells of the secretory gland epithelium (Oliveira et al., 2011). For this reason, control of mastitis with SCC monitoring in milk is an indicator of animal health (Lopes and Souza, 2012). In addition to indicating problems in the health of the animal, an increase in SCC can lead to economic losses, since the inflammatory process is related to a decrease in milk production in the affected teats and a decrease in yield in cheese production (Silva et al., 2012).

To obtain a quality milk, it is necessary for the milk producers to be able to detect any potential health problems during milking, including subclinical mastitis, and employ appropriate hygienic procedures and correct handling. As shown in Table 2, the largest TBC were those for which the milk was obtained with mechanical milking: 1.5 and 1.7 million TBC/mL refer, respectively, to the production units 6 and 8. Mechanical milking, if misused, causes damage to the teat of the animal through improper pressure as well as increased TBC in milk through inadequate cleaning and sanitation. Therefore, these producers need training to identify these possible faults promptly to avoid nonconforming results, such as those found during this study.

The CTC was produced by the studied properties starting with the addition of chymosin-based liquid coagulant (rennet) to fresh milk (in 34% of dairies) or a mixture of the milk of the previous afternoon's milking with that just obtained on the morning of the day of manufacture (in 66% of dairies). For the addition of the rennet, the milk was preheated indirectly using a container in contact with a flame on a wood burning or gas

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

stove, or without any heating (in 16% of dairies). The temperature at coagulation is not measured by the producers and may constitute a critical point involved in the wide variation in the characteristics of the cheeses produced in the same region. After complete coagulation, which lasts between 30 and 60 min, cutting of the curd is accomplished with the aid of knives or wire curd cutting tools. After cutting, the curd is stirred for 10 to 20 min until the curds are ready to be drained. In 83% of the cases, after the cut, the curds are heated to temperatures not exceeding 40°C and are maintained at this temperature for between 1 and 10 min.

The addition of salt occurs in one of 3 ways: (1) direct addition of the salt to milk (in 25% of dairies); (2) addition after the drain point has been obtained (in 25% of dairies); or (3) addition after pressing when dry (in 50% of dairies). The cheeses are pressed with the aid of a small mechanical press (in 58% of dairies) or manually (42%). After pressing and salting, in some cases, the cheeses are submitted to a ripening process at ambient temperature (in 50% of dairies), under refrigeration (in 25% of dairies), or both (in 25% of dairies). This stage is also a critical point in determining the specific legislation for CTC, since each of the conditions of ripening result in cheeses with different physical-chemical, microbiological, and sensorial characteristics. Thus, based on curd treatment, the CTC produced in this region can be classified as semicooked or uncooked paste (Brazil, 1996).

The mean fat concentration (%; Table 3) ranged from 16.00 (SD $\pm$ 1.73) to 31.17 (SD $\pm$ 1.26), resulting in these cheeses being classified, in relation to the fat content, into 3 categories: (1) semifat (58.4%), (2) fat (33.3%), and (3) extra fat (8.3%). This variation is because, in some properties, the cream is produced from the afternoon milk by skimming the surface fat off the top, and then, the partially skim milk is held under refrigeration until the following day. This skim milk is then added to the morning milk of the following morning and used in the production of the CTC. In addition to the variation in the raw material from mixing whole morning milk with skim milk from the afternoon before, the breed and feeding practices of the animal are also critical points in the fat content of the CTC of that region.

Another important variable in cheese is the moisture (%), which ranged from 33.88 (SD $\pm$ 1.15) to 47.19 (SD $\pm$ 2.03) in the samples. According to the current Brazilian legislation, the samples in the present study were classified as (1) low, (2) average, or (3) high moisture. All samples in the present study were classified as high moisture. The variations of moisture content identified in the samples may be related to the different modes of cheese production. High moisture content in cheeses at

the end of a relatively prolonged ripening may be associated with the high relative humidity of the existing environment in the winter season in the region studied. In periods of lower relative humidity and in other periods of the year, the moisture contents obtained at the end of ripening would likely be lower, for example, after 30 d. Large variations in the composition of the CTC, both moisture and fat content were also observed by Oliveira et al. (2012), Silveira et al. (2012), and Silva et al. (2015).

Microbiological parameters were evaluated according to the moisture content (Brazil, 1996). For total coliforms, only one sample (8%) was within the standards; however, according to the legislation of the National Sanitary Surveillance Agency (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) responsible for the inspection of animal products at the point of sale, there are no parameters for total coliforms. These cheeses, therefore, are all eligible for sale in this respect. The specific bacteria counted among the total coliforms belonged to the genera *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Klebsiella*. Of these, only *E. coli* has the intestinal tract of humans and other warm-blooded animals as its primary habitat. Other species, such as *Citrobacter*, *Enterobacter*, and *Klebsiella*, in addition to being found in human and animal feces, are also present in other environments, such as plants and soil. Consequently, the presence of total coliforms in the food does not necessarily indicate fecal contamination or the occurrence of enteropathogens, probably explaining why the Agência Nacional de Vigilância Sanitária does not use total coliform levels as a microbiological parameter (Franco and Landgraf, 2008).

As for thermotolerant coliforms, 4 samples (33.3%) were within the standards, and for coagulase-positive staphylococci, no sample was present within the standards. These 2 microorganisms were responsible for the samples testing outside of the legal parameters. It is worth highlighting data from producer number 7. The water, milk, and cheese from this producer were within the standards, except for *S. aureus* in the cheese where the numbers (5.6×10^3 cfu/g) were close to the standard (lower than 1.0×10^3 cfu/g), which demonstrates the importance of these controls to obtain a quality cheese. This discussion could go further when we consider that the current standards are those used for cheese produced with pasteurized milk. When using the European Union standards for cheese made with raw milk, the cheese from producer number 7 would be fit for consumption, as well as producers 2, 4, 5, 8, 10, and 11 (European Union, 2005).

The bacteria belonging to the thermotolerant coliforms, also called fecal coliforms by the current legislation (Brazil, 2001), which correspond to the total coli-

Table 3. Microbiological and physical-chemical quality of the Colonial-type cheese

Rural property	Ripening ¹ (d)	Moisture (% $\pm$ SD)	Fat (% $\pm$ SD)	Total coliforms ² (MPN/g)	Thermotolerant coliforms (MPN/g)	Coagulase-positive staphylococci (cfu/g)	<i>Listeria monocytogenes</i> (per 25 g)	<i>Salmonella</i> sp. (per 25 g)
1	10	46.28 ($\pm$ 0.60)	29.50 ($\pm$ 0.50)	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	5.2×10^5	Absent	Absent
2	30	35.43 ($\pm$ 2.37)	19.33 ($\pm$ 1.15)	2.1×10^3	2.1×10^3	2.0×10^4	Absent	Absent
3	30	47.03 ($\pm$ 0.73)	16.00 ($\pm$ 1.73)	$>2.4 \times 10^4$	2.4×10^4	1.2×10^5	Absent	Absent
4	15	36.83 ($\pm$ 0.18)	19.67 ($\pm$ 1.53)	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	1.0×10^5	Absent	Absent
5	12	47.19 ($\pm$ 2.03)	16.33 ($\pm$ 1.15)	$>2.4 \times 10^4$	4.6×10^3	9.9×10^4	Absent	Absent
6	12	45.84 ($\pm$ 2.11)	20.67 ($\pm$ 0.58)	$>2.4 \times 10^4$	4.3×10^2	2.0×10^5	Absent	Absent
7	36	49.29 ($\pm$ 1.36)	30.83 ($\pm$ 0.76)	$>2.4 \times 10^4$	2.1×10^2	5.6×10^3	Absent	Absent
8	20	33.88 ($\pm$ 1.15)	24.83 ($\pm$ 0.29)	$>2.4 \times 10^4$	1.1×10^4	3.5×10^4	Absent	Absent
9	12	34.01 ($\pm$ 1.24)	30.83 ($\pm$ 1.04)	$>2.4 \times 10^4$	2.4×10^4	1.8×10^5	Absent	Absent
10	5	40.72 ($\pm$ 0.39)	31.17 ($\pm$ 1.26)	$>2.4 \times 10^4$	4.3×10^2	9.2×10^3	Absent	Absent
11	12	38.14 ($\pm$ 3.34)	29.17 ($\pm$ 0.29)	$>2.4 \times 10^4$	2.4×10^4	4.9×10^3	Absent	Absent
12	36	35.05 ($\pm$ 0.78)	19.67 ($\pm$ 1.53)	$>2.4 \times 10^4$	4.6×10^2	1.6×10^5	Absent	Absent
				(cfu/g)	(cfu/g)	(cfu/g)		
Microbiological standards for cheese ³		Low moisture		Maximum 1×10^3	Maximum 5×10^2	Maximum 1×10^3	Absent	Absent
		Average moisture		Maximum 5×10^3	Maximum 5×10^2	Maximum 1×10^3	Absent	Absent
		High moisture		Maximum 1×10^4	Maximum 5×10^3	Maximum 1×10^3	Absent	Absent

¹Time of ripening practiced by each of the cheesemakers.

²The Agência Nacional de Vigilância Sanitária does not establish parameters for total coliforms. Standard from Portaria no. 146 (Brazil, 1996). Source: Resolução no. 12 (Brazil, 2001). MPN = most probable number.

³Standard from Portaria no. 146 (Brazil, 1996).

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

forms, have the capacity to continue fermenting lactose and produce CO₂ when incubated at the temperature of 44 to 45°C. In these conditions, approximately 90% of the bacteria present are *E. coli*, whereas among the other genera, only some strains of *Enterobacter* and *Klebsiella* present this characteristic (Franco and Landgraf, 2008). These microorganisms are used as indicators of hygienic-sanitary conditions applied in industrial manufacturing processes; however, in cheese made from raw milk, these microorganisms may be present in the raw material, demonstrating a need to better understand the current regulatory standards and whether they are relevant to the production of artisanal cheese from raw milk (D'Amico and Donnelly, 2010).

There are different species of the genus *Staphylococcus*, but the coagulase-positive biotypes of *S. aureus* are the most important because they are frequently associated with staphylococcal contamination in food. Because of this, testing for staphylococcal toxins would be a more effective way to judge whether an artisanal cheese is suitable for consumption rather than counting these microorganisms: the toxin is not produced in the food under all environmental conditions. Although *S. aureus* counts are above those permitted by current legislation, the count tends to decrease with ripening and does not rise, as it does in industrial products. This could safely allow for the elimination of the current safety margin in the regulatory standards, which are kept low to compensate for the tendency of counts to rise in industrially produced pasteurized products. The current standard jeopardizes the ability of CTC to earn the classification "within the standards" (Dores et al., 2013; Hunt et al., 2015; Martins et al., 2015).

Discussion of the standards required for artisanal products, because of the origin of the raw material and the type of processing employed, led the US Food and Drug Administration and the European Union to stop monitoring nontoxigenic *E. coli* in cheeses made with raw milk so as not to impede the production of these foods due to the rigor of industrial and international standards. In accordance with the World Trade Organization, US public health standards must be based on sound scientific evidence (Trmčić et al., 2016). The Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health issued an opinion in 1999 on the evaluation of microbiological criteria for food products of animal origin for human consumption. It highlighted the relevance of basing microbiological criteria on formal risk assessment and internationally approved principles. The opinion recommends that microbiological criteria should be relevant and effective in relation to consumer health protection.

The microbiological criteria for foodstuffs adopted by the European Union (2005) states that, for cheeses

made from raw milk, coagulase-positive staphylococci may not exceed 10⁵ cfu/g (*M*) during the manufacturing process when the number of staphylococci is expected to be highest. In the case of unsatisfactory results, the cheese batch has to be tested for staphylococcal enterotoxins, and improvements in production hygiene and selection of raw materials need to be implemented. The microbiological limit applied in the European Union is 10² cfu/g higher than that applied in Brazil. The European value is reasonable considering that, for cheeses made from raw milk, the microbiological count tends to decrease with ripening, thus a safety parameter as high as the Brazilian standard is not required. Using the European Union criterion, 58,3% of the samples from this study would meet the standards without any intervention in the process being deemed necessary.

Contamination above the current Brazilian limits for both thermotolerant coliforms and *S. aureus* (Table 3) may be associated with the quality of the raw material, as well as its incorrect handling and packaging, which, from the initial TBC, allowed the proliferation of these quantified microorganisms in the cheese. However, it cannot be disregarded that the CTC is produced from a raw material that has not undergone heat treatment. This means that using industrial parameters of products made with pasteurized milk as hygienic indicators for an artisanal product made with raw milk is not adequate, making it necessary to have a specific parameter for this type of product. A fair parameter, one that guarantees the safety of these handmade foods while allowing the producers the opportunity to commercialize their product and sustain themselves economically, should be implemented.

All the samples tested were within the standards for *L. monocytogenes*, a result equivalent to that presented in other studies of cheese produced with raw milk (Dores et al., 2013; Martins et al., 2015). The complex matrix composed of diverse microbes and unfavorable pH found in CTC potentially inhibited the development of *L. monocytogenes*. The autochthonous microbiota from raw milk may naturally inhibit the proliferation of pathogenic microorganisms during the cheese-making process (Millet et al., 2006; Aragon-Alegro, 2007). The cheeses evaluated in this study also met the standards for *Salmonella* sp.

Because the production is located more specifically in the western region of Santa Catarina, the CTC was exposed to large fluctuations in temperature throughout the year, which hinders the ability to standardize the temperature when ripening occurs in ambient temperature without the aid of temperature-controlled aging rooms. These seasonal fluctuations cause some producers to ripen their cheeses in a household refrigerator, especially in the summer, explaining why cheeses

with a ripening period of 30 d may still show results outside the legal microbiological criteria (Dores et al., 2013; Martins et al., 2015). This situation reinforces the idea that the best way to achieve legal standards and ensure the safety of the product is the adoption of good handling, milking, and manufacturing practices. In some cases, the use of aging rooms with controlled temperatures and humidity could be advisable, but the use of climate-controlled environments will incur costs for artisanal production, requiring public aid for family farming.

The properties sampled were not certified or controlled as free from brucellosis and tuberculosis as required by legislation for the production of cheese with raw milk (Brazil, 2013). The primary reasons given by the producers were (1) lack of adequate assistance for monitoring animal health, (2) high costs, and (3) lack of government support for the certification of the herd. The lack of control of zoonosis in the herds compromises the production of cheese from the raw milk, since it is essential that the animals be proven free of these pathogens to avoid risking transmission to the consumer. Faria et al. (2014) demonstrated the presence of the etiological agent of tuberculosis in artisanal Coalho-type cheese produced from raw milk and marketed in northeast Brazil. Recently, the Brazilian National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis, instituted in 2001 by the MAPA, revised the technical regulation and published Normative Instruction no. 10 in 2017 that aims to reduce the prevalence and incidence of these diseases in cattle (Brazil, 2017b). The action strategy of the Brazilian National Program for the Control and Eradication of Animal Brucellosis and Tuberculosis is based on the classification of the federative units as to the degree of risk for these diseases and on the definition and application of animal health defense procedures, according to the classification of risk. To mitigate the huge challenge for the program to certify herds in a continental country such as Brazil, zoonosis control could be decentralized to the municipality level.

CONCLUSIONS

We demonstrated in this study that the production of CTC is not capable of meeting the existing legal microbiological parameters. However, that may not prove that the cheeses studied are unfit for human consumption. A more comprehensive analysis is needed, as the microbiological parameters currently used were developed to evaluate products processed industrially from pasteurized milk. Microbiological standards specific to artisan cheese made from raw milk are urgently

needed. These new regulatory standards need to take into account how the manufacturing method differs for raw material that carries an inherent microbiological load and take into account how the risks linked to the health of the herd are managed to determine whether the product is suitable for human consumption. The ban on the production and marketing of these noncompliant products is not the appropriate way to solve the problem. Risk analysis studies should be performed to better understand the true sanitary risks. The development of specific policies to support these rural producers would be of fundamental importance, not through punitive oversight, but through concrete corrective actions leading to real improvement in the health of the herd and the quality of water, milk, and cheese. Examples of concrete actions that would assist in the evolution and improvement of CTC production would be (1) the creation of programs, decentralized from MAPA, to monitor and certify properties as zoonosis free; (2) the protection of water sources in rural properties linked to improving the quality control of the water obtained from those sources; the implementation of training for the application of good handling, milking, and manufacturing practices; (3) constant monitoring of the quality of the milk and cheeses produced; (4) and the need to evaluate the microbiological risks involved in the chain of production of traditional raw milk artisan cheeses such as CTC.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001. The authors are grateful to the Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI/SC) in the municipalities of Chapecó and Seara and to the Cooperativa de Crédito Rural Seara (CREDISEARA) for generous assistance and support during the study.

REFERENCES

- Andre, M. C. D. P. B., M. R. H. Campos, L. J. Borges, A. Kipnis, F. C. Pimenta, and A. B. Serafini. 2008. Comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from food handlers, raw bovine milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. *Food Control* 19:200–207.
- AOAC International. 2007. Method 991.15: Total coliforms and *Escherichia coli* in water. In *Official Methods of Analysis of AOAC International* - 18th ed. AOAC International, Rockville, MD.
- Aragon-Alegro, L. C. 2007. Influência dos Coliformes no Comportamento de *Listeria monocytogenes* em Queijo Minas Frescal. 93 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade de São Paulo.
- BAM (Bacteriological Analytical Manual). 2018. Accessed in May 22, 2018. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm>.

CURRENT SITUATION OF COLONIAL CHEESE FROM BRAZIL

- Brazil. 1996. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Portaria 146 de 07 de março de 1996. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 11 de março de 1996.
- Brazil. 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001.
- Brazil. 2003. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 de setembro de 2003.
- Brazil. 2009. Lei nº 11.947, de 16 de junho de 2009. Dispõe sobre o atendimento da alimentação escolar e do Programa Dinheiro Direto na Escola aos alunos da educação básica. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 17 de junho de 2009.
- Brazil. 2011. Ministério da Saúde. Portaria nº 2914 de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 13 de dezembro de 2011.
- Brazil. 2013. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa nº 30 de 7 de agosto de 2013. 2013. Estabelece critérios adicionais para elaboração de Queijos Artesanais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 8 de agosto de 2013.
- Brazil. 2017a. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017. Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de março de 2017.
- Brazil. 2017b. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Instrução Normativa SDA nº 10 de 3 de março de 2017. Estabelece o Regulamento Técnico do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e da Tuberculose Animal - PNCEBT e a Classificação das Unidades da Federação de acordo com o grau de risco para as doenças brucelose e tuberculose, assim como a definição de procedimentos de defesa sanitária animal a serem adotados de acordo com a classificação. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 20 de junho de 2017.
- Brazil. 2018. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. 2018. Instrução Normativa nº 31 de 29 de junho de 2018. Altera a tabela 2 do item 3.1.3.1, do Anexo II da Instrução Normativa nº. 62, de 29 de dezembro de 2011, que aprova o Regulamento Técnico de Produção, Identidade e Qualidade do Leite tipo A, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Cru Refrigerado, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leite Pasteurizado e o Regulamento Técnico da Coleta de Leite Cru Refrigerado e seu Transporte a Granel. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 30 de junho de 2018.
- Carvalho, M. M., J. De Dea Lindner, and L. O. Fariña. 2015. A produção de queijo colonial artesanal no município de Seara, estado de Santa Catarina, frente à legislação brasileira. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes 70. <https://doi.org/10.14295/2238-6416.v70i5.463>.
- Choi, K. H., H. Lee, S. Lee, S. Kim, and Y. Yoon. 2016. Cheese microbial risk assessments - A review. Asian-australas. J. Anim. Sci. 29:307–314.
- Cruz, F. T., and R. Menasche. 2014. Tradition and diversity jeopardised by food safety regulations? The Serrano cheese case, Campos de Cima da Serra region, Brazil. Food Policy 45:116–124.
- D'Amico, D. J., and C. W. Donnelly. 2010. Microbiological quality of raw milk used for small-scale artisan cheese production in Vermont: Effect of farm characteristics and practices. J. Dairy Sci. 93:134–147.
- D'Amico, D. J., M. J. Druart, and C. W. Donnelly. 2008. 60-day aging requirement does not ensure safety of surface-mold-ripened soft cheeses manufactured from raw or pasteurized milk when *Listeria monocytogenes* is introduced as a postprocessing contaminant. J. Food Prot. 71:1563–1571.
- De Buyser, M. L., B. Dufour, M. Maire, and V. Lafarge. 2001. Implication of milk and milk products in food-borne diseases in France and in different industrialized countries. Int. J. Food Microbiol. 67:1–17.
- De Dea Lindner, J. 2016. Characteristics and production of microbial cultures. Pages 267–294 in Fermented Foods of Latin America: From Traditional Knowledge to Innovative Applications. 1st ed. Vol. 1. Ana Lucia Barretto Penna, Luis A. Nero, and Svetoslav D. Todorov, ed. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL.
- De Dea Lindner, J., V. Bernini, A. De Lorentiis, A. Pecorari, E. Neviani, and M. Gatti. 2008. Parmigiano Reggiano cheese: Evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. Dairy Sci. Technol. 88:511–523.
- Dores, M. T., J. E. Nobrega, and C. L. L. F. Ferreira. 2013. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of Brazilian artisan Canastra cheese. Food Sci. Technol. (Campinas) 33:180–185.
- European Union. 2005. Commission Regulation (EC) N° 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs. Official Journal of the European Union. L 338/26.
- Faria, A. C., D. G. Schwarz, I. A. Carvalho, B. B. Rocha, C. K. N. Castro, M. R. Silva, and M. A. Moreira. 2014. Short communication: viable *Mycobacterium avium* subspecies para tuberculosis in retail artisanal Coalho cheese from Northeastern Brazil. J. Dairy Sci. 97:4111–4114.
- Franco, B. G. M., and M. Landgraf. 2008. Microbiologia dos alimentos. Atheneu, São Paulo, Brazil.
- Gobbetti, M., E. Neviani, and P. Fox. 2018. The main characteristics of the Italian cheeses. Pages 61–88 in The Cheeses of Italy: Science and Technology. Vol. 1. 1st ed. Marco Gobbetti, Erasmo Neviani, and Patrick Fox, ed. Springer.
- Horstmann, J., C. A. V. L. Rosa, A. T. Neto, L. C. A. Picini, J. J. Fuck, and G. Marin. 2011. Qualidade da água utilizada na ordenha de propriedades leiteiras do Meio Oeste Catarinense, Brasil. Rev. Ciênc. Agrovet. 10:9–15.
- Hunt, K., F. Butler, and K. Jordan. 2015. Modelling production of *S. aureus* enterotoxin Cbovine in milk, and its production during cheesemaking. Dairy Sci. Technol. 95:747–757.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2017. Censo Agropecuário Brasileiro.
- Lopes, J. E. F., and G. N. Souza. 2012. Contagem de Células Somáticas e Liberação de Bactérias de Quartos Mamários de Vacas com Mastites Subclínicas. Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes 67:73.
- Martins, J. M., E. Galinari, N. J. Pimentel-Filho, J. I. Ribeiro Jr., M. M. Furtado, and C. L. L. F. Ferreira. 2015. Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese, a traditional Brazilian cheese. Braz. J. Microbiol. 46:219–230.
- Millet, L., M. Saubusse, R. Didiene, L. Tessier, and M. C. Montel. 2006. Control of *Listeria monocytogenes* in raw-milk cheeses. Int. J. Food Microbiol. 108:105–114.
- Oliveira, C. M. C., M. G. S. Sousa, N. S. Silva, C. L. Mendonça, J. A. S. Silveira, R. P. Oaigen, and J. T. Andrade. 2011. Prevalência e etiologia da mastite bovina leiteira de Rondon do Pará. Pesqui. Vet. Bras. 31:104–110.
- Oliveira, D. F., C. E. C. Bravo, and I. B. Tonial. 2012. Sazonalidade como fator interferente na composição físico-química e avaliação microbiológica de queijos coloniais. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 64:521–523.
- Piana, S. C., S. C. Piana, L. O. Fariña, F. A. Falconi, and J. Bursarello. 2014. Avaliação da qualidade microbiológica da água de propriedades leiteiras dos municípios de Campo Bonito, Cascavel e Guaraniacú – PR. Semin. Ciênc. Biol. Saude 35:25–34.
- Picoli, T., J. L. Zani, F. S. Bandeira, V. F. B. Roll, M. E. R. Ribeiro, G. A. Vargas, S. O. Hübner, M. Lima, M. C. A. Meireles, and G. Fischer. 2014. Manejo de ordenha como fator de risco na ocorrência de microorganismo em leite cru. Semin. Ciênc. Agrar. 35(suplemento):2471–2480.
- Pinto, M. S., C. L. L. F. Ferreira, J. M. Martins, V. A. M. Teodoro, A. C. S. Pires, L. B. A. Fontes, and P. I. R. Vargas. 2009. Segurança alimentar do queijo Minas Artesanal do Serro, Minas Gerais, em

DE MEDEIROS CARVALHO ET AL.

- função da adoção de boas práticas de fabricação. *Pesqui. Agropecu. Trop.* 39:342–347.
- Rangel, A. H. N., R. M. B. Freire, L. H. F. Borba, D. M. Lima Jr., and L. P. Novaes. 2015. Qualidade microbiológica da água utilizada em propriedades leiteiras. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes* 70:9–16.
- Ribeiro, M. G., J. S. Geraldo, H. Langoni, J. H. B. Lara, A. K. Siqueira, T. Salerno, and M. C. Fernandes. 2009. Microorganismos patogênicos, celularidade e resíduos de antimicrobianos no leite bovino produzido no sistema orgânico. *Pesqui. Vet. Bras.* 29:52–58.
- Roloff, T. A. 2006. Efeitos da não aplicação do controle de qualidade da água nas indústrias alimentícias. *SaBios: Rev. Saúde e Biologia*, v. 1, n. 1.
- Silva, F., G. Silva, I. B. Tonial, and F. P. Castro-Cislaghi. 2015. Qualidade microbiológica e físico-química de queijos Coloniais com e sem inspeção, comercializados no Sudoeste do Paraná. *B. Ceppa*, V. 33, n. 2.
- Silva, N. M. A., L. P. F. Bastos, D. L. S. Oliveira, M. C. P. P. Oliveira, and L. M. Fonseca. 2012. Influence of somatic cell count and total bacterial counts of raw milk in cheese yield using small-scale methodology. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 64. <https://doi.org/10.1590/S0102-09352012000500038>.
- Silveira, J. F. Jr., D. F. Oliveira, F. Braghini, E. M. S. Loss, C. E. C. Bravo, and I. B. Tonial. 2012. Caracterização físico-química de queijos coloniais produzidos em diferentes épocas do ano. *Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes* 67:67–80.
- Trmčić, A., K. Chauhan, D. J. Kent, R. D. Ralyea, N. H. Martin, K. J. Boor, and M. Wiedmann. 2016. Coliform detection in cheese is associated with specific cheese characteristics, but no association was found with pathogen detection. *J. Dairy Sci.* 99:6105–6120.
- Wilkinson, J., and L. C. Mior. 1999. Setor informal, produção familiar e pequena agroindústria: Interfaces. *Estud. Soc. Agric.* 13:29–45.



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Ofício nº 343/2020

Florianópolis, 24 de agosto de 2020.

À Universidade Federal de Santa Catarina / Departamento de Ciência e
Tecnologia de Alimentos

Em atenção à carta S/Nº, encaminhada em nome da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, CNPJ 83.899.526-0001/82, por meio de e-mail da aluna Michelle M. Carvalho e Prof. Juliano De Dea Lindner, cadastrado no SGPe sob número SAR 1063/2020, encaminhando proposta para Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) do Queijo Colonial Artesanal de Santa Catarina, mediante a apresentação de estudo intitulado *“Traditional Colonial-type cheese from south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk”*, de autoria de Carvalho, et al., 2019, apresentamos o parecer que segue:

A proposta apresentada se refere ao RTIQ do Queijo Colonial Artesanal de Santa Catarina, produzido por meio de leite cru, conforme consta na minuta apresentada, no entanto regida pela Lei nº 17.486, de 16 de janeiro de 2018 e pelo Decreto nº 362, de 21 de novembro de 2019.

Cabe salientar que a proposta apresentada é genérica, se referindo ao Queijo Colonial Artesanal produzido em todo o Estado de Santa Catarina, portanto contrariando as premissas expressas tanto na Lei quanto no Decreto supracitados, que trazem em vários pontos de suas redações que os RTIQs serão estabelecidos para cada tipo e variedade.

**Ao Departamento de Ciências e Tecnologia de Alimentos
CCA/UFSC
Florianópolis – SC**

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 2 do ofício 343/2020

Neste contexto, manifestamos que não há adequação com as Normativas citadas, uma vez que existem diferenças significativas para queijos produzidos em regiões diferentes, fator primordial para a apresentação de proposta de RTIQ.

Informa o requerente que a proposta foi baseada em estudos técnicos-científicos realizados no estado de Santa Catarina e publicado na revista *Journal of Dairy Science* (avaliação CAPES *qualis* A1), anexo a este processo, que a mesma contou com a participação de pesquisadores de distintas instituições e de extensionistas da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) e que teve a participação de diversas entidades que atuam direta ou indiretamente com a produção de Queijo Colonial Artesanal no Estado de Santa Catarina e que subscrevem a Carta S/Nº, parte do processo SAR 1063/2020.

Neste sentido parabenizamos os autores pelo aceite da publicação em revista cujo conceito na Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) tem alto valor no quesito de publicação para a comunidade acadêmica.

No entanto, quando analisamos os estudos apresentados como subsídio ao requerimento de RTIQ, esta Diretoria leva em consideração os dados de qualidade e inocuidade do produto com a finalidade primordial de salvaguardar a saúde pública.

Extraí-se do estudo apresentado que o objetivo do mesmo foi investigar a qualidade microbiológica da água, do leite cru e do queijo colonial produzido e vendido informalmente por agricultores familiares em um município localizado no Oeste de Santa Catarina, especificamente o município de Seara, com o intuito de identificar questões resultantes da produção informal do queijo e recomendar potenciais soluções para servirem de apoio às agências reguladoras brasileiras, contribuindo para o problema da produção informal dos queijos artesanais brasileiros.

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br



**ESTADO DE SANTA CATARINA**

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 3 do ofício 343/2020

Segundo os materiais e métodos apresentados, cerca de 600 famílias produzem leite no município estudado e destas, 71 famílias produzem e vendem queijo artesanal colonial, sendo que apenas uma produz queijo com leite pasteurizado, a qual não foi incluída na amostragem. É informado que as amostras foram escolhidas aleatoriamente entre as 70 famílias que produzem o queijo artesanal colonial de maneira tradicional utilizando leite cru, resultando em 12 propriedades rurais no estudo. No decorrer deste item informam as metodologias utilizadas para cada análise.

Levando-se em consideração que para a validação da qualidade e aptidão para o consumo, alguns requisitos como qualidade microbiológica da água, do leite e do queijo são primordiais com vistas à manutenção da saúde pública.

O referido estudo demonstrou que das amostras de água, 91,7% não estavam em conformidade com as normas em vigor para coliformes totais e 58,3% não estavam em conformidade para as normas de *E. coli* e que apenas uma amostra (8,3%), cuja água era proveniente de poço artesiano, apresentava-se dentro das normas, inferindo que a qualidade da água contribui para a contaminação bacteriana no queijo artesanal colonial. Na sequência discorrem sobre os possíveis problemas que levam à contaminação da água, citando vários autores e informando que as insuficiências encontradas podem representar um fator de risco para a saúde dos produtores, uma vez que a água era utilizada tanto para a fabricação do queijo artesanal colonial, quanto para o consumo da família.

Demonstrou o estudo que de 25 a 41,7% das amostras de leite cru não estavam dentro das normas de contagem bacteriana total e de contagem de células somática (no artigo citada como SCC, porém não escrita por extenso) para determinar a

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br



**ESTADO DE SANTA CATARINA**

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 4 do ofício 343/2020

qualidade do leite utilizado na fabricação do queijo artesanal colonial, respectivamente e que constam na tabela 2 da referida publicação. Ato contínuo discorrem sobre as fontes de contaminação mais comuns, também referenciando vários autores e apontando possíveis causas e soluções.

Na tabela 3 do estudo são apresentados os resultados nas 12 propriedades quanto à qualidade microbiológica e físico-química do queijo colonial artesanal, onde verifica-se diferentes períodos de maturação, umidade e gordura e dentro destas variações, vários parâmetros inconformes nos critérios microbianos avaliados, chegando a conclusão no estudo que a produção do queijo artesanal colonial estudado não é capaz de atender aos parâmetros microbiológicos legais existentes, embora segundo opinião dos autores, o elencado não possa comprovar que os queijos estudados são impróprios ao consumo humano. Na sequência apresentando possíveis ações que podem contribuir para a evolução e melhoramento da produção do queijo artesanal colonial.

Manifestamos que a proposta de RTIQ não tem como receber guarida para a regulamentação do produto em questão, uma vez que não obedece às Normativas estaduais referentes ao tema, já que é apresentada de forma genérica, buscando abarcar todo o estado de Santa Catarina, enquanto o inciso I, do § 1º do Artigo 1º da Lei nº 17486/2018, o inciso I, do § 1º do artigo 1º e o artigo 9º do Decreto nº 362/2019 instruem que o RTIQ é estabelecido para cada tipo e variedade.

Quanto ao mérito, que foi analisado mesmo sem a necessidade, já que a premissa legal não foi atendida, manifestamos que o “N amostral” é bastante pequeno em relação ao estado, que foi realizado em apenas um município, não podendo

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br





ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA

Folha 5 do ofício 343/2020

ser considerada a extrapolação para o estado todo e que fundamentalmente não contempla os requisitos microbiológicos mínimos para garantia sanitária da saúde pública, bem maior a ser considerado para que o Estado conceda a validação de um produto para consumo da população.

Em tempo, informamos que por orientação da Consultoria Jurídica desta Secretaria de Estado, qualquer pedido em nome da Universidade Federal de Santa Catarina deve ser encaminhado pela Reitoria, Centro ou Departamento responsável pelo pedido.

Daniela Carneiro do Carmo

Diretora de Qualidade e Defesa Agropecuária

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4429

www.agricultura.sc.gov.br

ddea@agricultura.sc.gov.br



**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M386c
2006

Martins, José Manoel, 1974-
Características físico-químicas e microbiológicas
durante a maturação do queijo minas artesanal
da região do Serro / José Manoel Martins. – Viçosa :
UFV, 2006.
xv, 158f. : il. ; 29cm.

Orientador: Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de
Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Queijo-de-minas - Análise. 2. Queijo-de-minas -
Microbiologia. 3. Queijarias - Controle de qualidade.
4. Queijo-de-minas - Serro (MG). 5. Queijarias -
Aspectos econômicos. 6. Microscopia - Técnica.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 637.353

RESUMO

MARTINS, José Manoel, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2006. **Características físico-químicas e microbiológicas durante a maturação do queijo minas artesanal da região do Serro.** Orientadora: Célia Lúcia de Lucas Fortes Ferreira. Co-orientadores: José Ivo Ribeiro Júnior e Mauro Mansur Furtado.

O principal objetivo deste trabalho foi verificar o período mínimo de maturação do queijo minas artesanal da região do Serro avaliando-se os critérios microbiológicos exigidos pela legislação vigente. Especificamente, buscou-se avaliar as características físico-químicas e microbiológicas durante 64 dias de maturação dos queijos; identificar materiais estranhos nas amostras e diagnosticar as boas práticas de fabricação utilizadas nas unidades produtoras. As contagens microbiológicas de mesófilos aeróbios, coliformes totais (30°C), *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foram reduzidas ($P < 0,05$) durante o período de maturação dos queijos, com destaque para aqueles armazenados na condição ambiente, que atingiram os padrões exigidos pela legislação aos 17 dias, tanto no período da seca quanto nas águas. Já os queijos refrigerados só atingiram tais parâmetros aos 33 e 63 dias de maturação, quando fabricados no período da seca e das águas, respectivamente. Observou-se ausência de *Listeria* sp. em todas as amostras, nos dois períodos de fabricação. Observou-se apenas uma amostra positiva para *Salmonella* sp. no período das águas, mantida sob refrigeração, que foi eliminada com 22 dias de maturação. Enterotoxina

estafilocócica não foi detectada em nenhuma amostra analisada. Os resultados físico-químicos indicaram que os queijos maturados na condição ambiente apresentaram nos dois períodos de fabricação redução ($P < 0,05$) dos valores médios de peso, altura, diâmetro, umidade e atividade de água e aumento ($P < 0,05$) médio de gordura, pH, nitrogênio total, proteína total, cloreto de sódio, nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 12%. Quando maturados sob refrigeração, os parâmetros físico-químicos mantiveram-se constantes ($P > 0,05$), nos dois períodos do ano, com exceção de nitrogênio solúvel em pH 4,6 e nitrogênio solúvel em TCA 12%, cujos valores médios aumentaram ($P < 0,05$) durante a maturação. Dos materiais estranhos identificados, ardósia, areia e principalmente material terroso (pontos escuros/marrons), apresentaram-se em quantidade superior ($P < 0,05$) no período da seca, podendo ser consequência da grande quantidade de material suspenso no ambiente, carregado principalmente pelo vento. Fragmentos de insetos e madeira foram encontrados em pequena quantidade. No entanto, pêlo bovino, de rato, ou de cão, além de pêlo humano, foram detectados em todas as amostras, em quantidades consideráveis nos dois períodos de fabricação, assim como fragmentos de tecidos, pelo fato destes fazerem parte do processo produtivo, na etapa de filtração do leite. Apesar da produção secular desses queijos, nenhum produtor da região do Serro encontrava-se certificado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária. Dentre os elementos das boas práticas de fabricação, em média, a qualidade da água, o processo de produção, equipamentos e utensílios e a limpeza e sanitização da queijaria apresentaram maior percentual de adequação, ultrapassando 75%. Já, a garantia da qualidade e a higiene pessoal apresentaram mais da metade das exigências em desacordo. Geralmente, a maturação ambiente, mesmo reduzindo a presença da microbiota contaminante nos queijos, não deve ser vista como única forma de resguardar a segurança do produto, pois riscos da produção de queijos, a partir de leite cru, são consideráveis. Verifica-se necessidade de rigoroso controle de qualidade nas etapas de produção, buscando-se melhorar a qualidade dos queijos artesanais e a segurança do consumidor.

S163c Sales, Gilson de Assis, 1981-
Caracterização microbiológica e físico-química de queijo Minas artesanal da microrregião de Araxá-MG durante a maturação em diferentes épocas do ano / Gilson de Assis Sales. – 2015.
106p. : il.

Orientador: Marcelo Resende de Souza
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Veterinária.
Inclui bibliografia

1. Queijo-de-minas – Microbiologia – Teses. 2. Queijo-de-minas – Análise – Teses.
3. Queijo-de-minas – Qualidade – Teses. I. Souza, Marcelo Resende. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Escola de Veterinária. III. Título.

CDD – 637

RESUMO

O queijo Minas artesanal é amplamente produzido em todo estado de Minas Gerais, envolvendo o trabalho familiar. As características físico-químicas e microbiológicas do queijo são únicas e variam de acordo com cada região de produção, devido às diferenças de clima, solo, vegetação, raça de gado e as formas de elaboração. Esse queijo é elaborado com leite cru, usa fermento endógeno, é muito manipulado e pode apresentar microrganismos indesejáveis. No entanto, a fase de maturação pode contribuir para reduzir ou eliminar esses contaminantes. O objetivo deste estudo foi caracterizar a qualidade do queijo Minas artesanal da região de Araxá, produzido e maturado por até 57 dias em estabelecimentos rurais legalizados pelo IMA - Instituto Mineiro de Agropecuária, durante a época chuvosa e seca, a fim de contribuir para a determinação de seu período de maturação ideal e atender a legislação oficial. Um total de 12 amostras de água, 12 de leite, 12 de cultura endógena (soro-fermento) e 84 de queijos foram coletadas em seis fazendas e submetidas a análises microbiológicas e físico-químicas. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey quando as variáveis foram paramétricas e as medianas pelo teste de Friedman quando as variáveis foram não paramétricas, ambos a 5% de significância. Foram observadas diferenças ($p < 0,05$) entre as contagens de coliformes totais e de bolores e leveduras em queijos ao longo dos tempos de maturação nas duas época de produção. *Staphylococcus* coagulase positivo e bactérias ácido-lácticas (BAL) em ágar M17, apresentaram diferenças ($p < 0,05$) apenas durante a época seca. A maturação foi eficiente para reduzir a contagem de todos os microrganismos estudados. *Salmonella* spp. foi detectada em apenas uma amostra de queijo em 22 dias de maturação durante a época chuvosa, mas não foi possível identificar a origem da contaminação. *Listeria monocytogenes* foi encontrada em dois queijos, em 1 e 7 dias de maturação durante o período seco. Enterotoxinas estafilocócicas não foram detectadas. A maturação influenciou ($p < 0,05$) os teores percentuais de umidade, proteína, gordura, gordura no extrato seco e extrato seco total, bem como pH e acidez titulável, independentemente da época de produção. A condição do queijo Minas artesanal de Araxá foi influenciada pela qualidade da água, da cultura endógena e do leite utilizado para a sua produção. Considerando-se todos os parâmetros para inspeção, o queijo estudado deve ser maturado por pelo menos 14 dias para atender a legislação vigente. Além disso, o uso de matérias-primas, o controle sanitário dos rebanhos e a adoção de boas práticas de produção também são extremamente importantes para a obtenção de um queijo seguro, representando a cultura do Estado e possibilitando mais renda para os produtores, sem ameaçar a saúde pública.

Palavras-chave: queijo artesanal, maturação, legislação, saúde pública, microbiologia, físico-química

SEAP/MMA/MD nº 02, de 04 de setembro de 2006, e CONSIDERANDO o constante dos autos do processo nº 21050.003218/2019-19, resolve:

Art. 1º Suspender, de ofício, a Autorização de Pesca da embarcação SANTO ANTÔNIO DOS ANJOS IV, inscrita no RGP SC-0004008-8 e na Autoridade Marítima sob o nº 443-012302-1, código da frota: 2.04.001, na Modalidade e ou/Petresco: Rede de Emalhe costeiro (fundo), espécie alvo: Corvina (Micropogonias furnieri), Castanha (Umbirina canosai), Pescada (Cynoscion striatus), Abrotea (Urophycis brasiliensis) e Fauna acompanhante, na área de atuação: Mar territorial Sul e Sudeste; e Zona Econômica Exclusiva Sul e Sudeste de propriedade de JARDEL NUNES MENDES, tendo em vista o não cumprimento do disposto no Art. 7º da Instrução Normativa Interministerial SEAP-PR/MMA/MD nº 2, de 04 de setembro de 2006, art. 4º inciso II da Instrução Normativa SEAP/PR nº 18, de 18 de junho de 2008 e, Art. 12º da Instrução Normativa MPA nº 20, de 10 setembro de 2014, por 60 (sessenta) dias corridos, a partir da data de publicação desta Portaria.

Art. 2º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

JORGE SEIF JUNIOR

SECRETARIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA

PORTARIA Nº 186, DE 9 DE DEZEMBRO DE 2020

Submeter à Consulta Pública, pelo prazo de 45 (quarenta e cinco) dias, a contar da data da publicação desta Portaria, a proposta de Instrução Normativa, que estabelece os requisitos para a elaboração de queijo artesanal para atendimento à Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019.

O SECRETÁRIO DE DEFESA AGROPECUÁRIA, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no uso da atribuição que lhe conferem os arts. 21 e 63 do Anexo I do Decreto nº 10.253, de 20 de fevereiro de 2020,

Considerando o disposto na Lei nº 8.171, de 17 de janeiro de 1991, a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, a Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019, o Decreto nº 9.918 de 18 de julho de 2019, o Decreto nº 9.013, de 29 de março de 2017, e

Considerando o constante dos autos do processo nº 21000.013790/2020-15, resolve:

Art. 1º Submeter à consulta pública pelo prazo de 45 (quarenta e cinco) dias, a contar da data da publicação desta Portaria, a proposta de Instrução Normativa, que estabelece os requisitos para a elaboração de queijo artesanal para atendimento à Lei nº 13.860, de 18 de julho de 2019.

Parágrafo único. O Projeto de Instrução Normativa encontra-se disponível na página eletrônica do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/acesso-a-informacao/participacao-social/consultas-publicas>

Art. 2º As sugestões tecnicamente fundamentadas, deverão ser encaminhadas por meio do Sistema de Monitoramento de Atos Normativos - SISMAN, da Secretaria de Defesa Agropecuária - SDA/MAPA, por meio do LINK: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/sisman/>.

Parágrafo único. Para ter acesso ao SISMAN, o usuário deverá efetuar cadastro prévio no Sistema de Solicitação de Acesso - SOLICITA, do MAPA, por meio do LINK: <https://sistemasweb.agricultura.gov.br/solicita/>.

Art. 3º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

JOSE GUILHERME TOLLSTADIUS LEAL

SECRETARIA DE POLÍTICA AGRÍCOLA

RETIFICAÇÃO

Na Portaria nº 36, de 04 de dezembro de 2020, Processo: 55000.000455/2007-00, publicado em 07 de dezembro de 2020, Seção 1, página 6, que estabelece os produtos que tem direito e o valor do bônus de desconto a ser concedido nas operações e parcelas de crédito rural, onde se lê:

"Art. 1º - Informar aos agentes financeiros, operadores do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar - Pronaf, os produtos que tem direito e o valor dos bônus de desconto a ser concedido nas operações e parcelas de crédito rural que serão objeto de pagamento ou amortização pelos mutuários no período de 10 de dezembro de 2020 a 09 de janeiro de , segundo o que determina o parágrafo 1º, do art. 2º, do Decreto nº 5.996, de 20 de dezembro de 2006.

(...)

Art. 2º - Os preços de mercado e os bônus de desconto previstos nesta Portaria referem-se ao mês de novembro de 2020, têm validade para o período de 10 de dezembro de 2020 a 09 de janeiro de , em atendimento ao estabelecido nas Resoluções nº 4.848 de 27 de agosto de 2020, nº 4.767, de 19 de dezembro de 2019 e nº 4.825, de 18 junho de 2020, do CMN."

"leia-se:

"Art. 1º - Informar aos agentes financeiros, operadores do Programa Nacional de Fortalecimento da Agricultura Familiar - Pronaf, os produtos que tem direito e o valor dos bônus de desconto a ser concedido nas operações e parcelas de crédito rural que serão objeto de pagamento ou amortização pelos mutuários no período de 10 de dezembro de 2020 a 09 de janeiro de 2021, segundo o que determina o parágrafo 1º, do art. 2º, do Decreto nº 5.996, de 20 de dezembro de 2006.

Art. 2º Os preços de mercado e os bônus de desconto previstos nesta Portaria referem-se ao mês de novembro de 2020, têm validade para o período de 10 de dezembro de 2020 a 09 de janeiro de 2021, em atendimento ao estabelecido nas Resoluções nº 4.848 de 27 de agosto de 2020, nº 4.767, de 19 de dezembro de 2019 e nº 4.825, de 18 junho de 2020, do CMN."

INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA

INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 102, DE 7 DE DEZEMBRO DE 2020

Dispõe sobre os procedimentos de planejamento, parametrização de preços de referência, contratação, gestão, acompanhamento e fiscalização de contratos, convênios e outros ajustes congêneres, relativos a obras e serviços de engenharia componentes da infraestrutura básica de projetos de assentamento da reforma agrária, implantados pelo INCRA.

O PRESIDENTE DO INSTITUTO NACIONAL DE COLONIZAÇÃO E REFORMA AGRÁRIA - INCRA, no uso das atribuições que lhe são conferidas pelo Art. 19 do Anexo I da Estrutura Regimental deste Instituto, aprovado pelo Decreto nº 10.252, de 20 de fevereiro de 2020, publicada no Diário Oficial da União - DOU de 21 de fevereiro de 2020, combinado com o Art. 110 do Regimento Interno da Autarquia, aprovado pela Portaria nº 531, de 23 de março de 2020,

Considerando a necessidade de definição de uma política de financiamento de investimentos com vistas a viabilizar o trânsito de pessoas, o escoamento da produção e a instalação de abastecimento de água nos projetos de assentamento do Programa Nacional de Reforma Agrária - PNRA;

Considerando a necessidade de atualização da Norma de Execução INCRA/DD nº 117, de 13 de setembro de 2017, em virtude das alterações ocorridas na Portaria Interministerial nº 424/2016, geradas pelas publicações das Portarias Interministeriais nº 101, de 20 de abril de 2017 - nº 277, de 3 de outubro de 2017 - nº 451, de 18 de dezembro de 2017 - nº 114, de 7 de maio de 2018 - nº 235, de 23 de agosto de 2018 - nº 558, de 10 de outubro de 2019 e nº 134, de 30 de março de 2020; e

Considerando os documentos constantes do Processo Sei 54000.046700/2020-21, resolve:

Dispor sobre os procedimentos de planejamento, parametrização de preços de referência, contratação, gestão, acompanhamento e fiscalização de contratos, convênios e outros ajustes congêneres, relativos a obras e serviços de engenharia nos projetos de assentamento da reforma agrária, implantados pelo INCRA.

CAPÍTULO I

DAS DISPOSIÇÕES PRELIMINARES E DAS DEFINIÇÕES

Art. 1º Os procedimentos técnicos e administrativos de implantação, parametrização de preços de referência, contratação, gestão, acompanhamento e fiscalização de contratos, convênios e outros ajustes congêneres, relativos a obras e serviços de engenharia componentes da infraestrutura básica de projetos de assentamento do INCRA são disciplinados por esta Instrução Normativa, fundamentada na legislação vigente que rege a matéria.

Art. 2º As obras de engenharia componentes da infraestrutura básica de projetos de assentamento da reforma agrária compreendem:

I - estradas vicinais de acesso e de comunicação interna entre lotes;
II - sistemas de abastecimento de água que tenham por objetivo suprir, exclusivamente, carência porventura existente para o consumo humano;

III - rede de energia elétrica rural; e

IV - outras obras consideradas indispensáveis para sua estruturação e sustentabilidade, previstas no Plano de Desenvolvimento Sustentável do Assentamento - PDA, no Plano de Recuperação do Assentamento - PRA, ou em documento equivalente, desde que aprovadas previamente pela Diretoria de Desenvolvimento, mediante justificativas fundamentadas pelas Superintendências.

§1º Em relação às estradas vicinais, o atendimento às famílias beneficiárias deve ser considerado até as divisas do lote ou parcela rural. Os caminhos construídos no interior das propriedades, de uso privativo e particular, são de responsabilidade das famílias beneficiárias.

§2º A implantação de estradas vicinais no interior de lotes ou parcelas rurais é permitida quando o traçado projetado contemple a melhor solução técnica para uso coletivo.

Art. 3º Para os fins desta Instrução Normativa, considera-se:

I - acompanhamento: atividade de monitoramento da execução física das metas, etapas e fases do objeto pactuado nos instrumentos, a ser realizada pelo concedente;

II - analista técnico: servidor indicado pela chefia imediata e com perfil adequado na Plataforma +Brasil para proceder análises técnicas e pareceres conclusivos em convênios, de acordo com sua respectiva área de competência;

III - anotação de responsabilidade técnica - ART: registro no Conselho Regional de Engenharia e Agronomia - CREA, prévio à execução de qualquer serviço e/ou obra de engenharia, objeto do contrato. Define, para os efeitos legais, os responsáveis técnicos pela execução desses serviços;

IV - autor do projeto: pessoa física, legalmente habilitada, tecnicamente responsável pela elaboração do projeto de um empreendimento ou parte deste com o devido recolhimento de anotação de responsabilidade técnica - ART junto ao CREA;

V - BDI: Benefícios e Despesas Indiretas, também denominada taxa de Lucro e Despesas Indiretas (LDI), é o elemento orçamentário destinado a cobrir todas as despesas que, num empreendimento (obra ou serviço), segundo critérios claramente definidos, classificam-se como indiretas (por simplicidade, as que não expressam diretamente nem o custo do material, nem o dos elementos operativos sobre o material, mão-de-obra, equipamento-obra, instrumento-obra, etc.), e também, necessariamente, atender o lucro e os tributos permitidos. Incide sobre o custo global de referência para realização da obra ou serviço de engenharia;

VI - beneficiários finais: população diretamente favorecida pelos investimentos;

VII - comissão: grupo de servidores designados por autoridade competente com a finalidade de exercer atividades específicas estabelecidas em ordem de serviço ou portaria;

VIII - concedente: órgão ou entidade da Administração Pública Federal, direta ou indireta, responsável pela transferência dos recursos, verificação da conformidade financeira, acompanhamento da execução e avaliação do cumprimento do objeto do instrumento;

IX - consórcio público: pessoa jurídica formada exclusivamente por entes da Federação, na forma da Lei nº 11.107, de 06 de abril de 2005;

X - contratado: pessoa física ou jurídica que, mediante instrumento hábil de compromisso, obriga-se à execução de obras e/ou serviços de acordo com o projeto e na forma estabelecida pelo contratante, em se tratando de contrato regulado pela Lei nº 8.666/1993, ou órgão ou entidade da administração pública direta e indireta, de qualquer esfera de governo, bem como entidade privada sem fins lucrativos, com a qual a administração federal pactua a execução de contrato de repasse, em instrumentos regulados pelo Decreto nº 6.170/2007;

XI - contratante: é o órgão ou entidade signatária do instrumento contratual, em se tratando de contrato regulado pela Lei nº 8.666/1993, ou o órgão ou entidade da administração pública direta e indireta da União que pactua a execução de programa, projeto, atividade ou evento, por intermédio de instituição financeira federal (mandatária), mediante a celebração de contrato de repasse, em se tratando de instrumentos regulados pelo Decreto nº 6.170/2007;





PARECER Nº 058/21 - NUAJ/SAR

Processo: SCC 12921/2021

PROPOSTA DE SUSTAÇÃO DE ATO Nº. 00001.7/2021, QUE SUSTA DISPOSITIVOS DO DECRETO 362 DE 2019, QUE REGULAMENTA A LEI 17.486, DE 2018, QUE DISPÕE SOBRE A PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO DE QUEIJOS ARTESANAIS DE LEITE CRU E ADOTA OUTRAS PROVIDÊNCIAS. PARECER TÉCNICO EM DEFESA DO ATO. LEGITIMIDADE DO DECRETO ESTADUAL Nº 362/19 NOS TERMOS DAS CONSIDERAÇÕES TÉCNICAS EMITIDAS PELA DIRETORIA DE QUALIDADE E DEFESA AGROPECUÁRIA - DDEA DA SAR.

I - RELATÓRIO

Trata-se de proposta de sustação de ato nº. 00001.7/2021, que susta dispositivos do Decreto Estadual 362/19, que regulamenta a Lei 17.486, de 2018, que dispõe sobre a produção e comercialização de queijos artesanais de leite cru e adota outras providências.

Instada a se manifestar, a Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária - DDEA (fls. 4-23) da Secretaria de Estado da Pesca, da Agricultura e do Desenvolvimento Rural - SAR se posicionou pela defesa dos dispositivos impugnados do Decreto Estadual nº 362/19.



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

Nesse contexto, foi provocada a presente consultoria jurídica com a finalidade de haver a emissão de ato opinativo sobre a legitimidade das disposições normativas impugnadas, considerando os apontamentos formulados pela Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária - DDEA (fls. 4-23).

É o relatório.

II - FUNDAMENTAÇÃO JURÍDICA

Especificamente no que se refere à presente manifestação, compete à consultoria jurídica, à luz das atribuições da Secretaria de Estado da Agricultura, da Pesca e do Desenvolvimento Rural (SAR), trazer subsídios técnicos para que o Chefe do Poder Executivo, no prazo regimental do art. 334 do Regimento Interno da Assembleia Legislativa, defenda junto à Comissão de Constituição e Justiça a validade dos dispositivos normativos impugnados.

Tratando-se de matéria afeta à qualidade e à defesa agropecuária, os autos foram baixados em diligência para manifestação da Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária - DDEA da SAR.

Em retorno, a análise técnica se manifestou pela manutenção do ato impugnado, tratando especificamente de cada ponto que se pretende sustar.

É imperioso ressaltar que a manifestação da DDEA foi acompanhada de estudos que corroboram a posição técnica adotada (fls. 24-77), bem como de anteriores posicionamentos acerca de idêntica temática (fls. 78-131).

Pois bem, acerca da sustação do inciso I, do §1º, do art. 1º, do Decreto Estadual 362/2019, o setor técnico se manifesta no seguinte sentido:

Em suma, pontualmente sobre o Inciso I do art. 1º do Decreto nº 362/2019, a DDEA manifesta que uma **alteração** na redação do Decreto 362/2019 não traria prejuízo sanitário, porém, acreditamos que ao menos deveria ser mantido com a redação idêntica à da Lei nº 17.486/2018, de autoria do relator da PSA, para que não reste um vácuo na redação do Decreto:

I - queijo artesanal: aquele elaborado com leite cru da própria



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

fazenda, com métodos tradicionais, com vinculação ao território de origem, conforme Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) estabelecido para cada tipo e variedade, sendo permitida a aquisição de leite de propriedades rurais próximas desde que atendam todas as normas sanitárias pertinentes;

No que tange à sustação do inciso III, do §1º, do Art. 1º, do Decreto Estadual nº 362/2019, a posição técnica adotada é a seguinte:

No texto da Lei nº 17.486/2018 não é conceituado “método tradicional de produção”.

A redação constante na justificativa da PSA é uma definição que nos foi apresentada por ora, não sendo explicitada no texto da mesma. Desta maneira, seguindo a mesma linha de raciocínio anterior, utilizou-se o conceito que foi elaborado no Decreto nº 362/2019, alinhado à proteção do produto, produtor e território, que tem sido discutida interdisciplinarmente em diversas esferas, com o intuito da proteção do conhecimento acumulado por gerações.

Manifestamos para adequação à normativa federal uma alteração, porém entendemos que sanitariamente a sustação não traz prejuízos, no entanto ocorrerá um vácuo na conceituação. Sugerimos que seja **alterado** na Lei, uma vez que a redação apresentada na PSA é o entendimento do requerente ou que seja feita uma alteração na redação do Decreto por :

III - “...características histórico-culturais e regionais...” por “...características histórico-culturais **ou** regionais...”.

No tocante ao pedido de sustação do artigo 13 do Decreto Estadual nº 362/2019, a área técnica pondera que:

Neste quesito, gostaríamos de manifestar que, no nosso entendimento, a “inovação” inicial mencionada na PSA parece se apresentar na Lei nº 17.486/2018, uma vez que a redação da mesma é menos restritiva que a normatização federal, tanto em relação à precursora Instrução Normativa nº 30/2013, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), quanto em relação ao Decreto Federal nº 9.013, de 29 de março de 2017.

A Lei Federal 13.860/2019, que “Dispõe sobre a elaboração e a comercialização de queijos artesanais e dá outras providências”, por meio do Parágrafo único do art. 2º traz em sua redação que o **tempo de cura do queijo feito a partir do leite cru é definido com base no processo tecnológico de produção de cada variedade, de acordo com suas características**.



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

Esta seria a forma ideal de se tratar a questão do período de maturação dos queijos de leite cru, no entanto ainda não nos encontramos neste patamar, conforme podemos verificar nos estudos brasileiros, destacando especialmente aqueles mais pertinentes ao estado, por terem sido realizados em Santa Catarina, sejam eles **Melo et. al., 2013 (SC); Carvalho et. al., 2019 (SC) Rozentel et.al, 2020 (MG); Silva, et al, 2018 (MG)**. Sendo que os dois primeiros, demonstram de forma extremamente importante, um retrato da qualidade do queijo artesanal de leite cru, embora restritos à região de Lages (Melo et. al., 2013) e à região do Oeste Catarinense (Carvalho et. al., 2019).

Os referidos artigos não devem ser olhados de forma pessimista, mas sim como uma demonstração da realidade e da importância que os trabalhos referentes à extensão e à pesquisa agropecuária devem desempenhar para que consigamos entregar um produto com qualidade sanitária à população tanto catarinense, quanto brasileira, uma vez que atendido os requisitos, de acordo com o disposto no **Art. 59, do Decreto 362/2019**, os queijos em questão, estão aptos a receber o selo Arte e serem comercializados não só no estado de SC, mas em todo o Brasil.

Neste contexto, e já nos referindo ao questionamento sobre os estudos científicos, informamos que em nenhum lugar está discriminado que devem ser publicados em revistas científicas, mas serem feitos com o rigor científico e critérios metodológicos que comprovam a seriedade destes estudos. Como exemplo, podemos demonstrar os estudos feitos para o registro do queijo Kochkäse, que através de dispositivo do Decreto nº 362/2019 (art.10 com seus incisos e parágrafo único), com a constituição de equipe multidisciplinar (Portaria SAR nº 7/2020), regulamentou o produto por meio da Portaria SAR nº 15/2020.

Com ênfase no enfoque explicitado acima, manifestamos que direcionamento de recursos e foco em editais de pesquisa que abarquem estes produtos, seriam de uma importância incomensurável para o Estado. Ressalte-se que a pesquisa não é somente realizada pelas Universidades, mas também com outros órgãos, como, por exemplo, a Epagri. Não menos importante o trabalho da extensão, para capacitações e difusão do conhecimento gerado pela pesquisa, que além da proximidade com os produtores possuem a sensibilidade para entender suas demandas. Essa é uma realidade que necessita também chegar ao conhecimento desta Casa Legislativa. Considerando o exposto, acreditamos que a busca conjunta por recursos que subsidiem tais pesquisas, seja via universidades, órgãos de fomento à pesquisa, ou, se possível, também por meio de emendas parlamentares, podem constituir um grande avanço no que tange ao tema, a exemplo do que ocorreu com o queijo Kochkäse, que por intermédio de uma união de forças entre produtores, EPAGRI, FURB, SAR, CIDASC, AMMVI e outros, culminou com a publicação do primeiro RTIQ embasado na Lei nº 17.485/2018 e Decreto nº 362/2019, baseado na lisura dos procedimentos, na adequação às normas, primando pela regulamentação desde produto de maneira clara e legal.



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

Precisamos imperiosamente de apoio para que chegue à mesa do consumidor, produtos com a qualidade que Santa Catarina e o produtor catarinense merecem, por isso, o trabalho incansável, também da Defesa Sanitária Animal e da Inspeção de Produtos de Origem Animal, mais afeitas à demanda em questão (sem esquecer da parte vegetal), que têm por finalidade assegurar a saúde pública e alavancar os produtos e produtores catarinenses ao patamar que eles merecem, garantindo a excelência pela qual Santa Catarina é reconhecida em vários fatores, em especial, aos referentes ao setor agropecuário.

Acerca do mesmo tema, segue pontuando:

Retomando à solicitação do Deputado Nilso Berlanda, no que se refere aos artigos 13 e 37, que tratam do período de maturação dos queijos artesanais de leite cru, salientamos que para a elaboração do Decreto nº 362/2019, foi realizada uma ampla revisão na legislação, assim como na literatura científica, baseada em dados publicados em revistas renomadas, cujos alguns exemplos citamos na sequência e se encontram na íntegra anexos a esse parecer:

1. **Costard et al., 2017. Outbreak-Related Disease Burden Associated with Consumption of Unpasteurized Cow's Milk and Cheese, United State, 2009 -2014. Emerging Infectious Diseases - www.cdc.gov/eid - Vol. 23, No. 6, June 2017.** (Carga de doença relacionada ao surto associado ao consumo de leite e de queijo de vaca não pasteurizado, Estados Unidos, 2009 – 2014).

“ A crescente popularidade do leite não pasteurizado nos Estados Unidos levanta preocupações de saúde pública. Estimamos doenças e hospitalizações relacionadas a surtos causados pelo consumo de leite e queijo de vaca contaminados por Escherichia coli produtora de toxina Shiga, Salmonella spp., Listeria monocytógenes e Campylobacter spp, usando um modelo baseado em dados de surtos publicamente disponíveis. Nos Estados Unidos, os surtos associados ao consumo de laticínios causam, em média 760 doenças/ano e 22 hospitalizações /ano, principalmente por Salmonella spp e Campylobacter spp. O leite não pasteurizado, consumido por apenas 3,2% da população, e o queijo, consumido por apenas 1,6% da população, causou 96% das doenças causadas por laticínios contaminados que causam 840 (95% CrI 611-1,158) vezes mais doenças e 45 (95% CrI 34-59) vezes mais hospitalizações que produtos pasteurizados. À medida que o consumo de lácteos não pasteurizados aumentam constantemente; uma duplicação no consumo de leite ou queijo não pasteurizado pode aumentar as doenças relacionadas a surtos em 96%”.

2. **Brooks, et al., 2012. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens.** Food Microbiology 31 (2012) 154-158. (Levantamento de queijos de



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

leite cru para qualidade microbiológica e prevalência de patógenos de origem alimentar).

*“O queijo pode ser fabricado nos Estados Unidos usando leite cru, desde que o queijo envelheça por pelo menos 60 dias a temperaturas não inferiores a 35 F (1,7 C). Agora há uma crescente preocupação entre os reguladores quanto à segurança do queijo de leite cru devido à capacidade potencial de patógenos de origem alimentar sobreviverem à processos de fabricação e envelhecimento. Neste estudo, 41 queijos de leite cru foram obtidos no varejo de lojas especializadas, mercados de agricultores e fontes on-line. Os queijos foram então analisados quanto à presença de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* e *Campylobacter*.*

*Também foram realizadas contagens de placas aeróbias (APC), coliformes e leveduras / bolores. Os resultados revelados que nenhum dos patógenos entéricos foi detectado nas das amostras testadas. Cinco amostras continham coliformes; dois deles continham *E. coli* a menos de 102 ufc / g. Três outras amostras de queijo continham *S. aureus*. A contagem de APC e leveduras estava dentro dos limites esperados.*

Com base nos resultados obtidos para esses 41 queijos de leite cru, a regra de 60 dias para o queijo não pasteurizado parece adequada para produção de produtos microbiologicamente seguros”. (grifo nosso)

3. Verraes et al., 2015. A review of the microbiological hazards of dairy products made from raw milk. International Dairy Journal 50 (2015) 32-44. (Uma revisão dos riscos microbiológicos de produtos lácteos feitos a partir de leite cru).

*“Esta revisão concentra-se nas informações sobre os perigos microbiológicos possivelmente presentes em leite e laticínios, em especial queijo, manteiga, natas e leiteiro. Os principais perigos microbiológicos de queijos de leite cru (especialmente queijos macios e frescos) estão ligados a *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* produtora de verocitotoxina (VTEC), *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* e *Campylobacter*. *L. monocytogenes*, VTEC e *S. aureus* foram identificados como riscos microbiológicos na manteiga de leite cru e creme, embora em menor grau devido ao reduzido potencial de crescimento em comparação com o queijo. Dentro de áreas endêmicas, laticínios de leite cru também podem estar contaminados com *Brucella spp.*, *Mycobacterium bovis* e o vírus da encefalite transmitida por carrapatos (TBEV). Riscos potenciais devido a *Coxiella burnetii* e *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* (MAP) são discutidos. A pasteurização garante a inativação de microrganismos patogênicos vegetativos, o que aumenta a segurança dos produtos feitos a partir deles em comparação com laticínios feitos de leite cru. Várias medidas de controle da fazenda à mesa são discutidas.*

Conclusão: No geral, as informações disponíveis sobre alguns patógenos em produtos lácteos feitos de leite cru são limitadas, mas se for levado em consideração os riscos microbiológicos de produtos lácteos feitos de leite cru, a principal preocupação são os queijos de



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

leite cru e *L. monocytogenes*, VTEC patogênico, produtor de enterotoxinas,

S. aureus, *Salmonella* e *C. jejuni* / *coli*. Em seguida, *L. monocytogenes*, VTEC e *S. aureus* foram identificados como riscos microbiológicos na manteiga e nata de leite cru, embora em menor grau devido a uma redução do potencial de crescimento desses patógenos nos últimos produtos em comparação com o queijo. Em áreas endêmicas, produtos lácteos feitos de leite cru também podem estar contaminados com *Brucella* spp.,

M. bovis ou o vírus da encefalite transmitida por carrapatos e precisam de atenção especial em monitoramento e vigilância. Finalmente, *C. burnetii* e MAP são identificados como perigos potenciais. Devido à possível exposição do consumidor aos micro-organismos patogênicos citados em produtos lácteos feitos do leite cru, a comunicação de risco adequada sobre o consumo desses produtos, em particular para uma população vulnerável, é recomendado”.

4. Silva, et al, 2018. Ocorrência de *Brucella* em queijo Minas artesanal da microrregião do Serro: um importante problema de saúde pública. Rev Med Minas Gerais 2018;28 (Supl 5): e-S280509

“O modo de fabricar o queijo Minas artesanal (QMA) na microrregião do Serro foi considerado patrimônio histórico imaterial da humanidade desde 2008. Mesmo produzido a partir de leite cru a sua comercialização foi autorizada. **Objetivos:** Estimar a prevalência de *Brucella* spp. no QMA da microrregião do Serro. **Métodos:** Foram avaliadas as evidências do patógeno (presença de DNA) em queijos de produtores cadastrados pelo Instituto Mineiro de Agricultura e Pecuária (IMA), com tempos de maturação de 4 e 8 dias à temperatura ambiente.

Resultados: Embora todas as amostras de queijo fossem de bovinos declarados negativos para brucelose por testes sorológicos anuais realizados por veterinários autônomos, os resultados da reação em cadeia da polimerase (PCR) mostraram 17 (30,9%, IC95% 18,7% a 43,1%) de amostras de QMA positivas para *Brucella* spp. entre os 55 analisados. O sequenciamento de DNA demonstrou uma similaridade de 100% com as cepas de campo de *Brucella* ssp.

Conclusões: Essa positividade no QMA pode ser considerada um risco potencial à saúde pública e sugere uma suposta deficiência do programa local de controle da brucelose no monitoramento dessa população específica de rebanhos leiteiros e que medidas mais fortes de controle e prevenção da brucelose devem ser adotadas em agroindústrias produtoras de leite cru a fim de garantir a segurança do alimento”.

5. Melo et. al., 2013. Avaliação da inocuidade e qualidade microbiológica do queijo artesanal serrano e sua relação com as variáveis físico químicas e o período de maturação. Acta Scientiae Veterinariae, 2013. 41: 1152

O estudo foi realizado a partir da análise de 108 (cento e oito) amostras de queijo artesanal serrano, em cidades que compõem a região serrana e com período de coletas aos 15, 30, 45 e 60 dias de



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

maturação, com 27 (vinte e sete) queijos coletados para cada período de maturação, conclui o que segue:

“A presença de coliformes totais, Escherichia coli e Staphylococcus aureus acima dos valores fixados como máximos pela legislação vigente, demonstra inadequadas condições de higiene durante o processo de fabricação e/ou armazenamento dos queijos.

O isolamento de Listeria monocytogenes torna o produto impróprio para o consumo humano, constituindo um problema de saúde pública. A grande variação encontrada na composição dos queijos analisados demonstra a falta de padronização na produção do queijo artesanal nas unidades produtoras, bem como impediu a adequação de um período mínimo de maturação”.

6. Carvalho et. al., 2019. Traditional Colonial-type cheese from the south of Brazil: A case to support the new Brazilian laws for artisanal cheese production from raw milk. J. Dairy Sci. 102 <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16373> Received January 25, 2019. Accepted June 10, 2019.

Extraí-se do estudo apresentado que o objetivo do mesmo foi investigar a qualidade microbiológica da água, do leite cru e do queijo colonial produzido e vendido informalmente por agricultores familiares em um município localizado no Oeste de Santa Catarina, especificamente o município de Seara, com o intuito de identificar questões resultantes da produção informal do queijo e recomendar potenciais soluções para servirem de apoio às agências reguladoras brasileiras, contribuindo para a formalização da produção dos queijos artesanais brasileiros.

Segundo os materiais e métodos apresentados, cerca de 600 famílias produzem leite no município estudado e destas, 71 famílias produzem e vende queijo artesanal colonial, sendo que apenas uma produz queijo com leite pasteurizado, a qual não foi incluída na amostragem. É informado que as amostras foram escolhidas aleatoriamente entre as 70 famílias que produzem o queijo artesanal colonial de maneira tradicional utilizando leite cru, resultando em 12 propriedades rurais no estudo. No decorrer deste item informam as metodologias utilizadas para cada análise.

Levando-se em consideração que para a validação da qualidade e aptidão para o consumo, alguns requisitos como qualidade microbiológica da água, do leite e do queijo são primordiais à manutenção da saúde pública.

O referido estudo demonstrou que das amostras de água, 91,7% não estavam em conformidade com as normas em vigor para coliformes totais, 58,3% não estavam em conformidade para as normas de *E. coli* e que apenas uma amostra (8,3%), cuja água era proveniente de poço artesiano, apresentava-se dentro das normas, inferindo que a qualidade da água contribui para a contaminação bacteriana no queijo artesanal colonial. Na sequência discorrem sobre os possíveis problemas que levam à contaminação da água, citando vários autores e informando que as insuficiências encontradas podem representar um fator de risco para a saúde dos produtores, uma vez que a água era utilizada tanto para a fabricação do queijo artesanal colonial, quanto para o consumo da família.



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

Demonstrou o estudo que de 25 a 41,7% das amostras de leite cru não estavam dentro das normas de contagem bacteriana total e de contagem de células somáticas para determinar a qualidade do leite utilizado na fabricação do queijo artesanal colonial, e que constam na tabela 2 da referida publicação. Ato continuo discorrem sobre as fontes de contaminação mais comuns, também referenciando vários autores e apontando possíveis causas e soluções.

Na tabela 3 do estudo são apresentados os resultados nas 12 propriedades quanto à qualidade microbiológica e físico-química do queijo colonial artesanal, onde verifica-se diferentes períodos de maturação, umidade e gordura, bem como vários parâmetros inconformes nos critérios microbianos avaliados, chegando a conclusão no estudo que a produção do queijo artesanal colonial avaliado não é capaz de atender aos parâmetros microbiológicos legais existentes. Embora, segundo opinião dos autores, o elencado não possa comprovar que os queijos estudados são impróprios ao consumo humano. Na sequência apresentam possíveis ações que podem contribuir para a evolução e melhoramento da produção do queijo artesanal colonial.

Mesmos após a publicação do Decreto, nosso corpo técnico segue se atualizando e atento aos novos estudos que estão surgindo como, por exemplo, a publicação de 2020 que segue:

7.Rozental et.al, 2020. First molecular detection of Coxiella burnetii in Brazilian artisanal cheese: a neglected food safety hazard in ready-to-eat raw-milk product.braz j infect dis 2020;24(3):208–212

“As publicações globais sobre a febre Q aumentaram após a epidemia de 2007 na Holanda. No entanto, a epidemiologia da febre Q / coxielose no Brasil ainda é pouco conhecida. Nesse sentido, existem poucos estudos investigando a presença de Coxiella burnetii em laticínios ao redor do mundo, especialmente no Brasil, onde o consumo de queijo fresco feito de leite cru é muito alto. Objetivo: Este estudo foi um levantamento aleatório para avaliar a prevalência de C. burnetii por PCR em queijo Minas artesanal tradicional da microrregião do Serro, Brasil, que é fabricado a partir de leite cru bovino. Métodos: DNA extraído de 53 amostras de queijo foi analisado por PCR com primers específicos de C.burnetii e os produtos confirmados por sequenciamento de DNA.

Resultados: Das 53 amostras de queijo, cinco (9,43%) foram C. burnetii DNA-positivo, cada um vindo de uma das respectivas agroindústrias de manufatura selecionadas aleatoriamente. Com base em nossos resultados, estima-se que 1,62 toneladas / dia de produtos prontos feitos com leite cru de um total de 16,2 toneladas produzidas diariamente na região de estudo estão contaminados com C. burnetii”.

O corpo técnico desta Diretoria se baseou em evidências, as quais não podemos deixar de explanar, para que, entre outras coisas atinentes à nossa competência, venham a ferir o princípio da precaução, diante dos estudos apresentados.

Além do embasamento científico citado frente ao tema, há



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

embasamento legal. As normativas brasileiras também se referem ao período de maturação mínimo de 60 dias, na ausência de estudos técnicos conclusivos, conforme disposto no Decreto Federal nº 9013/2017, alterado pelo Decreto Federal nº 10.468/2020, que Regulamenta a Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e a Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989, que dispõem sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal.

Art. 373. Para os fins deste Decreto, queijo é o produto lácteo fresco ou maturado que se obtém por meio da separação parcial do soro em relação ao leite ou ao leite reconstituído -integral, parcial ou totalmente desnatado -ou de soros lácteos, coagulados pela ação do coalho, de enzimas específicas, produzidas por microrganismos específicos, de ácidos orgânicos, isolados ou combinados, todos de qualidade apta para uso alimentar, com ou sem adição de substâncias alimentícias, de especiarias, de condimentos ou de aditivos.

(...)

§ 6º Fica excluído da obrigação de pasteurização ou de outro tratamento térmico o leite que se destine à elaboração dos queijos submetidos a um processo de maturação a uma temperatura superior a 5°C (cinco graus Celsius), durante um período não inferior a sessenta dias.

§ 7º O período mínimo de maturação de queijos de que trata o § 6º poderá ser alterado, após a realização de estudos científicos conclusivos sobre a inocuidade do produto ou em casos previstos em RTIQ. (grifo nosso)

(...)

Ao final de toda a justificativa técnica sobre o dispositivo normativo em questão (fls. 8-20), o órgão técnico conclui nos seguintes termos:

Portanto, é imprescindível a permanência do art. 13 e §§1º e 6º do art. 37 no Decreto em apreço, pois as características organolépticas (físico-químicas, que inclui o período de maturação) e microbiológicas de cada variedade de queijos precisam ser comprovadas perante análises laboratoriais, evidenciando que o produto é inócuo e seguro ao consumidor, para que então seja elaborado o seu RTIQ. As análises físico-químicas e microbiológicas estão atreladas ao modelo de RTIQ para produtos de origem animal determinado pelo MAPA, respeitando a peculiaridade de cada produto. Os laboratórios mencionados são aqueles que utilizam metodologias analíticas reconhecidas e aprovadas pela CIDASC e pelo MAPA e todo o processo de elaboração do RTIQ deve ser acompanhado por, pelo menos, um técnico do Serviço Veterinário Oficial. Sendo assim, entendemos que os dispositivos em epígrafe são relevantes no Decreto, pois visam salvaguardar a saúde pública, melhorar a qualidade do produto e, conseqüentemente, após atestada a



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

segurança alimentar do produto e atendidos os requisitos sanitários, o produtor poderá conquistar o mercado nacional ou até mesmo o internacional.

Ato contínuo, no que se refere à sustação do art. 14 do Decreto estadual nº 362/2019, a DDEA apresenta a seguinte orientação:

Quanto ao PSA acerca do art. 14 deste Decreto, cabe demonstrar que a Portaria nº 186/2020 do MAPA se refere à consulta pública sobre critérios referentes à abertura de prazo, pelo prazo de 45 dias, que estabelece os requisitos para a elaboração de queijo artesanal para atendimento à Lei Federal nº 13.860, de 18 de julho de 2019.

A PSA, neste quesito, remete que o art. 14 do Decreto, que também estaria em desacordo com o estabelecido pela ANVISA por meio da RDC nº 331/2019, a quem competiria tal tarefa.

Salvo algum descompasso na pesquisa realizada em relatório final da consulta pública do MAPA (Portaria nº 186/2020, citada no mesmo parágrafo da PSA), verificamos que as informações ali constantes não conferem com o verificado no Relatório de Parecer Consolidado do MAPA, pois este órgão federal tem a competência legal para estabelecer os critérios microbiológicos, ora questionados no PSA, para produtos de origem animal até o momento da sua distribuição, quando então inicia a competência do Ministério da Saúde, através das normas da ANVISA, que dentre outros procedimentos legais, fiscaliza os produtos de origem animal (e vegetal) presentes no comércio varejista. Por conta disso, há uma sincronia técnica e legal entre as normas acerca de produtos de origem animal aplicadas pelos dois Ministérios, com o mesmo propósito já mencionado e que não cedemos: salvaguardar a saúde do consumidor.

Salientamos, mais uma vez, que os queijos elaborados com leite cru podem causar intoxicações alimentares ocasionadas por bactérias patogênicas, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Campylocacter jejuni*, bem como brucelose e tuberculose, ocasionando severos riscos principalmente para grávidas, crianças, idosos e imunodeprimidos.

Por fim, no que diz respeito à sustação do inciso X do art. 51, do Decreto Estadual nº 362/2019, as considerações técnicas foram consignadas nos termos a seguir expostos:

O art. 51 trata do registro da queijaria no Serviço de Inspeção Estadual. Dentre os documentos que compõem o processo de obtenção de SIE (Serviço de Inspeção Estadual), aplicado a todo e qualquer estabelecimento de produtos de origem animal em processo



ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ

de registro, está o memorial econômico-sanitário, citado no inciso X do artigo 51 do Decreto 362/2019. Atualmente o documento é chamado de Memorial Tecnológico e Sanitário do Estabelecimento – MTSE. Neste Memorial são incluídas as informações gerais do estabelecimento, como dados do terreno e do projeto, informações da água de abastecimento e das instalações industriais (queijaria), descrição das máquinas e equipamentos, apresentação das matérias-primas e produtos e informações complementares. Este procedimento é legalmente previsto no Decreto Federal nº 9.013/2017, em seu art. 28.: “Para obtenção do registro ou do relacionamento do estabelecimento serão observadas as seguintes etapas: I- depósito, pelo estabelecimento, da documentação exigida, nos termos do disposto nas normas complementares; II - avaliação e aprovação, pela fiscalização, da documentação depositada pelo estabelecimento”. Pode-se consultar a utilização do MTSE em âmbito federal nas orientações para registro de estabelecimentos na página do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-anim al/empresario/registro-de-estabelecimentos>).

Portanto, o documento que traz as informações referentes aos dados econômicos-sanitários da queijaria é amplamente utilizado e exigido no processo de regularização de qualquer estabelecimento de produtos de origem animal, comprovando tão somente que o estabelecimento apresenta as condições mínimas exigidas para produzir o que pretende.

Ao sustar o inciso X do artigo 51 do referido Decreto, a informação apenas ficará oculta nesta legislação. No momento em que o responsável legal pela queijaria procurar o serviço oficial de inspeção para sua regularização, será solicitado o preenchimento dos documentos constantes do processo de obtenção de registro, estando entre eles o memorial econômico-sanitário (atual Memorial Tecnológico e Sanitário do Estabelecimento).

Concluimos o parecer desta Diretoria, referenciando o elencado em cada dispositivo contestado pela PSA, com base nas prerrogativas técnicas, normativas e estudos demonstrados neste Parecer.

Nesse contexto, por se tratar de matéria que demanda conhecimentos específicos, revela-se oportuna a manifestação no sentido da defesa dos dispositivos normativos impugnados conforme as considerações técnicas emitidas pela Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária - DDEA da SAR, a qual, por meio de justificativas notadamente fundadas, forneceu os devidos subsídios para o Governador do Estado defender o ato questionado junto à Comissão de Constituição e Justiça - CCJ.



**ESTADO DE SANTA CATARINA
PROCURADORIA-GERAL DO ESTADO
CONSULTORIA JURÍDICA - NUAJ**

III - CONCLUSÃO

Em face do exposto, em virtude de o tema envolver questões que exigem conhecimentos específicos, conclui-se que os dispositivos impugnados devem ser defendidos conforme as considerações técnicas expostas pela Diretoria de Qualidade e Defesa Agropecuária - DDEA da SAR, a qual se revela o setor competente e responsável pela temática que trata o objeto do ato de sustação.

É o parecer.

Florianópolis, data da assinatura digital.

NATHAN MATIAS LOPES SOARES
Procurador do Estado



Código para verificação: **6KCJ9B89**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



NATHAN MATIAS LOPES SOARES (CPF: 015.XXX.533-XX) em 15/07/2021 às 20:06:49

Emitido por: "SGP-e", emitido em 24/07/2020 - 13:38:51 e válido até 24/07/2120 - 13:38:51.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyOTIxXzEyOTMxXzlwMjFfNktDSjlCODk=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012921/2021** e o código **6KCJ9B89** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.



ESTADO DE SANTA CATARINA

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA, DA PESCA E DO
DESENVOLVIMENTO RURAL
GABINETE DO SECRETÁRIO

Ofício nº 870/2021

Florianópolis, 16 de julho de 2021.

Senhor Gerente,

Em atendimento ao Ofício nº 1124/CC-DIAL-GEMAT (SCC 12921/2021),
aparelhados na manifestação técnica elaborada pela Diretoria de Qualidade e Defesa
Agropecuária (DDEA), corroborada pelo Parecer PGE/NUAJ/SAR 058/21, vimos apresentar
manifestação acerca da proposta de sustação de ato nº. 001.7/2021.

Atenciosamente,

[Assinatura Digital]

Altair da Silva
Secretário de Estado

Ao Senhor
RAFAEL REBELO DA SILVA
Gerente de Mensagens e Atos Legislativos
Casa Civil
Florianópolis, SC

Rodovia Admar Gonzaga, 1486 – Itacorubi – 88034-001 – Florianópolis, SC Fone (048) 3664-4400

www.agricultura.sc.gov.br gabinete@agricultura.sc.gov.br





Código para verificação: **DKZ80873**

Este documento foi assinado digitalmente pelos seguintes signatários nas datas indicadas:



ALTAIR DA SILVA em 16/07/2021 às 19:06:41

Emitido por: "SGP-e", emitido em 19/01/2021 - 16:49:51 e válido até 19/01/2121 - 16:49:51.

(Assinatura do sistema)

Para verificar a autenticidade desta cópia, acesse o link <https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo/conferencia-documento/U0NDXzEwMDY4XzAwMDEyOTIxXzEyOTMxXzlwMjFfREtaOE84NzM=> ou o site

<https://portal.sgpe.sea.sc.gov.br/portal-externo> e informe o processo **SCC 00012921/2021** e o código **DKZ80873** ou aponte a câmera para o QR Code presente nesta página para realizar a conferência.