



Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril

Mestrado em Segurança e Qualidade Alimentar em Restauração

Dissertação

**Validação de pontos críticos de controlo para sobremesas à
base de ovo não processadas termicamente**

Estudo de caso: inoculações experimentais com *Salmonella*
Enteritidis e *Staphylococcus aureus* em mousse de chocolate e doce
de vinagre

Juliana Mendes Laborda Pinheiro

Estoril, outubro



Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril
Mestrado em Segurança e Qualidade Alimentar em Restauração

Dissertação

**Validação de pontos críticos de controlo para sobremesas à
base de ovo não processadas termicamente**

Estudo de caso: inoculações experimentais com *Salmonella*
Enteritidis e *Staphylococcus aureus* em mousse de chocolate e doce
de vinagre

Dissertação orientada pelo Doutor Carlos Fernando Santiago Brandão e coorientada
pelo Doutor Eduardo César Tondo e pela Doutora Maria Manuela M. Guerra
apresentada à

Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril para obtenção do Grau de Mestre,
tendo como Júri de provas:

Juliana Mendes Laborda Pinheiro

Estoril, outubro

Agradecimentos

A presente dissertação de mestrado não poderia chegar a bom porto sem o precioso apoio de várias pessoas pelo que gostaria de aqui expressar o meu mais sincero agradecimento a todos.

À Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril (ESHTE), por disponibilizar o Laboratório de Microbiologia, onde foram realizados os ensaios laboratoriais.

Ao Professor Doutor Carlos Brandão, por aceitar ser o meu orientador na realização desta dissertação, por toda a paciência, empenho e sentido prático com que sempre me orientou neste trabalho, pelas ideias e esclarecimentos prestados, e pelo apoio e disponibilidade em todas as fases do trabalho.

A Professora Doutora Manuela Guerra, por aceitar ser co-orientadora, pelo seu apoio e pela revisão final do trabalho.

Ao professor e Doutor Eduardo Cesar Tondo, por aceitar ser co-orientador, pelo apoio principalmente na fase final de conclusão do trabalho, estando sempre disponível e contribuindo de forma científica. Foi um privilégio em poder contar com a sua ajuda.

À Técnica Superior de Laboratório da ESHTE, Mestre Cátia Morgado e ao professor e Chef Nelson pela disponibilidade e ajuda na realização dos ensaios laboratoriais.

Desejo igualmente agradecer a todos os colegas do Mestrado.

Por último, quero agradecer à minha família, especialmente aos meus pais que mesmo distantes sempre estiveram apoiando e motivando para que a conclusão do mestrado fosse concluída com sucesso.

Índice Geral

RESUMO.....	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIATURAS.....	8
1. INTRODUÇÃO.....	9
1.1 Enquadramento.....	10
1.2 Questões de Partida e Objetivos da Investigação.....	12
1.3 Ovo e sua importância epidemiológica	13
1.4 Epidemiologia.....	14
1.4.1Contaminação por Salmonella	14
1.4.2Contaminação em produtos de panificação e pastelaria	15
1.5 Tratamento térmico para Controlo do Perigo biológico.....	18
2. MATERIAIS E MÉTODOS	20
2.1 Preparação dos inóculos.....	21
2.2 Contagem de Inóculos.....	22
2.3 Inoculação experimental	22
2.4 Preparação das amostras	23
2.4.1Mousse de chocolate.....	23
2.4.2Doce de Vinagre	24
2.5 Processo laboratorial.....	25
2.5.1Coleta das amostras	25
2.5.2 Contagem do Inóculo	26
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4. CONCLUSÃO	38
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS	41
ANEXO 1.....	49
ANEXO 2.....	50

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Surtos de origem alimentar em todo o mundo envolvendo produtos de panificação e ovos crus.....	15
Tabela 2 – Contagens de bactéria sobrevivente por grama da preparação para tempo e temperaturas de controlo.....	29
Tabela 3 - Estabelecimento dos Procedimentos de Monitorização e das correções para PCC no processamento das sobremesas Mousse de chocolate e Doce de vinagre.....	35
Tabela 4 - Estabelecimento das Medidas de Controlo e Limites Críticos para PCC no processamento das sobremesas Mousse de chocolate e Doce de vinagre.....	36

Índice de Figuras

Figura 1. Preparação da receita: Ovos, calda de açúcar em banho – maria	23
Figura 2. Fluxograma de preparação com inóculo e coleta de amostra da sobremesa mousse de chocolate.....	24
Figura 3. Fluxograma de preparação com inóculo e coleta de amostra da sobremesa doce de vinagre.....	25
Figura 4. Média de sobrevivência de SA nas amostras de mousse de chocolate e para doce de vinagre sob controle tratamento térmico a 60°C.....	31
Figura 5. Representação dos dados para as amostras de mousse de chocolate e para doce de vinagre e efeito das temperaturas 60° C e 65° C para controle da SA.....	32
Figura 6. Seção do Fluxograma da produção da mousse de chocolate: etapa tratamento térmico.....	34
Figura 7. Seção do Fluxograma da produção do doce de vinagre: etapa tratamento térmico.....	34

Resumo

Nos últimos anos, houve uma mudança nos hábitos alimentares dos consumidores com o aumento da demanda por alimentos crus e não processados, essa crescente popularidade de alimentos caseiros não processados contendo ovos crus, como maionese, certos molhos e sobremesas à base de ovos crus aumenta potencialmente o risco de salmonelose.

Algumas sobremesas comercialmente confeccionadas em Portugal, utilizam ovos crus ou insuficientemente cozinhados na confeção final, podendo ocorrer uma possível presença de *Salmonella* no alimento. É sabido que o tratamento térmico é eficaz para muitos microrganismos, a Organização Mundial da Saúde (OMS) aconselha que especialmente carne, ovos e peixe, devam receber tratamento térmico mínimo de 70°C. Neste sentido é importante desenvolver métodos que permitam a eliminação ou redução do risco para níveis aceitáveis neste tipo de produtos.

Assim sendo, o presente trabalho de investigação, teve como objetivo, contribuir para a elaboração de uma metodologia baseada no sistema de Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP), aplicável ao processo produtivo das sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre, através da identificação de possíveis Pontos Críticos de Controlo (PCC).

Desta forma, foram realizados ensaios de inoculações experimentais com *Salmonella* Enteritidis e *Staphylococcus aureus*, onde foi avaliado o efeito do tratamento térmico em duas temperaturas diferentes (60° C e 65° C) por 5 minutos. Os resultados demonstraram que a destruição bacteriana foi eficaz.

No que se refere aos ensaios com inoculação de *Salmonella* Enteritidis, para todos os ensaios realizados, tanto para a sobremesa mousse de chocolate e para o doce de vinagre, resultaram em ausência (<10) para todas as amostras (n=20). Em relação ao inóculo *Staphylococcus aureus*, que foi a bactéria que apresentou uma maior resistência ao tratamento térmico aplicado, apresentando um melhor efeito destrutivo quando submetido a temperatura de 65°C, com redução em 80% das amostras analisadas (n=20), todos com resultados satisfatórios para consumo seguro das sobremesas, onde apenas 2 amostra, no caso do produto mousse de chocolate, apresentou os valores de $2,0 \times 10^2$ ufc/g e $3,0 \times 10^2$ ufc/g para presença de *Staphylococcus aureus*.

Através do estudo foi identificado 1 PCC para cada preparação, designadamente na etapa agitação de ovos, acrescentado como medida de controlo tempo/temperatura para redução/eliminação dos microrganismos.

Palavras-chave: Sobremesas, mousse de chocolate, doce de vinagre, tratamento térmico brando, HACCP, PCC's, ovo cru, ovo mal cozido, perigos biológicos.

Abstract

In recent years there has been a shift in consumer eating habits with the increasing demand for raw and unprocessed foods, this growing popularity of unprocessed homemade foods containing raw eggs such as mayonnaise, certain sauces, and raw egg-based desserts potentially increased the risk of salmonellosis.

Some desserts commercially made in Portugal use raw or insufficiently cooked eggs in the final preparation, and there may be a possible presence of *Salmonella* in the food. It is known that heat treatment is effective for many microorganisms and the recommendation, by the World Health Organization (WHO), advises that especially meat, eggs, and fish, should receive a minimum heat treatment of 70°C. In this sense, it is important to develop methods that allow the elimination or reduction of risk to acceptable levels for those types of products, and that makes them safe for the final consumer. Therefore, this research work aimed to contribute to the development of a methodology based on the Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP) system, applicable to the production process of chocolate mousse and vinegar jam desserts, through the identification of possible Critical Control Points (CCP's).

Thus, experimental inoculation tests were carried out with *Salmonella* Enteritidis and *Staphylococcus aureus*, where the effect of heat treatment at two different temperatures (60° C and 65° C) for 5 minutes was evaluated. The results demonstrated that bacterial destruction was effective.

Regarding the tests with inoculation of *Salmonella* Enteritidis, for all the tests carried out, both for the chocolate mousse dessert and the vinegar jam, resulted in an absence (<10) for all samples (n=20). Regarding the *Staphylococcus aureus* inoculum, which was the bacterium that showed the greatest resistance to the applied heat treatment, it presented a better destructive effect when subjected to a temperature of 65° C, with a reduction of 80% of the analyzed samples (n=20), all with results satisfactory for safe consumption of desserts, where only 1 sample, in the case of the chocolate mousse product, presented 1 result among the 5 analyzed, with a value of 2.8×10^2 cfu/g for the presence of *Staphylococcus aureus*.

Through the study, 1 CCP's s were identified for each preparation, namely in the stage of beating eggs, added as time/temperature controls to reduce/eliminate microorganisms.

Keywords: Desserts, chocolate mousse, vinegar jam, mild heat treatment, HACCP, CCP's, raw egg, undercooked egg, biological hazards

Lista de Abreviaturas

APT	Água Peptonada Tamponada
ASAE	Autoridade de Segurança Alimentar e Económica
BPF	Boas Práticas de Fabrico
BPH	Boas Práticas de Higiene
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CAC	Codex Alimentarius Comission
CSPI	Center for Science in the Public Interest
DOA	Doença de Origem Alimentar
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EFSA	European Food Safety Authority
EM	Estados Membros
UE	União Europeia
ESHTE	Escola Superior de Hotelaria e Turismo do Estoril
EUA	Estados Unidos da América
FAO	Food and Agriculture Organization
FDA	Food and Drug Administration
FSAI	Food Safety Authority of Ireland
HACCP	Hazard Analysis and Critical Control Points
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
LMA	Limites Máximo Admitido
LMR	Limite Máximo Residual
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCC	Ponto Crítico de Controlo
RPF	Rabbit Plasma Fibrinogen
SA	Staphylococcus aureus
SE	Salmonella Enteritidis
SPSS	Statistic Package for the Social Sciences
TSA	Triptona-Soja
TIA	Toxinfeção Alimentar
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
WHO	<i>World Health Organization</i>
XLD	Xilose Lisina Desoxicolato

1. Introdução

1.1 Enquadramento

Para Portugal o turismo tornou-se uma das atividades económicas mais valiosa, sendo considerado das indústrias económicas mais ativas do mundo (Marinho, 2018). Segundo Barroco e Barroco (2008) não se pensa em turismo, sem se abordar a gastronomia. É evidente que atualmente a gastronomia têm-se tornado mais complexa e diversificada, por uma demanda de mercado/público que vêm cada vez se tornando mais dinâmico.

Nos últimos anos, houve uma mudança nos hábitos alimentares dos consumidores com o aumento da demanda por alimentos crus e não processados (Kretser, 2014). A crescente popularidade de alimentos caseiros não processados contendo ovos crus, como maionese, certos molhos e sobremesas à base de ovos crus, como sorvete, tiramisu e até milk-shakes, aumenta potencialmente o risco de salmonelose (Kretser, 2014; Moffatt, 2012).

As Doenças de Origem Alimentares (DOA) constituem um dos problemas de saúde pública mais comuns e são, por sua vez, uma importante causa na redução da produtividade económica (Baptista & Linhares, 2005). Como forma de combater este problema de saúde pública, tem havido um aumento da legislação na área da qualidade e segurança alimentar em toda a cadeia alimentar, mais particularmente na restauração coletiva e na indústria agroalimentar, devido às exigências e preocupações atuais por parte dos consumidores e organismos oficiais (Oliveira, 2007), de tal forma que é um direito das pessoas terem a expectativa de que os alimentos que consomem sejam seguros e adequados, estando isento de qualquer perigo (Codex Alimentarius, 2020).

De acordo com o relatório da European Food Safety Authority (EFSA), e o European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), os resultados das atividades de monitorização de zoonoses realizadas em 2019 em 36 países europeus, demonstraram que o primeiro e o segundo agente com mais casos reportados de toxinfecções alimentares (TIAS), foram respetivamente *Campylobacter* e *Salmonella*, sendo *Salmonella* spp., o agente que causou o maior número de hospitalizações (49,6% de todas as hospitalizações associadas a surtos). Os veículos alimentares mais implicados em surtos de origem alimentar por *Salmonella* spp., foram os alimentos mistos “mixed food”, e os ovos e ovoprodutos. A nível da União Europeia (UE), o consumo de alimentos de origem animal (peixe e produtos da pesca, ovos e ovoprodutos, carne e produtos cárneos, leite e produtos lácteos) foi associado à maioria dos surtos de origem alimentar, causados por *Salmonella* (38,8%).

Em 2015 Academy of Nutrition and Dietetics emitiu um informativo com formas seguras para o consumo de ovos, entre os itens: “evitar pratos de restaurantes feitos com ovos crus ou levemente cozidos, não pasteurizados, como molho de salada César, molho holandês, mousses e tiramisu”. De acordo com a Academy of Nutrition and Dietetics e U.S. Food and Drug Administration, a cada ano cerca de 142.000 doenças são causadas pelo consumo de ovos contaminados com *Salmonella* (Academy of Nutrition and Dietetics, 2015).

A EFSA estimou que o peso econômico geral da salmonelose humana pode chegar a 3 bilhões de euros por ano. De acordo com Marta Hugas, cientista-chefe da EFSA “Após anos de progresso significativo na redução da carga de doenças transmitidas por alimentos na UE, especialmente *Salmonella*, a situação agora estagnou. São necessários maiores esforços para reduzir ainda mais os números ” (EFSA, 2019).

Um estudo da Food Safety Authority of Ireland (FSAI, 2018) realizou o levantamento da segurança microbiológica de bolos, doces e sobremesas prontos para consumo consideradas de alto risco, entre elas, as sobremesas que requerem o uso de ovos crus (por exemplo, glacês, mousse de chocolate, tiramisu) ou ovos levemente cozidos (por exemplo, merengues moles) tais sobremesas foram analisadas, como resultados deste estudo, nenhum problema foi identificado com as amostras contendo ovos crus ou levemente cozidos, entretando, o estudo recomenda que deve ter ciência de que às vezes ovos de galinha podem conter *Salmonella*, e portanto, bolos, doces e sobremesas feitos com ovo cru ou levemente cozido são um risco potencial para o consumidor (FSAI, 2018).

As receitas tradicionais de algumas sobremesas comercialmente confeccionadas em Portugal, utilizam ovos crus ou insuficientemente cozinhados na confecção final do produto. Este é um tipo de preparação culinária pouco explorado em estudos científicos e de grande importância análise devido uma possível presença de *Salmonella* spp no alimento que não passa por tratamento térmico de 70°C ou mais após uso do ovo in natura. Nesse sentido existem duas sobremesas que se evidenciaram, para nós, a primeira porque é mundialmente conhecida e a segunda muito característica da doçaria tradicional portuguesa. A mousse de chocolate, é origem francesa, preparação delicada e de consistência com aspecto de um creme espumoso que é conseguido através de claras em castelo, natas batidas ou ambas (Maincent-Morel, 2007). O doce de vinagre, receita tradicional portuguesa, das regiões do Alentejo e dos Açores (Ilha Terceira), utiliza claras em neve, além de utilizar a gema in natura e levar a aquecimento brando (Goes, 2005). As duas sobremesas tem em sua composição ovo, utilizado em sua forma in natura, e em que o mesmo não passa por uma etapa de tratamento térmico acima de 70°C após a adição do ovo na produção.

Na UE *Salmonella* Typhimurium e *Salmonella* Enteritidis, são os serotipos que mais estão relacionadas as DOAs (EFSA, 2021). Por ser sobremesas produzidas com ovo in natura e não ter um tratamento térmico que permita a eliminação ou redução do perigo biológico para níveis aceitáveis para este tipo de produtos, torna-se essencial que medidas de controlo sejam implantadas na produção afim de reduzir a probabilidade de introdução desses perigos na produção do alimento (Han et al., 2017; ISO22000:2018; Codex Alimentarius, 2020).

1.2 Questões de Partida e Objetivos da Investigação

Tendo em conta o elucidado, as questões de partida desenvolvida para o projeto de investigação foram:

- É possível realizar a produção das sobremesas à base de ovo não processado termicamente, de forma que o alimento se torne seguro para consumo?
- Quais seriam os perigos biológicos presentes nas sobremesas à base de ovo não processado termicamente?
- Quais seriam os PCC's para aplicação num plano HACCP das sobremesas em estudo?
- Tal etapa e controlos acrescentados, são possíveis que as mesmas sejam aplicadas pelo setor restauração?

Para responder a estas questões foi desenvolvido um trabalho com os seguintes objetivos específicos:

- Realizar estudo de caso com inoculações experimentais com *Salmonella* Enteritidis e *S. aureus* em sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre;
- Aplicar um método de controlo na etapa PCC para a confecção das sobremesas;
- Avaliação quantitativa microbiológica para *Salmonella* Enteritidis e *S. aureus*.

Tendo em consideração que:

- 1 O aumento do turismo em Portugal e a crescente procura e demanda dos setores: turismo, gastronomia e restauração, com o aumento da demanda por alimentos crus e não processados (Marinho, 2018; Barroco e Barroco, 2008; Broglia, 2011; Kretser, 2014).
- 2 Entidades emitem alertas para o não consumo de pratos servidos em restaurante feitos com ovos crus ou levemente cozidos, pois são considerados um risco potencial para o consumidor (FSAI, 2018; Academy of Nutrition and Dietetics, 2015).
- 3 Entre os alimentos mais implicados em surtos de origem alimentar, a nível da EU, encontra-se o consumo de alimentos de origem animal ovos e ovoprodutos (EFSA, 2021).

O presente estudo vem como ponto em contribuir para elaboração de uma nova forma de produção para os alimentos mousse de chocolate e doce de vinagre, com aplicação da metodologia baseada no sistema HACCP, como principal finalidade identificar os PCC's relevantes para a produção dos alimentos em estudo, aplicar uma medida de controlo e tornar o processo seguro de tal forma que possa ser executado pelo setor restauração.

Com os resultados do estudo pretende-se tornar uma nova forma de produção para as sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre, comumente servidos na restauração portuguesa, aos diversos clientes e turistas, validando o controlo aplicado conforme os resultados alcançados, tornando o produto mais seguro para o consumo.

1.3 Ovo e sua importância epidemiológica

Ovos e ovosprodutos apresentam uma variedade de aplicação nos setores de produção alimentar, por ser um gênero versátil, torna-se um ingrediente bastante utilizado em todas as cozinhas, suas principais utilidades: molhos, produtos de panificação, doces, massas alimentícias e gelados. Por sua propriedade emulsificante, espuma e coagulante, torna-se um dos gêneros alimentícios mais utilizados na gastronomia (Koblitz,2011).

Os ovos são um alimento muito rico do ponto de vista nutricional. Apresentam um valor energético moderado (82 kcal/55g – 1 ovo), são ricos em proteínas de grande qualidade e contêm apenas 2,7g de gordura saturada por 100g. São também fonte de 18 importantes vitaminas e minerais importantes para o adequado funcionamento de diversos processos celulares no organismo (Programa Nacional para Promoção e Alimentação Saudável [PNPAS], 2021).

De acordo com o Instituto Nacional de Estatística, em 2020 Portugal produziu 2 233 282 unidades de ovos e consumiu o valor por habitante de 5,46 unidades, o facto de ser um alimento muito nutritivo, fácil de cozinhar e acessível em termos de preço, faz com que o ovo seja um dos alimentos mais consumidos no mundo (Gabinete de Planeamento, Política e Administração Geral, 2020).

Composto por quatro constituintes principais: casca, clara, gema e membranas da casca, possui barreiras dificultando a contaminação interna e multiplicação de microrganismos. A casca e as membranas da casca, consideradas como uma barreira mecânica quando estão íntegras, funcionam como uma proteção e impede a penetração de fungos e bactérias no interior do ovo, no entanto, ovos com a casca rachada perdem a proteção o que facilita a entrada de microrganismos. Ovos com casca suja também estão expostos a deterioração, pois as

enterobactérias que colonizam detritos orgânicos são capazes de abrir atingindo o interior do ovo. No entanto a clara do ovo tem propriedades que funcionam como barreira mecânica, química e bioquímica ao desenvolvimento microbiano. A viscosidade da clara funciona como uma barreira mecânica, impedindo a mobilidade das bactérias, como barreira química, a clara contém um pH alcalino, poucos são os microrganismos que conseguem se desenvolver de forma satisfatória em um pH em torno de 9,0. A presença da lisozima na clara, funciona como uma barreira bioquímica, uma vez que a lisozima é eficiente contra bactérias gram-positivas. Com toda as propriedades de proteção a deterioração por microrganismos, os ovos podem ser um importante veículo de uma infecção de origem alimentar extremamente grave (Koblitz, 2011).

A contaminação de ovos e cascas de ovos foi identificada como uma das principais causas de *Salmonella* transmitida por alimentos (Howard et al, 2012), são as principais causas de DOA, determinando pequenos e grandes surtos (Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, 2011).

1.4 Epidemiologia

1.4.1 Contaminação por *Salmonella*

A *Salmonella* é o segundo agente zoonótico mais comum na UE. De acordo com o último relatório divulgado pela EFSA com dados referente ao ano de 2019, relata que houve um total de 5 175 surtos de origem alimentar, 926 surtos de salmonelose de origem alimentar foram relatados por 23 Estados-Membros da UE em 2019, 90.105 casos de salmonelose humana que foram reportados, 87.923 foram casos confirmados, resultando em uma taxa de notificação da UE de 20,0 casos por 100.000 habitantes, Portugal reportou 500 casos e obteve 432 contaminações. A maioria (72,4%) dos surtos de salmonelose foi de origem alimentar, e ocorreu através do veículo ovos e produtos à base de ovos, que ficaram em primeiro lugar entre os veículos alimentícios. Salmonelose é a segunda infecção gastrointestinal mais comumente relatada em humanos após campilobacteriose, é uma importante causa de surtos de origem alimentar na UE / EEE (EFSA , 2021).

É importante relatar que a incidência anual de salmonelose de origem alimentar é estimada em 80,3 milhões de casos (Majowicz, 2010), um estudo da UE estimou que apenas 1 em cada 57 casos de salmonelose é notificado (Havelaar, 2009).

A contaminação de ovos foi identificada como uma das principais causas de *Salmonella* transmitida por alimentos (Howard, 2012). Nos Estados Unidos, entre 1985 e

2002, os ovos contaminados foram identificados como a fonte de 53% de todos os casos de *Salmonella* relatados ao Centro para Controle e Prevenção de Doenças (CDC) (FDA, 2009). Globalmente *Salmonella* Enteritidis é mais comum associado a ovos contaminados (Gantois, 2008; Wales, 2011; Moffatt, 2013).

Existem duas vias para os ovos serem contaminados com *Salmonella*, a contaminação direta ocorre durante a formação de um ovo no trato reprodutivo das galinhas (incluindo o ovário e o oviduto), a contaminação indirecta ocorre depois de um ovo tenha sido colocado e *Salmonella* contaminar o exterior dos ovos, onde penetra através da membrana da casca (Howard et al, 2001; De Reu et al, 2003). Essas vias de contaminação podem ser influenciadas pelo processo de produção de ovos, armazenamento, manuseio e preparação dos alimentos (FDA 2009; Namata et al 2008; Gast et al 2014).

1.4.2 Contaminação em produtos de panificação e pastelaria

Surto associados a produtos de panificação tem ocorrido em em todo o mundo, na Tabela 1 apresenta que *Salmonella* tem sido implicada na grande maioria destes surtos documentados. De acordo com o Center for Science in the Public Interest (CSPI), uma organização de defesa do consumidor com sede em Washington, refere que os produtos de panificação foram associados a 142 surtos de doenças e 2.822 doenças de 2004 a 2013 (Boyacioglu, 2019).

Tabela 1 - Surtos de origem alimentar em todo o mundo envolvendo produtos de panificação e ovos crus (Stewart, Cole, & Schaffner, 2003).

Data	Veículo	Microorganismo	País
1990	Éclairs	<i>S. aureus</i>	Thailand
1994	Tiramisu	<i>Salmonella</i> enteritidis	PA, USA
1994	Torta cremosa de coco	<i>Salmonella</i> enteritidis	PA, USA
1994	Torta sem açúcar caseira	<i>Salmonella</i> heidelberg	OK, USA
1994	maionese com ovo cru	<i>Salmonella</i> enteritidis	CA, USA
1994	Bolo de aniversário	<i>Salmonella</i> enteritidis	NY, USA
1994	Torta cremosa de coco	<i>S. aureus</i>	IN, USA
1994	Torta	Desconhecida	WI, USA
1994	Bolo recheado com creme	<i>S. aureus</i>	Brasil
1995	Torta cremosa de coco	<i>S. aureus</i>	USA
1995	Bolo	<i>Salmonella</i> enteritidis	CA, USA
1995	Cheesecake	<i>Salmonella</i> enteritidis	PA, USA
1997	Pastelaria Italiana Molho Béarnaise com ovos cru	<i>Salmonella</i> enteritidis	CT, USA

1997	Cheesecake	<i>Salmonella enteritidis</i>	CA, USA
1997	Merengue para tortas	<i>Salmonella enteritidis</i>	USA
1997	Torta cremosa de coco	<i>Salmonella enteritidis</i>	OH, USA
1998	Torta de creme	<i>Salmonella enteritidis</i>	VA, USA
1998	Bolo mexicano	<i>Salmonella enteritidis</i>	MD, USA
1999	Torta de merengue	<i>Salmonella enteritidis</i>	MO, USA
2001	Bolo com cobertura	<i>Salmonella enteritidis</i>	TX, USA
2001	Torta de merengue	<i>Salmonella enteritidis</i>	MD, USA
2001	Bolo com cobertura	<i>Salmonella enteritidis</i>	NY, USA
2002	Canelone	<i>Salmonella enteritidis</i>	MI, USA
2005	Bolo recheado com creme	<i>Bacillus Cereus</i>	NC, USA
2005	Éclairs	<i>Salmonella enteritidis</i>	MI, USA
2005	Maionese com ovo cru	<i>Salmonella heidelberg</i>	CA, USA
2005	Torta de merengue	<i>Salmonella heidelberg</i>	USA
2005	Torta de Baunilha	<i>Salmonella enteritidis</i>	MI, USA
2005	Cream cheese de Baunilha	<i>Samonella spp</i>	NC, USA
2005	Bolo	<i>Salmonella typhimurium</i>	CA, USA
2006	Tiramisu	<i>Samonella spp</i>	CA, USA
2006	Maionese caseira	<i>Salmonella enteritidis</i>	ML, USA

Fonte: NSW Food Authority, 2007

A FSAI (2018) emitiu um relatório onde descreveu a realização de um teste com 997 amostras, no período de 2014, dos produtos Bolos e doces com recheios e coberturas perecíveis, tendo em vista que tais produtos contendo creme, ou que contenham ovos crus ou levemente cozidos, foram associados a surtos de doenças causadas por patógenos. Os produtos coletados foram analisados para *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *S. aureus*. Como resultado das 997 amostras testadas, 100% foram satisfatórias para *Salmonella*. Níveis satisfatórios de *Staphylococcus coagulase-positiva* foram enumerados em 98,1% (n = 970/989) das amostras e os níveis aceitáveis foram enumerados em 1,5% (n = 15/989) das amostras. Os níveis insatisfatórios de *Staphylococcus coagulase-positivas* foram enumerados em 0,3% (n = 3/989) das amostras e 0,1% (n = 1/989) apresentaram níveis considerado inaceitável / potencialmente perigoso. O estudo tem resultados positivos, porém conclui que para garantir que produtos microbiologicamente seguros cheguem ao consumidor, é imprescindível que altos níveis de higiene e controlos sejam alcançados e mantidos em todas as fases da cadeia alimentar. É preciso estar ciente de que às vezes ovos de galinha podem conter *Salmonella*, portanto, bolos, doces e sobremesas feitos com ovo cru ou levemente cozido são um risco potencial para o consumidor (FSAI, 2018).

Assim como é importante o conhecimento e estudo sobre a *Salmonella*, também é importante o estudo sobre o microrganismo *S. aureus*, casos resultantes da contaminação de

alimentos por enterotoxinas pré-formadas de *S. aureus*, são comuns nos EUA, sendo que o número estimado de 241.000 casos por ano neste país (Kadariya et al., 2014). Este é um agente que faz parte da microbiota da pele e fossas nasais dos seres humanos e, portanto, a contaminação de alimentos por *S. aureus* está principalmente associada ao manuseio inadequado de alimentos cozidos ou processados (Argudín et al., 2010). Esta pode ser evitada com práticas adequadas de manipulação, de armazenamento, boas práticas de higiene e controle de tempo e temperatura dos processos (Baptista & Linhares, 2003).

New South Wales Food Authority realizou um estudo em 2007, visitaram 125 padarias selecionadas aleatoriamente em todo o estado e coletaram um total de 696 amostras que foram analisadas para os seguintes parâmetros: *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus coagulase-positiva* e *Salmonella*. As amostras coletadas de 112 das 125 padarias foram dentro de níveis microbiológicos aceitáveis. No geral, 97,8% das amostras foram microbiologicamente aceitável. Os resultados inaceitáveis foram principalmente devido as amostras com baixos níveis de *E. coli*, *B. cereus* e *Staphylococcus coagulase positivos*. Esta pesquisa de produtos de panificação foi realizada por três razões principais:

- Produtos de panificação são consumidos em níveis elevados;
- Práticas deficientes de manuseio de alimentos foram identificadas em investigações de surto e em anteriores pesquisas de padarias;
- Surtos de intoxicação alimentar foram atribuídos a produtos de panificação.

Têm ocorrido inúmeros surtos associados a produtos de panificação e semelhantes na Austrália e em todo o mundo. Entre 2001 e 2007 OzFoodNet, uma rede de saúde para melhorar a vigilância de doenças transmitidas por alimentos na Austrália, relatou 21 surtos associados com padaria e produtos semelhantes. O maior surto de *Salmonella* na Austrália de aproximadamente 319 casos foi relacionado ao consumo de rolinhos de carne de porco à vietnamita contendo maionese de ovo cru (NSW Food Authority, 2007).

Estudos e controles para os microrganismos patogênicos são realizados por autoridades em segurança dos alimentos em diversos países, com objetivo em monitorar os setores produtores de alimentos. Para os diversos estudos os resultados para *Salmonella* e *S. aureus* são positivos, com poucas ou nenhuma amostra insatisfatórias ou potencialmente perigosas para o consumo, entanto é possível perceber que existe uma preocupação ao utilizar ovos nas preparações, como principal recomendação das autoridades, não consumir ovos crus ou mal cozidos e aquecer de forma segura as preparações que tenham ovo em sua composição.

1.5 Tratamento térmico para Controlo do Perigo biológico

Os perigos biológicos são perigos microscópicos e não causam alterações visíveis nos alimentos, estes organismos ou suas toxinas são frequentemente associados à manipulação incorreta dos alimentos por parte dos operadores (Baptista & Linhares, 2003). Especificamente nesse estudo, iremos abordar apenas os perigos biológicos (bactérias), por ser os mais importantes no contexto deste trabalho de investigação.

A qualidade microbiológica dos alimentos está condicionada à quantidade e ao tipo de microrganismos inicialmente presentes (contaminação inicial) e à multiplicação destes no alimentos. Os parâmetros intrínsecos, como por exemplo, o pH e a atividade de água (Aa) e aqueles inerentes ao ambiente (parâmetros extrínsecos), como a temperatura, a umidade relativa (UR) e a presença de gases, são fatores que podem ser ótimos ou limitantes na multiplicação de microrganismos, inclusive os microrganismos patogênicos transmitidos por alimentos, causadores principalmente de infecções e intoxicações de origem alimentar (Evangelista, 2005; Franco, 2005).

A temperatura de um alimento determina a amplitude do crescimento, o metabolismo, a morfologia e a morte dos microrganismos. Cada espécie microbiana pode desenvolver-se de modo eficaz dentro de certos limites, mínimos e máximos, de temperatura. Temperaturas acima das temperaturas máximas ocorre desnaturação das proteínas estruturais e como consequência a morte (Evangelista, 2005; Franco, 2005).

O tratamento térmico é eficaz para muitos destes microrganismos (Roberts, 2001). A Organização Mundial da Saúde aconselha que especialmente carne, ovos e peixe, devam receber tratamento térmico mínimo de 70°C. Estudos demonstraram que cozinhar os alimentos a uma temperatura acima dos 70°C garante um consumo mais seguro, a esta temperatura, mesmo elevados teores de microrganismos são destruídos em 30 segundos (WHO, 2006).

No Brasil, a pasteurização de ovo integral se caracteriza pelo aquecimento progressivo até no mínimo 60°C e a manutenção dessa temperatura por um período de 3,5 minutos. A combinação de diferentes binômios de tempo e temperatura na pasteurização dos ovos baseia-se na eliminação de *Salmonella* spp., esses parâmetros podem variar de acordo com a legislação de cada país; nos EUA, por exemplo, a pasteurização de ovos integrais ocorre por 3,5 minutos a uma temperatura de 61,1°C, enquanto na UE a pasteurização é realizada sob o binômio de 64,4°C por 2,5 minutos (EC, 1989; USDA, 2013).

Um estudo realizado por Spinks et al. (2006) sobre a inativação térmica de oito espécies de bactérias não formadoras de endósporos, utilizando temperaturas entre 55° e 65°C, concluiu

que *Salmonella* foi a bactéria que apresentou menor resistência térmica. Os resultados desse estudo demonstraram que temperaturas entre 55° e 65°C foram consideradas críticas para eliminação de bactérias patogênicas não-esporuladas, especialmente a temperatura de 65°C onde pode ocorrer a eliminação de uma grande parte dos microrganismos analisados (Tondo; Bartz, 2017).

O controle inadequado da temperatura é umas das causas mais comuns de ocorrência de doenças transmitidas por alimentos ou de deterioração dos mesmos. Medidas de controle que incluem tempo e temperatura de cocção, arrefecimento, processamento e armazenamento do alimento devem ser implantadas, monitoradas e verificadas, garantindo um controle eficaz durante a confeção (Codex Alimentarius, 2020).

2. Materiais e Método

Foi realizado um estudo para a avaliação da quantidade microbiológica das receitas típica portuguesa, mousse de chocolate e doce de vinagre, que contêm ovo cru in natura em seu processo de fabrico. A pesquisa é de modalidade experimental, com uma abordagem quantitativa.

Com o objetivo geral de testar o efeito de destruição nas preparações mousse de chocolate e doce de vinagre, sobre dois diferentes inóculos bacterianos de *Salmonella* Enteritidis (SE) e *S. aureus* (SA), realizou-se o estudo na receita tradicional das sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre, com objetivo em acrescentar uma etapa de controlo para o ponto crítico identificado. As preparações foram inoculadas com os agentes bacterianos na etapa que antecede o PCC, submetidas a dois tipos de tratamento térmico, 60° C e 65°C, sendo essas as duas temperaturas em que não ocorrer a coagulação da proteína do ovo, tendo em vista que para essas preparações a coagulação do ovo não pode ocorrer, para avaliar o grau de redução ou eliminação dos inóculos nos dois momentos. Para identificação do PCC foi realizado um fluxograma do processo de produção das sobremesas e a árvore decisória, conforme o Codex Alimentarius (2003).

Os produtos analisados seguiram as técnicas e metodologias clássicas de microbiologia alimentar. A preparação das amostras foram de acordo com procedimento estipulado na Norma ISO 7218: 2007, em condições de assepsia evitando qualquer contaminação para uma perfeita uniformidade da distribuição dos microrganismos (ISO 7218: 2007).

2.1 Preparação dos inóculos

O inóculo foi preparado a partir de uma estirpe de coleção de SE (ATCC 4300). Foi feita uma sementeira por esgotamento em meio Xilose Lisina Desoxicolato (XLD) (Biokar, BK 168 HA) adicionado uma camada 39 de Agar Triptona de Soja (TSA) (Biokar, BK047HA), a partir da qual foi preparada uma suspensão do agente em água peptonada (BK 131, Biokar) à escala 3 McFarland (Biomérieux). A concentração desta suspensão foi determinada por diluições seriadas inoculadas em meio de XLD adicionado de TSA, incubadas a 37° C (estufa incubadora) durante 18 a 24 h. Para o inóculo de SA subsp. *aureus* ATCC 25923, foi realizada uma propagação por esgotamento em meio BAIRD-PARKER Agar (Biokar BK055HA), suplementado com RPF (Biokar BS034), e após 18h a 24h de incubação foi realizada uma suspensão em 20ml de APT (Biokar BK131HA).

Após o período de incubação, foi realizada a comparação visual da turvação causada pelo crescimento bacteriano de cada suspensão, através do uso da escala nefelométrica de McFarland nº3, que corresponde a 9×10^8 bactérias/ml (Probac do Brasil, 1985).

Quando o inóculo apresentou uma turvação maior que esta escala, as culturas foram diluídas até que atingissem uma turvação semelhante à escala de McFarland nº3, utilizando-se para o efeito APT (Biokar BK131HA), exceto para VP, para o qual foi utilizada APT alcalina (OXOID CM1028).

Uma vez padronizada a suspensão bacteriana, foram preparadas diluições decimais até 10^{-8} , e efetuadas sementeiras por espalhamento com um volume de 0,2 ml, para SA em meio BAIRD-PARKER Agar (Biokar BK055HA), e um volume de 0,25ml, foi utilizado para SE em meio XLD (Biokar BK168HA) com uma sobrecamada de TSA (Biolar BK047HA).

2.2 Contagem de Inóculos

A contagem dos inóculos foi procedida após o período de incubação a 37°C por 24 horas, em estufa (Mettler IPP 500). A concentração bacteriana do inóculo inicial que foi inserido nas sobremesas diferiu entre cada uma das estirpes bacterianas, que foi de: SE $1,2 \times 10^5$ (ufc/g) para mousse de chocolate e $1,6 \times 10^6$ (ufc/g) para doce de vinagre, e para SA $6,1 \times 10^4$ (ufc/g) para mousse de chocolate e $3,4 \times 10^7$ (ufc/g) para doce de vinagre, tal diferença entre os inóculos se deu pelo fato da massa final de cada produto diferir entre as receitas.

2.3 Inoculação experimental

As duas suspensões bacterianas foram inoculadas nas preparações de forma separadas, no sentido de verificar o efeito dos dois tratamentos térmicos aplicados como controle do PCC na inativação de cada inóculo. Neste sentido foi inserido um volume de 1ml do inóculo inicial de cada estirpe bacteriana, na etapa que antecede o PCC tratamento térmico, após foram recolhidas 10g de cada amostra, para um saco de Stomacher e adicionados 90 mL de APT, posteriormente homogeneizados no homogeneizador (Stomacher 400 Circulator). Para cada inóculo o processo foi repetido 20 vezes, 10 vezes para sobremesa mousse de chocolate e 10 para doce de vinagre, para as temperaturas 60°C e 65°C.

2.4 Preparação das amostras

2.4.1 Mousse de chocolate

Iniciamos a preparação da receita com os ovos (clara e gema) que receberam o inóculo, SA e SE, na etapa nomeada agitação de Ovos, 10 amostras receberam o inóculo de SE e as outras 10 receberam o inóculo de SA. Em seguida os ovos contaminados foram acrescentados a calda de açúcar e levados a banho-maria, onde 10 amostras estiveram em tratamento térmico a 60°C e as outras 10 em temperatura a 65°C, todas seguiram o tempo de 5 minutos. Somente após esse processo foram acrescentados aos demais ingredientes para finalizar a sobremesa (figura 2).

Para o monitoramento de tempo e temperatura do processo, utilizamos método de banho-maria em fogão elétrico, controlando a temperatura com termômetro digital e para controle do tempo cronometro em relógio. O tempo somente passava a ser contabilizado quando a mistura de ovos e calda de açúcar atingia a temperatura em estudo: 60° C e 65° C.



Figura 1. Preparação da receita: Ovos, calda de açúcar em banho – maria

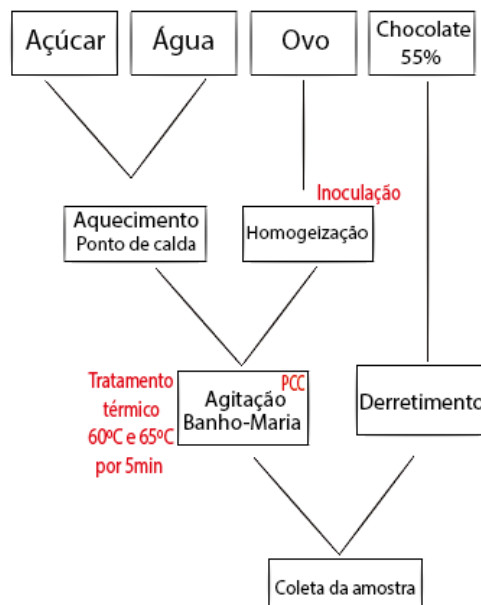


Figura 2. Fluxograma de preparação com inóculo e coleta de amostra da sobremesa mousse de chocolate

2.4.2 Doce de Vinagre

O processo para a preparação da sobremesa doce de vinagre seguiu a mesma linha de produção que a da mousse de chocolate. A elaboração da receita também sofreu uma modificação em sua preparação especificamente ao utilizar os ovos (clara e gema) que receberam o inóculo, SA e SE, na etapa nomeada agitação de Ovos, 10 amostras receberam o inóculo de SE e as outras 10 receberam o inóculo de SA. Em seguida os ovos, já com o inóculo, foram acrescentados a calda de açúcar e levados a banho-maria, onde 10 amostras estiveram em tratamento térmico a 60°C e as outras 10 em temperatura a 65°C, todas seguiram o tempo de 5 minutos, somente após esse processo foram acrescentados aos demais ingredientes para finalizar a sobremesa (figura 3).

Para o monitoramento de tempo e temperatura do processo, utilizamos método de banho-maria em fogão elétrico, controlando a temperatura com termômetro digital e para controle do tempo cronometro em relógio. O tempo somente passava a ser contabilizado quando a mistura de ovos e calda de açúcar atingia a temperatura em estudo: 60° C e 65° C.

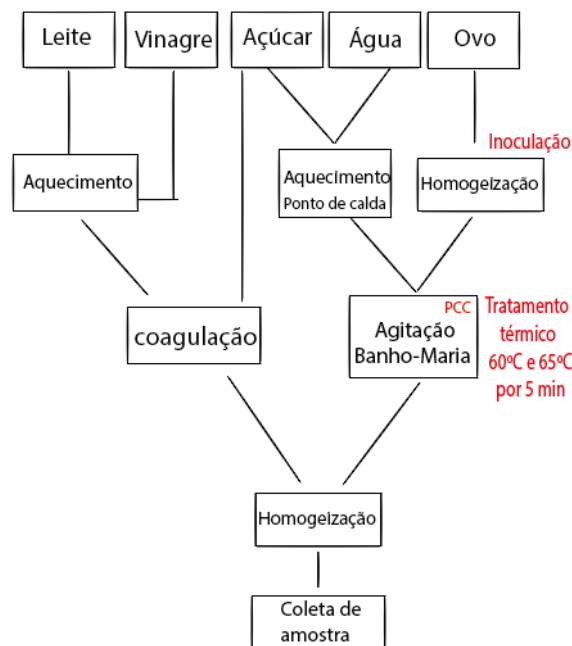


Figura 3. Fluxograma de preparação com inóculo e coleta de amostra da sobremesa doce de vinagre

2.5 Processo laboratorial

2.5.1 Coleta das amostras

As amostras foram recolhidas e pesadas numa balança centesimal (Kern® FOK 11K1M), e em seguida colocadas num saco homogeneizador (BagLight 400). Foram retiradas de cada uma das preparações 10g de cada amostra, perfazendo um total de 40 amostras para análise. Cada uma das amostras foi suspensa em 90ml de APT (Biokar BK131HA), depois cada uma destas diluições foi homogeneizada no equipamento Stomacher® 400 circulator (Seward) durante 60 segundos a 230 rotações, deste modo foi obtida a solução mãe (diluição 10^{-1}). Seguidamente procedeu-se às respetivas diluições decimais até 10^{-5} .

2.5.2 Contagem do Inóculo

A sementeira foi realizada por espalhamento à superfície de 0,25 ml de inóculo no meio de cultura para cada uma das diluições, seguido de um período de incubação a 37°C por 24 horas, em estufa (Memmert IPP 500).

As colónias de SE foram contabilizadas, apresentando-se de centro escurecido, motivado pela redução do citrato férrico amoniacal, que causam um escurecimento devido a produção de sulfureto de ferro no centro das colónias (Solabia Group, 2016a).

As colónias de morfologia típica de SA foram contabilizadas, apresentando-se com coloração preta devido a redução do telurito em telureto e rodeadas por halos claros (Solabia Group, 2016b).

3. Resultados e Discussão

Na tabela 2 estão apresentados os valores das contagens de SE e SA submetidos as duas temperaturas aplicadas em ambas preparações analisadas nesse estudo (60° C e 65° C). Para uma melhor interpretação dos resultados, as medidas de estatística descritiva, média e desvio padrão foram calculadas.

Tais resultados, de um modo geral, conseguem demonstrar que o tratamento térmico aplicado foi eficaz para reduzir significativamente a quantidade de SE, para as duas temperaturas, nas duas sobremesas em estudo. Os resultados demonstraram que SE não foi encontrada (<10 UFC/g ou ausência) nas 20 amostras analisada. Em relação a SA, percebe-se uma variação maior nos resultados, porém com destruição bacteriana na maioria das amostras. Foram analisada n=20 amostras para SA, dessas, 10 amostras a 65° C foram a que melhor responderam ao controle aplicado, onde para as 5 amostras analisadas da sobremesa doce de vinagre tivemos como resultados para todas o valor de <10 UFC/g, e para as 5 amostras da sobremesa mousse de chocolate, 1 amostra apresentou o valor de $2,8 \times 10^2$ UFC/g e as demais apresentaram o valor <10 UFC/g.

Tabela 2 – Contagens de bactéria sobrevivente por grama da preparação para tempo e temperaturas de controlo.

PRODUTO	Salmonella Enteritidis						Staphylococcus aureus					
	Temperatura por 5 minutos	Inoculação Inicial	Amostra	Resultados	Média	Desvio Padrão	Temperatura por 5 minutos	Inoculação Inicial	Amostra	Resultados	Média	Desvio Padrão
Mousse de Chocolate	60° C	$1,2 \times 10^5$	1	<10	<10	0	60° C	$6,1 \times 10^4$	6	$2,5 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	$2,1 \times 10^3$
			2	<10					7	$5,1 \times 10^2$		
			3	<10					8	$5,2 \times 10^2$		
			4	<10					9	$6,4 \times 10^2$		
			5	<10					10	$5,4 \times 10^3$		
	65° C	$1,2 \times 10^5$	11	<10	<10	0	65° C	$6,1 \times 10^4$	16	$2,8 \times 10^2$	$5,6 \times 10$	$1,2 \times 10^2$
			12	<10					17	<10		
			13	<10					18	<10		
			14	<10					19	<10		
			15	<10					20	<10		
Doce de Vinagre	60° C	$1,6 \times 10^6$	21	<10	<10	0	60° C	$3,4 \times 10^7$	31	<10	$1,0 \times 10^2$	$1,4 \times 10^2$
			22	<10					32	<10		
			23	<10					33	$2,0 \times 10^2$		
			24	<10					34	<10		
			25	<10					35	$3,0 \times 10^2$		
	65° C	$1,6 \times 10^6$	26	<10	<10	0	65° C	$3,4 \times 10^7$	36	<10	<10	0
			27	<10					37	<10		
			28	<10					38	<10		
			29	<10					39	<10		
			30	<10					40	<10		

No que se refere aos ensaios com inoculação de SE (tabela 2), se encontram divididos em: dois produtos, mousse de chocolate e doce de vinagre, e em dois níveis de temperaturas, 60° C e 65°C. Para todos os ensaios realizados resultaram em ausência (<10) de SE para todas as amostras (n=20), dados demonstrados em forma gráfica na figura 4.

Tendo em conta a diferença entre o nível bacteriano inicial inoculado para as duas sobremesas, onde mousse de chocolate recebeu uma carga de $1,2 \times 10^5$ ufc/g e o doce de vinagre de $1,6 \times 10^6$ ufc/g, o efeito das duas temperaturas, 60° C e 65° C, funcionou da mesma maneira para os dois produtos, com resultado positivo para destruição para as 20 amostras analisadas.

De acordo com Humphret (2011) a dose infectante de *Salmonella* para humanos saudáveis geralmente varia entre 10^6 e 10^8 UFC, os níveis inoculados nas amostras em estudo se aproximam da dose infectante, as quais foram significativamente reduzidas com a aplicação do processo tratamento térmico.

As autoridades em segurança dos alimentos, através de canais de comunicação ao consumidor, orientam sempre o consumo de ovos somente após tratamento térmico, tendo em vista que é através da temperatura que se consegue eliminação das bactérias patogênicas (Forsythe, 2013). Multiplica-se em temperaturas entre 7° C e 49,5° C, sendo sensível ao calor, não sobrevivendo à temperatura superior a 70° C (Forsythe; Guimarães; 2002), temperatura essa que normalmente é recomendada em canais de comunicação ao consumidor, que não aconselha o uso do ovo de forma crua nas preparações. Em um estudo que avaliou a Inativação térmica de SE por meio de fervura e fritura de ovos (Paula et al, 2005), concluíram que houve uma redução de aproximadamente $2,78 \log_{10}$ após fritura dos ovos durante o tempo de 1,5, 2,0 e 2,5 min. Reduções maiores foram demonstradas através do presente estudo, no qual houve redução de aproximadamente 10^5 UFC/g em mousse de chocolate e 10^6 UFC/g para o produto doce de vinagre, submetidos as temperaturas controladas (60° C e 65° C) por um tempo de 5 minutos para as duas temperaturas.

Em relação aos resultados com inoculação de SA a sobremesa mousse de chocolate recebeu um inóculo de $6,1 \times 10^4$ ufc/g, quando submetida a temperatura de 60°C permaneceu uma média de sobrevivência o valor de $1,9 \times 10^3$ ufc/g. O doce de vinagre, que recebeu o inóculo de $3,4 \times 10^7$ ufc/g apresentou como média de sobrevivência $1,0 \times 10^2$ ufc/g para a mesma temperatura (60° C). No que se refere ao controlo de temperatura a 65°C, a sobremesa mousse de chocolate apresentou como média de sobrevivência o valor de $5,6 \times 10$ ufc/g, e para o doce de vinagre, todas as amostras apresentaram ausência (<10) para SA.

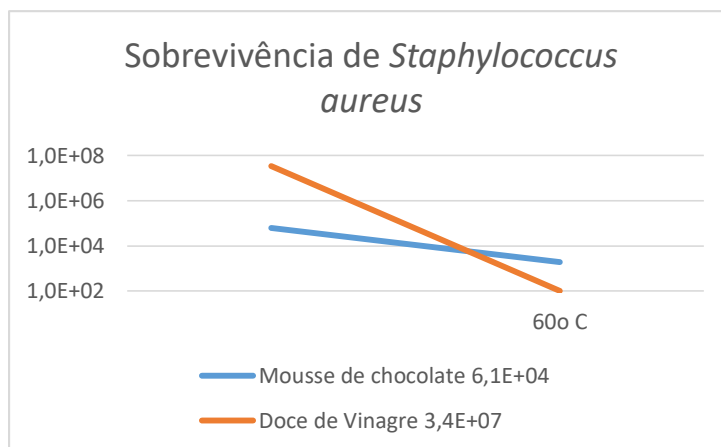


Figura 4. Média de Sobrevivência de SA nas amostras de mousse de chocolate e para doce de vinagre sob controlo tratamento térmico a 60° C

Considerando que quanto mais baixo o valor do desvio padrão, mais eficaz foi o nível de temperatura utilizada, podemos considerar que a temperatura de 60° C teve uma melhor eficácia para o produto doce de vinagre, uma vez que apresentou um desvio padrão de menor variação, indicando que existe uma menor dispersão dos dados entre as amostras analisadas com relação à média, tal dado é demonstrado na figura 4, onde apresento a média de sobrevivência de SA para as sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre quando as mesmas passaram pelo tratamento térmico a 60° C por 5 minutos. Tal dado também pode ser verificado observando a tabela 2, onde para doce de vinagre tivemos uma ação de destruição de SA para 60% das amostras, porém para mousse de chocolate a temperatura de 60°C não conseguiu destruir SA para níveis considerados aceitáveis <10 (INSA,2019) em nenhuma das amostras analisadas.

A bactéria SA foi a que apresentou uma maior resistência à ação destrutiva aplicada através do tratamento térmico a 60° C, sendo a temperatura a 65° C a que demonstra ser eficaz na destruição de SA, tal afirmação pode ser verificada (figura 5) onde apresento a média de sobrevivência de SA para as sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre quando as mesmas passaram pelo tratamento térmico a 60° C e 65° C por 5 minutos.

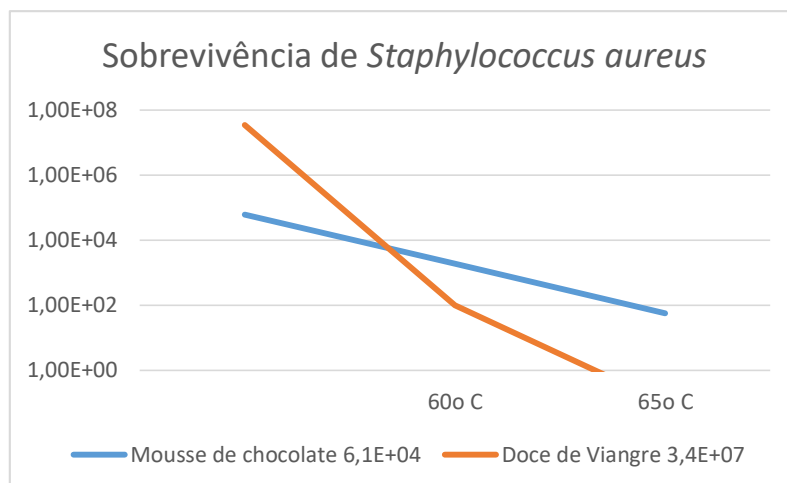


Figura 5. Representação dos dados para as amostras de mousse de chocolate e para doce de vinagre e efeito das temperaturas 60° C e 65° C para controlo da SA.

Levando em consideração que a dose infectante para humanos saudáveis são a níveis superiores a 10^5 ufc/g (FSAI, 2020) e os níveis inoculados nas amostras em estudo são superiores a dose considerada infectante, os dois tratamentos térmicos aplicados como controlo conseguiu reduzir para níveis abaixo do considerado infectante. Atualmente é recomendada a temperatura de 70°C por 2 min para inativação de SA, com redução de 5 log, (que é geralmente aceite como o alvo de redução para bactérias patogênicas transmitidas por alimentos (Kennedy et al, 2005), tal redução de 5log, foi alcançada de forma eficaz para a temperatura em estudo de 65°C por 5 minutos.

A maioria dos SA surgem devido as práticas inadequadas de higiene durante o processamento dos alimentos, cozinhar ou distribuir o produto alimentar (Asao et al, 2003). A bactéria entrou para o presente estudo devido ao seu potencial em estar presente no corpo humano, sendo o manipulador de alimentos um dos principais veículos de transmissão do SA para os alimentos produzidos (Davis, 2010) e por frequentemente ser mais presente em alimentos como aves e ovoprodutos, leite e produtos lácteos, saladas, produtos de panificação, especialmente pastéis e bolos recheados com creme e recheios de sanduíches (Le Loir et al, 2003; Argudín et al, 2010).

Os tratamentos térmicos são amplamente utilizados devido à sua capacidade de inativar células vegetativas, esporos bacterianos, leveduras e bolores. O grau de resistência ao calor de diferentes grupos microbianos varia devido às suas diferentes estruturas, composições alimentar, bem como aos mecanismos de resistência que eles são capazes de desenvolver, geralmente as células Gram-positivas são mais resistentes do que as células Gram-negativas (Cebrian et al, 2017; Jay 1992), tal afirmação pode ser observada no presente estudo, de acordo com as contagens bacterianas da tabela 3, e a observação dos gráficos das figuras 4 e 5, foi possível determinar que o efeito do tratamento térmico,

gerou por norma, resultados diferentes para os dois tipos de sobremesas, com inativação dos agentes bacterianos em questão a temperatura de 60° C com destruição de SE em todas as amostras (n=20), e para destruição de SA em 3 amostras. Em um estudo que analisou a Fisiologia da Inativação de Bactérias Vegetativas por Tratamentos Térmicos, demonstrou que *Salmonella* entérica consegue ser resistente ao calor em temperatura a 60° C por um tempo entre 0,1 a 3,3 minutos e *S. aureus* consegue a resistência térmica em temperatura a 60° C por um tempo entre 0,2 a 6 minutos (Cebrian et al, 2017), tal dado pode ser afirmado com os resultados do presente estudo.

Com intuito de obter uma eficaz destruição dos microrganismos patogénicos de estarem presentes nas sobremesas, e também contribuir para o desenvolvimento de um plano baseado no HACCP, foram identificados 1 possível PCC para cada processo produtivo: * Produto Mousse de Chocolate e Doce de Vinagre na etapa Agitação dos Ovos, a realização da etapa deve ocorrer em banho-maria respeitando a temperatura mínima de 65° C e o tempo mínimo de 5 minutos, assim como testada nos ensaios laboratoriais (Figura 6 e 7). Para um melhor controle durante a produção de alimentos, com objetivo em evitar multiplicações de bactérias patogénicas a níveis que gerem uma TIA, a implementação e a adesão às diretrizes microbiológicas, a implantação e adesão ao HACCP, Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas de Higiene desenvolvidas pela OMS podem ajudar a prevenir contaminação por SA e SE (Syne et al, 2013; Kadaraya et al, 2014).

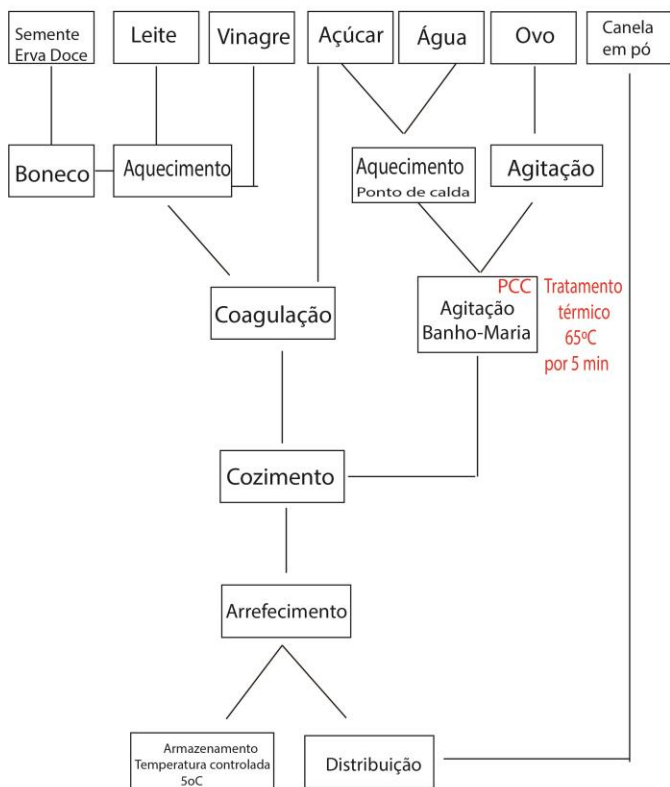


Figura 6- Fluxograma da produção da mousse de chocolate: etapa tratamento térmico

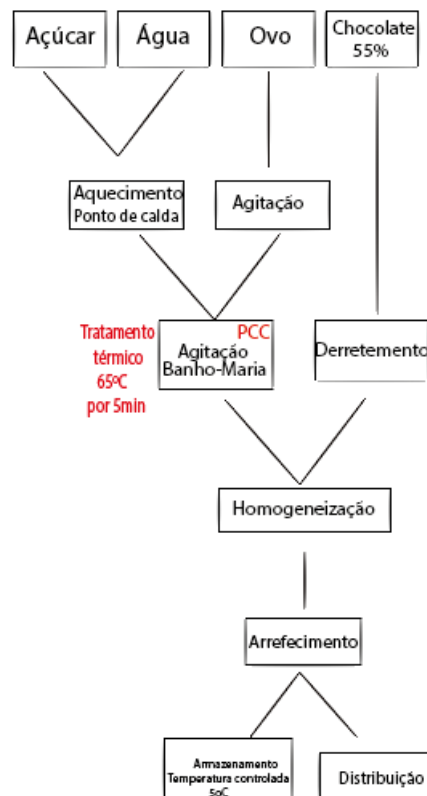


Figura 7- Seção do Fluxograma da produção do doce de vinagre: etapa tratamento térmico

O sistema HACCP é conhecido pelo seu conjunto de princípios técnicos e científicos de caráter preventivo, tem como objetivo a redução ou, se possível, a eliminação de perigos alimentares. O sistema é considerado uma das formas mais eficaz para a análise e prevenção de perigos ligados à cadeia produtiva de alimentos, determinação dos potenciais perigos e o estabelecimento dos PCC's, com os respetivos limites críticos, medidas de controlo, e ações corretivas, para a produção de alimentos seguros (Afonso, 2006).

Neste sentido, as medidas de controlo, os limites críticos, os procedimentos de monitorização e as ações corretivas, foram estabelecidas para os PCC's acima referidos, e estão apresentadas na tabela 3 e 4.

Tabela 3. Estabelecimento dos Procedimentos de Monitorização e das correções para PCC no processamento das sobremesas Mousse de chocolate e Doce de vinagre.

PCC BIOLÓGICO – TRATAMENTO TÉRMICO	
ETAPA DO PROCESSO	Tratamento Térmico
MEDIDA DE CONTROLE	Monitorar o tempo e temperatura do alimento
LIMITE CRÍTICO	O alimento deve atingir no mínimo 65°C no centro geométrico
JUSTIFICATIVA	A cocção é responsável pela diminuição/eliminação dos microrganismos patogênicos.
MONITORIZAÇÃO	O QUÊ? Monitorar o tempo e a temperatura
	ONDE? No centro geométrico do alimento
	COMO? Através do uso do termômetro
	FREQUÊNCIA? A cada preparação produzida
	QUEM? Equipe operacional
CORREÇÃO	Aguardar que o processo atinja a temperatura mínima (65°C) por tempo mínimo de 5 minutos
REGISTROS	Em documento do estabelecimento
VERIFICAÇÃO	Supervisão

Tabela 4. Estabelecimento das Medidas de Controlo e Limites Críticos para PCC no processamento das sobremesas Mousse de chocolate e Doce de vinagre.

Etapa	Perigos	Medida de controle	PCC	Limite crítico	Procedimento de monitoramento	Correção	Registro
Bater Ovos	bactérias patogênicas: <i>Salmonella</i> spp., <i>Staphylococcus aureus</i>	Controlar a temperatura e tempo no alimento	Biológico	Atingir no mínimo 65°C no centro geométrico do alimento por 5 minutos	Monitorar a temperatura do alimento	Aguardar que o processo atinja a temperatura e tempo	Registrar em documento

A implantação do sistema HACCP juntamente com a identificação dos PCC's e a aplicação do limite crítico são fundamentais para o processo produtivo das sobremesas que utilizam ovo com tratamento térmico brando. Essa é uma ferramenta para controle do processo e uma eficaz medida para redução ou eliminação de *Salmonella* Enteritidis e de *S. aureus*. O presente estudo utilizou valores elevados de inóculos com o objetivo em estudar a destruição/redução bacteriana com a utilização de uma medida de controle, tais valores utilizados estiveram acima ou iguais as doses consideradas infectantes, e acima das consideradas o que normalmente possa estar presente do alimento, no caso o ovo. Considerando tais dados, podemos então afirmar que com a identificação dos PCC's e implantação de limite críticos e medidas de controle, é possível evitar a ingestão de altas dosagens destes microrganismos patogênicos, dessa forma estaremos seguindo as recomendações gerais das autoridades em segurança dos alimentos, quando indicam o não consumo de ovos cru, que na maior parte dos casos está envolvida em surtos alimentares e estaremos reduzindo riscos, uma vez que tais sobremesas em sua maioria são preparadas com o ovo sem passar por nenhuma medida de controle. Porém a medida de controle implantada, temperatura a 65°C por 5 minutos, não garante por completo a eliminação total dos microrganismos, principalmente para o *S. aureus*, afetando então a segurança alimentar para indivíduos imunodeprimidos, idosos, crianças e gestantes, onde para esses casos, doses baixas de bactérias podem levar a sérios sintomas.

De fato, o uso e consumo de ovos é um assunto importante para as autoridades em segurança dos alimentos, principalmente pelo fato de sua utilização de forma crua. Medidas que possam reduzir possíveis surtos alimentar devem ser consideradas, implantas e acompanhadas sempre em verificações e validações. Entre continuar a utilizar ovos totalmente cru ou entre utilizar medidas que possam reduzir tais riscos existente na utilização de forma crua, sempre será uma opção a implantação de medidas que possam reduzir os riscos. Recomendar a aplicação baseado no sistema HACCP como um meio de aumentar a segurança do alimento e reduzir a probabilidade de introdução de um perigo que possa afetar a sua adequação ao consumo é um dos objetivos descritos no código alimentarius, tal documento, que é um conjunto de normas, códigos, diretivas e outras recomendações internacionais que visam promover a segurança sanitária dos alimentos, a proteção dos consumidores e garantir práticas justas no comércio de alimentos, e que deve ser seguido por qualquer estabelecimento que forneça refeição ao público devem ser aplicadas e acompanhadas com total rigor (Codex Alimentarius 2020).

4. Conclusão

Como objetivo deste trabalho, a verificação da possibilidade em realizar a produção das sobremesas à base de ovo processadas em tratamento térmico brando, de forma que o alimento se torne seguro para consumo, através de reduções e/ou destruições dos microrganismos, através das verificações dos perigos biológicos presentes nas sobremesas e identificação dos PCC's para aplicação num plano HACCP, devido à crescente popularidade e consumo dessas opções de alimento, que representa um risco para a saúde dos consumidores por ser consumido com preparação utilizando ovo cru.

Na perspectiva em contribuir para uma metodologia HACCP visando o processo produtivo de sobremesas que utilizam ovos cru durante seu processo de confecção e que não aplicam como medida de controlo nenhuma etapa de tratamento térmico, o estudo identificou 1 PCC, na etapa bater ovos, como medida foi implantado o controlo de tempo/temperatura, de forma a garantir a redução ou destruição por completo dos microrganismos patogénicos *Salmonella* Enteritidis e *S. aureus*, sendo estes os principais microrganismos que podem estar presente durante o processo de confecção desse grupo alimentar.

Para verificação das reais taxas de redução e/ou destruição dos microrganismos, foi realizada através dos ensaios laboratoriais de inoculações de *Salmonella* Enteritidis e *S. aureus*, nas duas preparações, mousse de chocolate e doce de vinagre, concluindo que *Salmonella* Enteritidis não foi encontrada nas sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre após tratamento térmico de 60 e 65° C por 5 minutos. Em todos os ensaios (n=20) realizados, com análises especificamente para *Salmonella* Enteritidis, os valores registados mantiveram-se seguros, dado comprovado pelas elevadas destruições do microrganismo em duas sobremesas diferente submetidas em dois tipos de tratamento térmico. Dessa forma o controle da temperatura e tempo quanto à confecção do produto é de elevada importância, pois é o controlo que irá garantir a segurança da confecção dos alimentos. Tal controlo, também aplicado para verificação de redução de *S. aureus* demonstrou uma variação nos resultados entre as temperaturas 60° C e 65° C, durante o mesmo controle de tempo por 5 minutos, uma vez que, tal produção se tornou mais segura quando as sobremesas estiveram em controlo por tratamento térmico de 65° C por 5 minutos, apresentando maiores taxas de redução do microrganismo. No entanto, diante do conhecimento de que a intoxicação por este agente bacteriano ocorre principalmente devido a incorreta prática de higiene e de manipulação de alimentos, tornando essencial que as medidas de implementação do sistema HACCP e das BPF desenvolvidas pela OMS e a FDA, sendo essas medidas essenciais também na prevenção da contaminação por *S. aureus*.

Dessa forma, tais medidas de implantação e execução de um sistema HACCP, verificações e validações frequentes do sistema, aplicação e cumprimento das BPF, seguindo assim os regulamentos

referente a segurança dos alimentos, são pontos cruciais na eliminação ou redução dos perigos microbiológicos estudados, o que por consequência irá interferir positivamente na produção de alimentos mais seguro ao consumo.

Diante dos resultados apresentados através das análises realizadas, sugere-se a continuação de mais estudos semelhantes, para assim obter mais dados entre resultados e um maior número de amostras para esse grupo de alimentos que utilizam ovo em tratamento brando, e dessa forma obter um amplo banco de dados sobre o assunto, visto que atualmente temperaturas sugeridas como segura e recomendada é acima da temperatura que realmente esse grupo de alimentos consegue atingir devido a sua própria característica sensorial, não conseguir tolerar temperaturas acima de 65°C.

5. Referências Bibliográficas

Academy of Nutrition and Dietetics, 2015 'Egg Safety Every Step of the Way' Available at <https://www.eatright.org/homefoodsafety/safety-tips/food/egg-safety-every-step-of-the-way> [Accessed 10/10/2021].

Afonso, A. 2006 'Segurança e Qualidade Alimentar - Metodologia HACCP- Prevenir os acidentes alimentares'. Lisboa.: Editideias - Edição e Produção,Lda. ISSN1646-6349. Nº 1.

Argudín MÁ, Mendoza MC, Rodicio MR 2010. 'Intoxicação alimentar e enterotoxinas de *Staphylococcus aureus*'. Toxinas (Basel). Julho 2. 1751-73.

ASAE (n.d.). *Riscos Biológicos Salmonella*. Available at <https://www.asae.gov.pt/seguranca-alimentar/riscos-biologicos/salmonella.aspx> [Accessed 5/5/2021]

ASAE (n.d.). *Perigos de Origem Alimentar*. Available at <https://www.asae.gov.pt/cientifico-laboratorial/area-tecnico-cientifica/perigos-de-origem-alimentar.aspx> [Accessed 30/09/2021]

Asao, T; Kumeda, Y; Kawai, T; Shibata, T; Oda, K; Nakazawa, H; Kozaki, S 2003. 'Um amplo surto de intoxicação alimentar estafilocócica devido ao leite desnatado no Japão: estimativa da enterotoxina A no leite incriminado e no leite em pó desnatado.' *Epidemiol Infect.* 130 (1): 33–40.

Baptista, P., & Linhares, M. 2005. 'Higiene e Segurança Alimentar na Restauração' Volume II Iniciação. Guimarães: Forvisão

Baptista, P.; Noronha, J.; Oliveira, J.; Saraiva, J 2003. 'Modelos genéricos de HACCP'. Consultoria em Formação Integrada, Ida.

Barroco, L. M., & Barroco, H. E. (2008). A importância da Gastronomia como Patrimônio Cultural, no Turismo Baiano. *Rev. investigación em turismo y desarrollo local Turydes*, 1(2).

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2011. 'Manual técnico de diagnóstico laboratorial de *Salmonella* spp.: diagnóstico laboratorial do gênero *Salmonella*' Laboratório de Referência Nacional de Enteroinfecções Bacterianas, Instituto Adolfo Lutz. – Brasília : Ministério da Saúde, 60 p. : il. – (Série A. Normas e manuais técnicos)

Boyacioglu, H 2009. 'The pathogen risks lurking in baked foods' Available at <https://www.bakingbusiness.com/articles/48844-the-pathogen-risks-lurking-in-baked-foods> [Accessed 12/09/2021].

Broglia A., Kapel C. 2011. 'Mudando hábitos alimentares em um mundo em mudança: drivers emergentes para a transmissão de zoonoses parasitas transmitidas por alimentos'. *Veterinario. Parasitol.* 182 : 2–13.

Cebrian, G; Condón, S; Manãs, P 2017. 'Fisiologia da Inativação de Bactérias Vegetativas por Tratamentos Térmicos: Modo de Ação, Influência de Fatores Ambientais e Cinética de Inativação' *jornal foods* 6 (12): 107.

Codex Alimentarius 2020. 'General Principles of Food Hygiene. Available at: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/shproxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B1-1969%252FCXC_001e.pdf [Accessed 20/10/2021]

Chaibenjawong, P., & Foster, S. J. 2011. 'Desiccation tolerance in *Staphylococcus aureus*'. *Archives of Microbiology*, 193(2), 125–135.

Davis, J. S 2010. 'Management of bone and joint infections due to *Staphylococcus aureus*'. *Int Med J*, v. 35, p. 79S-96S.

De Reu K., Grijspeerdt K., Messens W., Heyndrickx M., Uyttendaele M., Debevere J., Herman L. 2006 'Eggshell fatores influenciando a penetração da casca de ovo e contaminação de ovo inteiro por bactérias diferentes, incluindo *Salmonella* Enteritidis'. *Int. J. Food Microbiol.* **112** : 253–260.

Doyle M.E., Mazzota, A.S. 2000. 'Review of studies on the thermal resistance of salmonellae'. *Journal of Food Protection*, 63, 779-795.

EUROPEAN ECONOMIC COMMUNITY. 1989. Council Directive 89/437/EEC of 20 June 1989 on hygiene and health problems affecting the production and the placing on the market of egg products. *Official Journal* 234 L 212, 22/07/1989 p. 87–100.

EFSA - European Food Safety Authority 2021. 'The European Union One Health 2019 Zoonoses Report' In *EFSA journal. European Food Safety Authority* (Vol. 19, Issue 2).

Evangelista, J 2005. 'Tecnologia de Alimentos.' 2ª edição. Livraria Atheneu Editora. São Paulo, 652 p.

Franco, B. D. G. M.; Landgraf, M 2005. 'Microbiologia dos Alimentos'. Ed. Atheneu, São Paulo, 182 p.

Food and Drug Administration, HHS 2009. 'Prevenção de *Salmonella* Enteritidis em ovos com casca durante a produção, armazenamento e transporte pela Food Drug Administration' *Fed Regist.* 74 (130): 33029-101.

Food Safety Authority of Ireland [FSAI] 2018. 'Survey of the microbiological safety of ready-to-eat cakes, pastries and desserts with high-risk fillings (14NS1)' Available at file:///C:/Users/hamis/Downloads/7937%20Ready-to-eat%20cakes%20Accessible%20(3).pdf [Accessed 10/10/2021]

Food Safety Authority of Ireland [FSAI] 2020 'Guidelines for the Interpretation of Results of Microbiological Testing of Ready-to-Eat Foods Placed on the Market' Revision 4 Available at file:///C:/Users/hamis/Downloads/Guidance%20Note%203%20Guidelines%20for%20the%20Interpretation%20of%20Results%20of%20Microbiological%20Testing%20of%20Ready-to-Eat%20Foods%20Placed%20on%20the%20Market.pdf [Accessed 10/10/2021]

Forsythe, S. J 2013. 'Microbiologia da segurança dos Alimentos' revisão técnica: Eduardo Cesar Tondo. 2. ed. Porto Alegre : Artmed.

Forsythe, S. J.; Guimarães, M. C. M 2002 'Microbiologia da segurança alimentar'. Tradução Cristina Leonhardt. Porto Alegre: Artmed.

GPP - Gabinete de Planeamento, Política e Administração Geral 2020. 'Análise Setorial Ovos'. Available at https://www.gpp.pt/images/PEPAC/Anexo_NDICE_ANLISE_SETORIAL_OVOS.pdf [Accessed 10/10/2021].

Gantois I, Eeckhaut V, Pasmans F, Haesebrouck F, Ducatelle R, Van Immerseel F. Avian Pathol 2008. 'Um estudo comparativo da patogênese da contaminação de ovos por diferentes sorotipos de Salmonella' pubmed.gov 37 (4): 399-406.

Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, Van Immerseel F 2009. 'Mecanismos de contaminação de ovos por Salmonella Enteritidis' Microbiol 33 (4): 718-38.

Gast RK, Guraya R., Jones DR, Anderson KE 2014. 'Contaminação de ovos por *Salmonella* Enteritidis em galinhas poedeiras infectadas experimentalmente alojadas em gaiolas convencionais ou enriquecidas'. *Poultry Science*. **93** : 728–733.

Goes, M. A. 2005. '*Dicionário de Gastronomia*. Sintra: Colares' Editora, p.94.

Han, F., Huang, X., & Mahunu, G. K. 2017. 'Exploratory review on safety of edible raw fish per the hazard factors and their detection methods'. *Trends in Food Science and Technology*, 59, 37–48.

Hara-Kudo, Y. ; Takatori, K. 2010. Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiology & Infection*, 1505–1510.

Havelaar AH, Ivarsson S, Löfdahl M, Nauta MJ 2013. 'Estimando a verdadeira incidência de campilobacteriose e salmonelose na União Europeia em 2009' *Epidemiol Infect*. 141 (2): 293-302.

Howard ZR, O'Bryan CA, Crandall PG, Riche SC 2012 '*Salmonella* Enteritidis em ovos com casca: questões atuais e perspectivas para o controle'. *Food Res. Int*. **45** : 755–764.

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge 2019. 'Interpretação de resultados de ensaios microbiológicos em alimentos prontos para consumo e em superfícies do ambiente de preparação e distribuição alimentar Valores-guia'. *INSA*.

International Organization for Standardization (ISO) 7218, "Microbiology of food and animal feeding stuffs – General requirements and guidance for microbiological examinations". Agosto, 2007.

Instituto Politécnico de Leiria, 2013, Guia para a elaboração de referências bibliográficas normas HARVARD, Serviço de Documentação Instituto Politécnico de Leiria, Portugal, Available at:

<https://www.ipleiria.pt/sdoc/wpcontent/uploads/sites/10/2015/05/ReferenciasHarvard.pdf>
[Accessed 16 de Outubro de 2020].

Jay JM 1992 '*Modern Food Microbiology*'. 4ª ed. Chapman & Hall; New York, NY, USA.

Kadariya, J., Smith, T. C., & Thapaliya, D. 2014. 'Staphylococcus aureus and Staphylococcal Food-Borne Disease : An Ongoing Challenge in Public Health.' Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International, 1–9.

Kennedy, J; Blair, D.A; McDowell, D.A 2005. 'An investigation of the thermal inactivation of *Staphylococcus aureus* and the potential for increased thermotolerance as a result of chilled storage' *The National Food Centre*, Available at
<https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.2005.02697.x>
[Accessed 20/10/2021]

Koblitz, M.G.B 2011 '*Matéria-prima alimentícias: composição e controle de qualidade*' Rio de Janeiro/Brasil, Editora Guanabara Koogan.

Kretser A., Dunn C., DeVirgiliis R., Levine K. 2014. 'Utility of a food value analysis application para avaliar trade-offs ao fazer seleções de alimentos'. *Nutr. Hoje*. 49 : 185–195.

Le Loir Y, Barão F, Gautier M 2003. 'Staphylococcus aureus e intoxicação alimentar.' *Genet Mol* 2 (1): 63-76.

Malheiros, P.S; Paula, C.M.D; Tondo, E.C; 2007. 'Growth kinetics of Salmonella Enteritidis involved in outbreaks of foodborne illness in Rio Grande do Sul, southern Brazil: a comparison with other serovar strains' *Food Sci. Technol* 27 (4)

Maincent-Morel, M. 2007. '*Manual de Cozinha. Fichas Técnicas*'. Lisboa: Porto editora, p. 461.

Majowicz SE, Musto J, Scallan E, Angulo FJ, Kirk M, O'Brien SJ, Jones TF, Fazil A, Hoekstra RM, 2010. 'A carga global da gastroenterite não tifóide por Salmonella'. *Clin Infect Dis*. 50 (6): 882-9.

Marinho, J. D. (2018). *Tourism In Portugal: Dynamics, Persistence and Impact*. Lisboa: NOVA School of Business and Economics.

Moffatt CR, Appuhamy R., Kaye A., Carswell A., Denehy D. 2012 'Um surto de *Salmonella* Typhimurium fago tipo 135a gastroenterite ligada a ovos servidos num café *Commun do Território da Capital Australiana*'. *Dis. Intell. Quart. Rep.*; **36**: E281 – E285.

Moffatt CR, Musto J. 2013. '*Salmonella* and egg-related outbreaks'. *Microbiol.* 34 : 94–98.

Namata H, Méroc E, Aerts M, Faes C, Abrahantes JC, Imberechts H, Mintiens K 2008. '*Salmonella* em galinhas poedeiras belgas: uma identificação de fatores de risco'. *Prev Vet Med.* 83 (3-4): 323-36.

NSW Food Authority. '*Microbiological Quality of High Risk Bakery Products. A survey to determine the microbiological quality of bakery products sold in NSW*' Available at https://www.foodauthority.nsw.gov.au/sites/default/files/_Documents/scienceandtechnical/bakery_products.pdf

[Accessed 15/10/2021]

Organização Pan-Americana da Saúde/Organização, Mundial da Saúde (OPAS/OMS), Agência Vigilância Sanitária (Anvisa), 2006. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 3ª Edição, Brasília, Brasil.

Paula, C.M.D; Mariot, R.F.; Tondo, E.C. 2005. '*INATIVAÇÃO TÉRMICA DE SALMONELLA ENTERITIDIS POR MÉTODOS DE FERVURA E FRITURA DE OVOS*'. *Journal food safety*. Available at <https://doi.org/10.1111/j.0149-6085.2005.25555.x>

[Accessed 20/10/2021]

PNPAS - Programa Nacional para Promoção e Alimentação Saudável – Ovos. Available at <https://alimentacaosaudavel.dgs.pt/alimento/ovos/> . [Accessed 30/09/2021]

PORTARIA Nº 1, de 21 de fevereiro de 1990, '*NORMAS GERAIS DE INSPEÇÃO DE OVOS E DERIVADOS*' Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento [MAPA] / Brasil.

Probac do Brasil. (1985). Escala Nefelométrica de McFarland. In *Nefeloblac*

Quivy, R., Champenhoudt, L.V.,1998. 'Manual de Investigação em Ciências Sociais', Edições Gradativa, Lisboa

Roberts, C. 2001. 'An Overview of Food Safety. In C. Roberts, The Food Safety' Information Handbook (pp. 3-32). Orix Press.

Spinks, A.T et al. 2006 'Thermal inactivation of water-borne pathogenic and indicator bacteria at sub-boiling temperatures.' Water Research, New York, v40, n6, p1326-1332.

Stewart, C; Cole, MB; Schaffner, D 2003. 'Managing the risk of staphylococcal food poisoning from cream-filled baked goods to meet a food safety objective' Journal of food protection. Available at <https://www.semanticscholar.org/paper/Managing-the-risk-of-staphylococcal-food-poisoning-Stewart-Cole/ce75580444d0cd39c167343a04f75dd80b3dbf17> [Accessed 30/10/2021]

Syne SM, Ramsubhag A, Adesiyun AA 2013. 'Análise de risco microbiológico de carnes prontas para consumo processadas em uma fábrica de alimentos em Trinidad, Índias Ocidentais'. Infect Ecol Epidemiol.

Tondo, E.C; Bartz, S 2017 ' Microbiologia e sistemas de gestão da segurança de alimentos' Porto Alegre / Brasil. Editora Sulina, 263p.

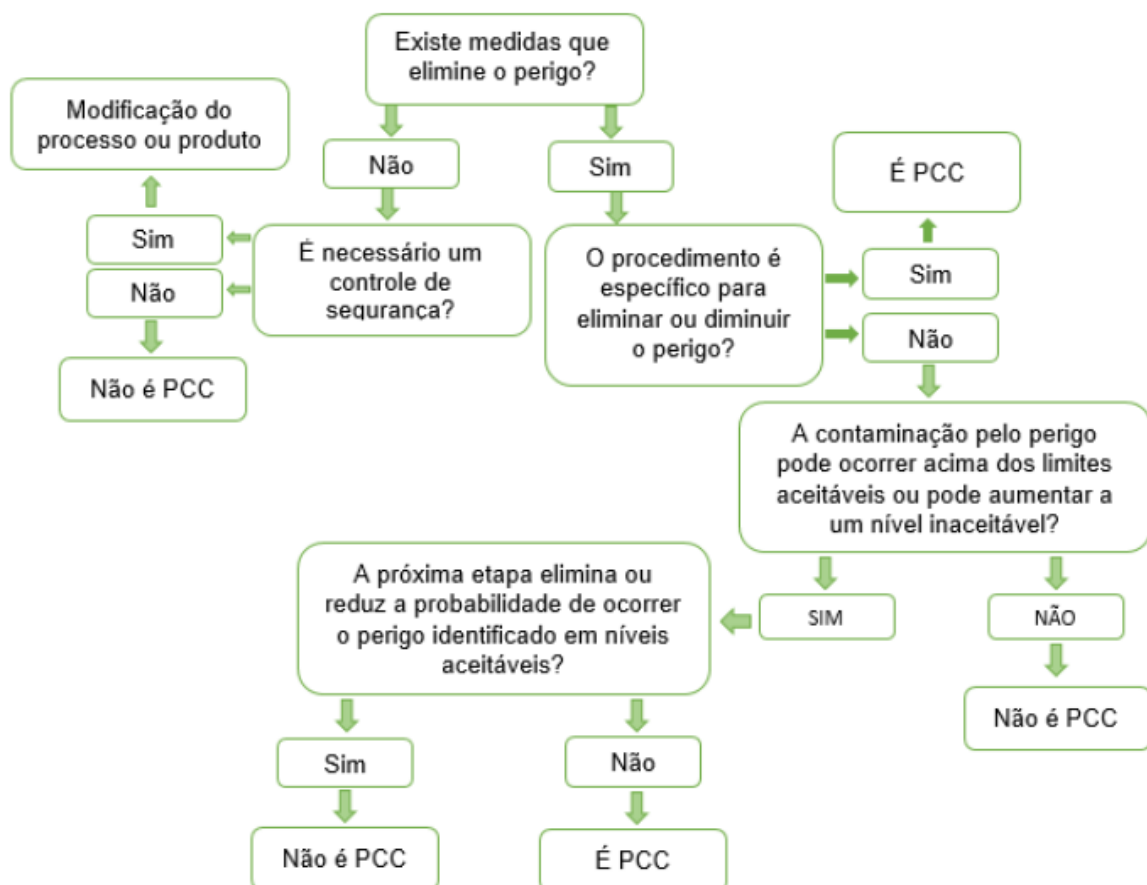
United States Department of Agriculture - USDA 2013. 'Whole eggs'. Available at <http://www.ams.usda.gov/sites/default/files/media/FPPS%20-297%20Whole%20Eggs%20May%202015%20FINAL%2006-24-1515.pdf>. [Accessed 30/10/2021]

Viegas, S. J. 2010. 'Alterações do Estado de Saúde Associadas à Alimentação - Contaminação Microbiológica de Alimentos. Instituto Nacional de Saúde – INSA'. Available at [http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/143/1/Alteracoes_Saude_Alimentacao .pdf](http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/143/1/Alteracoes_Saude_Alimentacao.pdf) [Accessed 12/09/2021].

Wales AD, Davies RH 2011.' Uma revisão crítica da infecção por Salmonella Typhimurium em galinhas poedeiras'. Avian Pathol. 40 (5): 429-36.

Anexo 1

Árvore decisória



Anexo 2

Identificação do PCC biológico para o processo produtivo das sobremesas mousse de chocolate e doce de vinagre

Etapa	Origem e descrição do perigo	Risco	Árvore Decisória				
			P1	P2	P3	P4	PCC?
1 - Recepção Matéria- prima	Enterobactérias patogênicas Salmonella sp; Staphylococcus aureus	Significaivo	S	N	S	S	Não
2 - Armazenamento	Enterobactérias patogênicas Salmonella sp; Staphylococcus aureus	Significaivo	S	N	S	S	Não
3 - Tratamento térmico Brando	Enterobactérias patogênicas Salmonella sp; Staphylococcus aureus	Significaivo	S	S			Sim