



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

**Centro de Ciências Agrárias
Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos**

MICHELLE DE MEDEIROS CARVALHO

**IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA APTIDÃO
TECNOLÓGICA DE ESPÉCIES DE ÁCAROS
PRESENTES EM QUEIJOS MATURADOS
BRASILEIROS**

**FLORIANÓPOLIS
SANTA CATARINA – BRASIL
FEVEREIRO - 2018**

Michelle de Medeiros Carvalho

**IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA APTIDÃO
TECNOLÓGICA DE ESPÉCIES DE ÁCAROS
PRESENTES EM QUEIJOS MATURADOS
BRASILEIROS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito final para a obtenção do título de Mestrado em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner

**FLORIANÓPOLIS
SANTA CATARINA – BRASIL
FEVEREIRO - 2018**

Carvalho, Michelle de Medeiros

Identificação e Avaliação da Aptidão Tecnológica de Espécies de Ácaros Presentes em Queijos Maturados Brasileiros / Michelle de Medeiros Carvalho ; orientador, Juliano De Dea Lindner, 2018.

115 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Ciência dos Alimentos. 2. Queijos Maturados .
3. Ácaros em Queijos. 4. Queijos Artesanais. 5. Segurança dos Alimentos. I. Lindner, Juliano De Dea. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

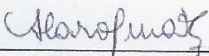
**IDENTIFICAÇÃO E AVALIAÇÃO DA APTIDÃO
TECNOLOGICA DE ESPÉCIES DE ÁCAROS PRESENTES
EM DIFERENTES QUEIJOS MATURADOS BRASILEIROS**

Por

Michelle de Medeiros Carvalho

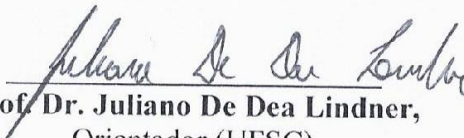
Esta DISSERTAÇÃO foi julgada adequada para obtenção do Título de “MESTRADO em Ciência dos Alimentos”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 16 de fevereiro de 2018

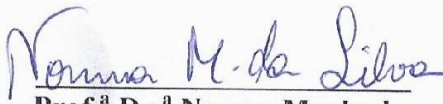


Prof.ª Dr.ª Ana Carolina de Oliveira Costa
Coordenadora

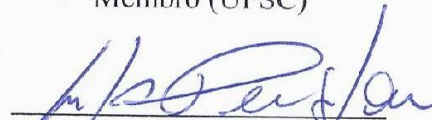
Banca Examinadora:



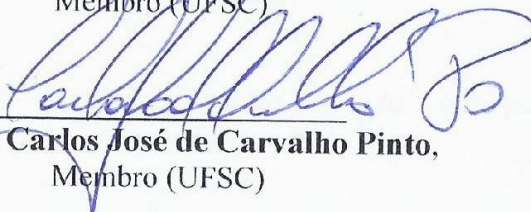
Prof. Dr. Juliano De Dea Lindner,
Orientador (UFSC)



Prof.ª Dr.ª Norma Machado,
Membro (UFSC)



Prof. Dr. Carlos Peres Silva,
Membro (UFSC)



Prof. Dr. Carlos José de Carvalho Pinto,
Membro (UFSC)

*À minha família por toda a base para a
efetivação desse trabalho.*

AGRADECIMENTOS

Ao professor orientador Juliano De Dea Lindner por todo o apoio, parceria e amizade.

Aos professores e pesquisadores que colaboraram e acreditaram nessa empreitada: André Matioli, Célia Lúcia de Luces Fortes Ferreira, Eugênio Eduardo Oliveira e Norma Machado.

Aos produtores e maturadores (co-pesquisadores) que participaram e vibraram junto com as descobertas realizadas neste trabalho: Allan Silva, Breno Cersosimo, Bruno Cabral, Bruno Garcia, Wellington Casquinha, Falco Bonfadini, Fernando Oliveira, Igor Messias, João Bello, João José, Moisés A. Barbosa, Pedro Delgado, Tiago Pascoal, Túlio Madureira e Valéria Oliveira.

Ao mito Daniel Strongin pelos "*helps*" de sempre.

Ao Sérgio de Souza por todas orientações concedidas no decorrer do mestrado.

À Débora Pereira pelas imagens cedidas.

À CAPES e à UFSC pela viabilização da realização deste trabalho.

A todos que de alguma maneira colaboraram para a efetivação deste trabalho.

"...Pode ser branco, amarelo, vermelho, mofado branco, mofado azul, com leveduras, com ácaros. Mas é da França? Não..... É o queijo artesanal brasileiro na sua essência de maturação, na sua mais pura natureza fértil. Mas por que isso apareceu só agora? Porque sua natureza foi calada por décadas presa em sacos plásticos e escondidos nas entranhas de Minas (Gerais). Sabem qual é a diferença do nosso queijo artesanal para o francês que é consumido no mundo inteiro? Só uma, eles são protegidos por uma legislação dignamente apropriada, pelo seus representantes políticos e pelo povo francês, enquanto o nosso é sufocado em um saco plástico junto com as palavras e a vida humilde de seus produtores..."

Túlio Madureira
Produtor de Queijo Artesanal Maturado com Ácaros

CARVALHO, Michelle de Medeiros, M.S., Universidade Federal de Santa Catarina, fevereiro de 2018. **Identificação e Avaliação da Aptidão Tecnológica de Espécies de Ácaros Presentes em Queijos Maturados Brasileiros**. Orientador: Juliano De Dea Lindner.

RESUMO

Ácaros de produtos estocados são relatados na literatura tanto como um problema (i.e., causando perdas econômicas significativas e redução da qualidade) ou como adjuvantes tecnológicos (i.e., proporcionando características de sabores específicos e desejáveis para certos tipos de queijos). A produção de queijos com ácaros tem ganhado novos adeptos no Brasil, porém é feita de forma empírica e sem suporte legislativo. Neste contexto, este estudo sumariza a produção, a identificação taxonômica disponível de ácaros de queijos conhecidos e os possíveis problemas de saúde relacionados ao

consumo dos ácaros associados a esses queijos no mundo através de uma revisão bibliográfica. Além disso, este trabalho também descreve a tecnologia aplicada pelos fabricantes de queijos brasileiros que encontraram ou realizam a maturação do queijo com ácaros intencionalmente e identifica as espécies de ácaros presentes em queijos brasileiros através de análises taxonômicas e moleculares. Os ácaros presentes nos queijos brasileiros estudados são predominantemente *Tyrophagus putrescentiae*. Além dessa espécie, *Sancassania* aff. *feytaudi* foi identificada. Futuros estudos serão necessários para comprovar a aptidão tecnológica dos ácaros para a fabricação de queijos.

Palavras-chaves: ácaros do queijo; *Tyrophagus putrescentiae*; *Sancassania*, controle de ácaros; *Mimolette*; *Milbenkäse*.

CARVALHO, Michelle de Medeiros, M.S., Federal University of Santa Catarina, February, 2018. **Identification and Evaluation of Technological Aptitude of Mite Species Present in Brazilian Ripened Cheeses.** Adviser: Juliano De Dea Lindner

ABSTRACT

Stored products mites have been reported in the literature either as a problem (e.g., causing significant economic losses and reducing quality) or as ripening adjuvants (e.g., providing specific and desirable flavor characteristics to certain cheese types). The production of mite-containing cheeses has gained new adepts in Brazil however it is done empirically and without legislative support. Thus, this study has attempted to summarize the production, available taxonomic identity of known cheese mites and possible health problems related to the consumption of the mites associated with these cheeses in the world through a bibliographic review. Furthermore, this

work also describes the technology applied by the brazilians cheese-makers who have found or conduct the cheese ripening with mites and identifies the species of mites present in brazilian cheeses through taxonomic and molecular analyzes. The mites present in brazilian studied cheeses are predominantly *Tyrophagus putrescentiae*. In addition to this specie, *Sancassania aff. feytaudi* were identified. More studies need to be performed to prove the use of mites as technological support to cheese-making.

Keywords: cheese mites; *Tyrophagus putrescentiae*; *Sancassania*, mite control; *Mimolette* cheese; *Milbenkäse* cheese.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO GERAL | 01 |
| CAPÍTULO I | 03 |
| 2 ÁCAROS DE ESTOCAGEM NA MATURAÇÃO DE QUEIJOS: ASPECTOS DE SAÚDE, TECNOLOGIA E MUDANÇAS REGULATÓRIAS NO BRASIL. | 03 |
| 2.1 INTRODUÇÃO | 03 |
| 2.2 MATERIAL E MÉTODOS | 08 |
| 2.3 REVISÃO LITERÁRIA | 09 |
| 2.3.1 O aparecimento dos ácaros nos queijos | 09 |
| 2.3.2. Ácaros do queijo: perdas econômicas | 13 |
| 2.3.3. Ácaros de estocagem como coadjuvante tecnológico de produção de queijos | 19 |
| 2.3.4. A biologia dos ácaros infestantes de queijo em indústrias de laticínios e o potencial controle de suas infestações | 24 |
| 2.3.5. Riscos para a saúde do consumidor na ingestão de ácaros ou manuseio de queijos com ácaros | 33 |
| 2.3.6. Aspectos regulatórios de ácaros em queijos | 36 |
| 2.4 CONCLUSÃO | 42 |
| CAPÍTULO II | 46 |
| 3 MATURAÇÃO DE QUEIJOS COM ÁCAROS NO BRASIL | 46 |
| 3.1 INTRODUÇÃO | 46 |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS | 50 |
| 3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 51 |

| | |
|---|-----|
| 3.4 CONCLUSÃO | 60 |
| MATERIAL COMPLEMENTAR - CAPÍTULO II | 61 |
| CAPÍTULO III | 65 |
| 4 DIVERSIDADE DE ÁCAROS (ACARI) PRESENTES EM QUEIJOS BRASILEIROS MATURADOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR | 65 |
| 4.1 INTRODUÇÃO | 65 |
| 4.2 MATERIAL E MÉTODOS | 70 |
| 4.2.1 Protocolo de coleta de amostra de ácaros em queijo | 70 |
| 4.2.2 Origem das amostras de queijos | 72 |
| 4.2.2 Identificação dos ácaros | 73 |
| 4.2.2.1 Identificação morfológica | 73 |
| 4.2.2.2 Identificação molecular | 74 |
| 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 78 |
| 4.3.1 Protocolo de coleta de amostras de ácaros em queijos | 78 |
| 4.3.2 Identificação taxonômica dos ácaros | 80 |
| 4.4 CONCLUSÃO | 90 |
| MATERIAL COMPLEMENTAR - CAPÍTULO III | 93 |
| 5 CONCLUSÕES GERAIS | 99 |
| 6 REFERÊNCIAS | 101 |

1 INTRODUÇÃO GERAL

A presença de ácaros em queijos é relatada na literatura tanto quanto um problema tecnológico (ROBERTSON, 1952; AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007) quanto como um coadjuvante tecnológico (BRUCKNER; HEETHOFF, 2016). No Brasil, a técnica de maturação de queijos com ácaros é recente, realizada de forma empírica e sem amparo legal.

Neste contexto, este estudo reúne informações a respeito da presença dos ácaros em conhecidos queijos do mundo, além de demonstrar a tecnologia aplicada no Brasil, bem como identificar as espécies presentes nos queijos brasileiros.

Dividido em três capítulos, o primeiro apresenta uma revisão bibliográfica sobre a produção, espécies de ácaros identificadas em queijos, riscos associados ao consumo de queijos com ácaros e questões regulatórias em diferentes partes do mundo. O segundo capítulo apresenta a produção tecnológica de maturação de queijos com ácaros aplicada no Brasil e o terceiro identifica as espécies de ácaros presentes em queijos brasileiros através de análises taxonômica e molecular.

CAPÍTULO I

Artigo publicado na revista Journal of Stored Products Research: Stored products mites in cheese ripening: health aspects, technological and regulatory challenges in Brazil.

2 ÁCAROS DE ESTOCAGEM NA MATUREZAÇÃO DE QUEIJOS: ASPECTOS DE SAÚDE, TECNOLOGIA E MUDANÇAS REGULATÓRIAS NO BRASIL.

2.1 INTRODUÇÃO

Os ácaros presentes em queijos e em outros produtos alimentares são conhecidos como ácaros de estocagem e são mais comumente encontrados em áreas rurais (ROBERTSON, 1952; DAWOOD; ALI, 2015; VOGEL; DAL BOSCO; FERLA, 2015). Apesar de sua prevalência em grãos

armazenados, é possível encontrar ácaros de estocagem em outros alimentos (*i.e.* queijos e presuntos crus) (BELL, 2014). Na produção de queijos, a infestação por ácaros tem sido observada durante o processo de maturação, uma condição associada com a exposição do queijo em um ambiente contaminado por ácaros (DEONG; ROADHOUSE, 1922; ROBERTSON, 1952). Os ácaros do queijo são encontrados na superfície dos mesmos com um desenvolvimento de um pó marron fino composto por ácaros vivos e mortos, resíduos de queijo e excrementos de ácaros (DEONG; ROADHOUSE, 1922).

Alguns dos ácaros já relatados em queijos, como *Tyrophagus putrescentiae* e *Acarus siro* (AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007; MELNYK

et al., 2010), são micófagos e sua capacidade de digerir os fungos são determinadas de acordo com as propriedades das enzimas digestivas de cada espécie de ácaro (HUBERT et al., 2004; MARCELLINO; BENSON, 2013). Além disso, durante a maturação, uma relação de simbiose é observada entre ácaros e fungos tendo em vista que os ácaros realizam fissuras no queijo, permitindo a penetração dos fungos no interior da peça (MARCELLINO; BENSON, 2013; PEACE, 1983). Estudos realizados têm observado a infestação em queijos por mais de uma espécie de ácaros e, em determinados estágios da maturação, é possível encontrar apenas uma espécie, ou seja, a que melhor se adaptou às condições ambientais a qual o

queijo foi exposto (ROBERTSON, 1952; SÁNCHEZ-RAMOS; CASTAÑERA, 2007).

Os ácaros presentes nos queijos são, na maioria das vezes, associados com perdas econômicas de produção ou com problemas de saúde (DEONG; ROADHOUSE, 1922; DOUWLING; THOMAS, 1942; ROBERTSON, 1952; BELL, 2014). No entanto, Bruckner e Heethoff (2016) relatam ações benéficas dos ácaros com relação ao aroma e sabor em queijos tradicionais que são maturados com ácaros como, por exemplo, os queijos francês *Mimolette* e alemão *Milbenkäse*.

Considerando a grande produção de queijos maturados de todo o mundo, o número de estudos publicados sobre a presença de ácaros em queijos é

surpreendentemente pequena em razão da grande susceptibilidade de ocorrência deste tipo de infestação e ao risco econômico que representa às indústrias de laticínios. Algumas investigações descrevem procedimentos que favorecem ou impedem o desenvolvimento dos ácaros nos queijos e a ocorrência das espécies encontradas (Tabela 1). O *know-how* sobre a produção com sucesso de queijos de ácaros no Brasil foram completamente negligenciados pelo estado da arte. O presente trabalho representa os esforços pioneiros tentando resumir problemas potenciais relacionados ao aumento da produção e comercialização de queijos contendo ácaros no Brasil. Foram descritos os desafios tecnológicos (espécies de ácaros e outras condições de instalações a serem utilizadas) e

aspectos regulatórios (leis claras baseadas em limiares precisos de infestações de ácaros permitidos) envolvidos na produção desses tipos de queijo no Brasil.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta revisão sistêmica não foram utilizadas técnicas estatísticas (meta-análise) para combinar os resultados dos estudos elegíveis. Foi realizada uma extensa pesquisa bibliográfica durante o ano de 2017 utilizando os sistemas de busca (*Web of Science*, *Scopus* e *Google Scholar*) que acessam referências e bancos de dados diversos sobre ciência dos alimentos e acarologia. As seguintes palavras-chave (em inglês e português) foram usadas na pesquisa: ácaros de produtos estocados,

ácaros em queijos, maturação de queijos, ácaros em produtos lácteos e ácaros em alimentos, além de consultas em legislações. Os títulos e resumos dos artigos encontrados na pesquisa foram verificados em relação aos critérios gerais de elegibilidade e relevância.

2.3 REVISÃO LITERÁRIA

2.3.1 O aparecimento dos ácaros nos queijos

Com exceção dos frescos, durante sua produção, os queijos são submetidos ao processo de maturação que consiste em uma série de mudanças físicas, químicas e microbiológicas ocasionadas, principalmente, pelas ações das enzimas dos microrganismos presentes (ALMENA-ALISTE;

MIETTON, 2014). Depois dessas mudanças, os queijos, inicialmente compactos e sem sabor, modificam sua composição, estrutura, aparência, textura e cor e, simultaneamente, desenvolvem sabores desejáveis e característicos para cada tipo (DE DEA LINDNER et al., 2008). Embora alguns queijos artesanais brasileiros são maturados sem o controle da temperatura e umidade ambiental, os processos de maturação consistem em manter os produtos em câmaras frias com temperatura e umidade controladas durante um certo período de tempo com o objetivo de obter as características desejáveis (DORES; NOBREGA; FERREIRA, 2013; MARTINS et al., 2015). Durante a maturação é comum a ocorrência de eventos inesperados como a presença de um pó castanho na

superfície dos queijos. Este pó caracteriza a infestação dos queijos durante a maturação (BELL, 2014).

A presença dos ácaros em queijos não é algo incomum e, na maioria das vezes, é indesejável. Como pragas, os ácaros possuem vantagens em relação a outros contaminantes alimentares por possuírem um ciclo de desenvolvimento rápido, com uma grande reprodução e maior tolerância a temperaturas adversas (CONYERS; BELL, 2003; SÁNCHEZ-RAMOS; CASTAÑERA, 2007). Embora a grande maioria dos ácaros se desenvolvam melhor em temperaturas entre 27 - 29 °C, alguns trabalhos demonstraram uma variável temperatura de sobrevivência e atividades de diferentes ácaros

encontrados em queijos (SÁNCHEZ-RAMOS; ÁLVAREZ-ALFAGEME; CASTAÑERA, 2007a; SÁNCHEZ-RAMOS; CASTAÑERA, 2007, 2009). Diferentes espécies de ácaros têm preferências por diversos habitats e, devido à sua alta resistência às mudanças ambientais, quando instalados, são difíceis de serem eliminados (SINHA, 1979).

As variações de temperatura e umidade durante o armazenamento, bem como a diversidade e a abundância de espécies de fungos geralmente presentes na superfície dos queijos, foram descritos como fatores potenciais para a infestação dos ácaros em queijos (MARCELLINO; BENSON, 2013). A presença dos ácaros nos alimentos está geralmente relacionada com perdas econômicas, com exceção de circunstâncias especiais em que,

em alguns tipos de queijos, os ácaros são responsáveis por sabores desejáveis (SANCHEZ-RAMOS et al., 2007; BRUCKNER; HEETHOFF, 2016).

2.3.2. Ácaros do queijo: perdas econômicas

Ao proporcionar condições ideais para o desenvolvimento de certos artrópodes (i.e., insetos, ácaros), o armazenamento de produtos alimentares (i.e., grãos, sementes, queijo) se mostrou um facilitador para o desenvolvimento de ácaros (CONYERS; BELL, 2003; BRAZIS et al., 2008). De fato, para os grãos armazenados, os ácaros representam uma alta porcentagem de contaminação de grãos, contribuindo substancialmente para perdas econômicas (SINHA,

1979). Os ácaros de armazenamento são onipresentes e suas infestações também comprometem a produção de queijo (ROBERTSON, 1952; SÁNCHEZ-RAMOS; CASTAÑERA, 2009; DAWOOD; ALI, 2015). Investigações conduzidas por Eales (1917) demonstram os primeiros trabalhos sobre infestações de ácaros como agente de perdas econômicas em produções de queijos. Depois desse trabalho pioneiro, algumas espécies de ácaros (e.g., *Carpoglyphus sp.*, *Tyroglyphus siro*, *Tyroglyphus longior*, *Aleurobius farinae*) têm sido relatadas em variados tipos de queijos pelo mundo, especialmente no continente europeu (Table 1).

Os ácaros identificados como *Carpoglyphus sp.* e diferentes espécies de

Tyroglyphus e *Tyrophagus* foram relatadas nos Estados Unidos da América (EUA) (DEONG; ROADHOUSE, 1922) e Nova Zelândia (ROBERTSON, 1946). No Reino Unido, Douwling e Thomas (1942) e Wilkin (1973) relataram a presença de *Tyroglyphus longior* variedade *castellanii* e outras espécies de ácaros de queijos. Peace (1983) indicou a presença de *A. siro* infestando uma câmara de maturação de queijo *Cheddar* em temperaturas entre 11 e 13 °C e umidade relativa (UR) entre 85 e 88 %. O trabalho também enfatizou que a presença do fungo *Penicillium verrucosum* facilitou a multiplicação desse ácaro. Duas espécies de ácaros (i.e., *A. farris* e *T. neiswanderi*) foram detectadas no queijo *Cabrales*, um queijo azul que possui Denominação

de Origem Protegida (DOP), produzido com o fungo *Penicillium roqueforti*, que matura em torno de quatro meses em temperaturas ótimas para infestação de ácaros (i.e., entre 7 e 13 °C em 90 % UR) em câmaras de maturação naturais da comunidade autônoma da Asturias na Espanha (SÁNCHEZ-RAMOS; ÁLVAREZ-ALFAGEME; CASTAÑERA, 2007a).

Investigações conduzidas por Dawood e Ali (2015) revelaram que o queijo *Ras*, um queijo artesanal do Egito com uma maturação superior a quatro meses, demonstrou a presença de *A. siro* como a espécie de infestação predominante. Já investigações conduzidas no queijo *Surk* reportou a presença de outras espécies de ácaros (*T. putrescentiae*) em 8 % das 540 amostras analisadas

(AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007). Este queijo turco é produzido com leite desnatado adicionado de iogurte e é consumido fresco ou após maturação mínima de 20 dias em temperatura ambiente, condições que permitem o desenvolvimento de fungos e surgimento de ácaros (AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007).

Enquanto os ácaros são considerados um problema durante a maturação de diversos queijos, existem queijos que a presença dos ácaros é desejável para aquisição de uma característica desejável no produto final, como os queijos *Mimolette* e *Milbenkäse* (Tabela 1). *Mimolette* é intencionalmente maturado com *A. siro* enquanto *Milbenkäse* com *Tyrolichus casei* (MELNYK et al., 2010).

Tabela 1. Espécies de ácaros identificadas em queijos.

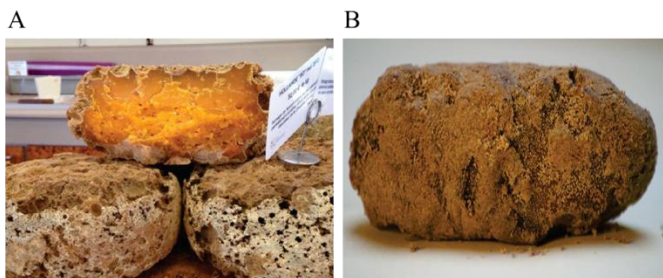
| Queijo | País | Espécies de Ácaros | Referências |
|--------------|----------------|--|---|
| Stilton | Inglaterra | <i>Tyroglyphus siro</i> (<i>sinonímia Acarus siro</i>), <i>Tyroglyphus longior</i> e <i>Aleurobius farinae</i> | (EALES, 1917) |
| Cheddar | Inglaterra | <i>Carpoglyphus</i> sp., <i>Tyroglyphus siro</i> (<i>sin. Acarus siro</i>), <i>Tyroglyphus longior</i> e <i>Aleurobius farinae</i> | (EALES, 1917) |
| Desconhecido | Estados Unidos | <i>Tyroglyphus siro</i> (<i>sin. Acarus siro</i>), <i>Tyroglyphus limneri</i> , <i>Tyrophagus farinae</i> , <i>Tyrophagus longior</i> , <i>Tyrophagus terminalis</i> e <i>Carpoglyphus</i> sp. | (DEONG; ROADHOUSE, 1922) |
| Desconhecido | Reino Unido | <i>Tyroglyphus longior</i> var. <i>Castellani</i> | (DOUWLING; THOMAS, 1942) |
| Desconhecido | Nova Zelândia | <i>Tyrophagus longior</i> , <i>Tyrollichus casei</i> , <i>Tyroglyphus farinae</i> , <i>Glycyphagus domesticus</i> e <i>Glycyphagus destructor</i> | (ROBERTSON, 1946) |
| Desconhecido | Reino Unido | <i>Acarus siro</i> , <i>Acarus chaetoxysilos</i> , <i>Acarus farris</i> e <i>Tyrophagus longior</i> | (WILKIN, 1973) |
| Cheddar | Canadá | <i>Acarus siro</i> | (PEACE, 1983) |
| Surk | Turquia | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | (AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007) |
| Cabrales | Espanha | <i>Acarus farris</i> e <i>Tyrophagusneis wanderi</i> | (SÁNCHEZ-RAMOS; ALVAREZ-ALFAGEME; CASTAÑERA, 2007b) |
| Milbenkäse | Alemanha | <i>Tyrollichus casei</i> * | (MELNYK et al., 2010) |
| Mimolette | França | <i>Acarus siro</i> * | (MELNYK et al., 2010) |
| Ras | Egito | <i>Acarus siro</i> , <i>Acarus farris</i> e <i>Carpoglyphus lactis</i> | (DAWOOD; ALI, 2015) |

* A presença dos ácaros são desejáveis para o efeito no sabor desses queijos.

2.3.3. Ácaros de estocagem como coadjuvante tecnológico de produção de queijos

Na maioria das vezes os ácaros dos queijos são indesejáveis, porém, para alguns queijos eles são considerados um coadjuvante tecnológico, desempenhando papéis essenciais nos processos de maturação necessários à conquista de sabores desejáveis, similarmente ao que acontece com os conhecidos queijos *Milbenkäse* e *Mimolette* (Fig. 1). Os ácaros presentes nesses queijos são responsáveis por uma produção de um sabor característico de óleo essencial de limão (*Citrus limon*) e, também, outros compostos voláteis (BRUCKNER; HEETHOFF, 2016).

Figura 1. Queijos *Mimolette* (A) e *Milbenkäse* (B).



Fonte: Débora Pereira (A) e Wikipédia (B)

O francês Queijo *Mimolette* (Fig. 1A) é originalmente produzido com leite cru de vaca. É caracterizado por possuir um sabor frutado, uma cor laranja (devido a adição de corante), formato esférico com aproximadamente 20 cm de diâmetro, casca irregular cinzenta e maturação em um período de aproximadamente seis semanas em câmaras de maturação naturais contendo ácaros da espécie *A. siro* (FRANCE, 2017). O queijo

Milbenkäse (Fig. 1B), que significa em alemão "queijo com ácaros", é um queijo tradicional e centenário produzido em pequena escala a partir de queijo *Quark* temperado e salgado (HERRMANN, 2005). Depois de dessorado, o queijo *Quark* é transferido para caixas de madeira contendo farinha de centeio infestada com ácaros da espécie *T. casei*. O queijo matura neste ambiente em um período de três a seis semanas, desenvolvendo uma casca marrom avermelhada (HERRMANN, 2005).

Com o crescente intercâmbio de conhecimentos entre queijeiros europeus e do neotrópico, especialmente do Brasil, produtores de queijo artesanal vêm aderindo às técnicas de maturação de queijos com ácaros. No entanto, a produção brasileira de queijos com ácaros é

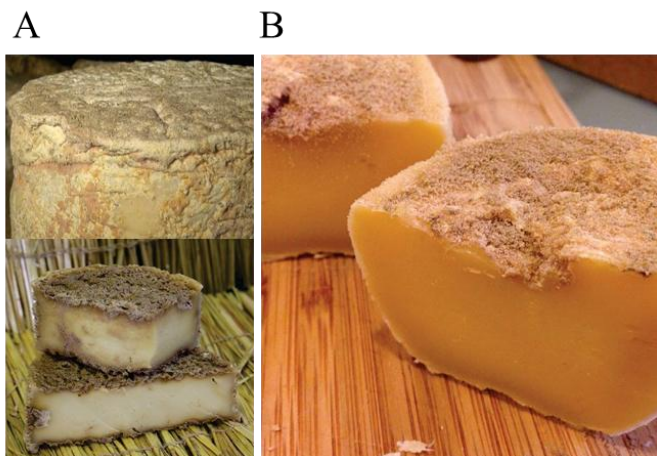
baseada principalmente em procedimentos empíricos.

De acordo com o relato de queijeiros brasileiros, durante a maturação ocorre inicialmente o desenvolvimento dos mofos ambientais na superfície dos queijos. Estes mofos consistem, portanto, como fontes de alimento iniciais para os ácaros presentes no ambiente, consumindo inicialmente todo esse mofo, ou grande parte dele, multiplicando-se velozmente, especialmente em câmaras de maturação naturais que possuem temperaturas mais elevadas, e iniciando o consumo da própria matriz de queijo.

Como esses ácaros locais ainda não foram identificados e estudados, os potenciais riscos associados na manipulação ou ingestão desses

queijos com ácaros são desconhecidos, demonstrando uma necessidade de investigações mais específicas sobre o tema. Embora não seja suficiente abordar os problemas legislativos e de saúde humana na região neotropical, queijeiros brasileiros chegaram a enviar alguns queijos para serem maturados na França utilizando os mesmos ambientes controlados utilizados para a produção do queijo *Mimolette* (Fig. 2), onde os ácaros da espécie *A. siro* são predominantes (MELNYK et al., 2010). No entanto, ainda são necessárias novas investigações toxicológicas para avaliar se o consumo de queijos contendo *A. siro* pode causar problemas de saúde para as populações das regiões neotropicais.

Figura 2. Queijo artesanal brasileiro maturado em câmaras de maturação naturais do queijo francês *Mimolette* (A). Queijo artesanal brasileiro maturados com ácaros no Estado de São Paulo (B).



Fonte: Débora Pereira (A) e Bruno Garcia (B)

2.3.4. A biologia dos ácaros infestantes de queijo em indústrias de laticínios e o potencial controle de suas infestações

Foi demonstrado que os manipuladores de queijo são os principais responsáveis pela presença

de ácaros nas câmaras de maturação, que ocorre através da contaminação de seus uniformes ou pouca higiene, principalmente das mãos, após o contato com o ambiente onde os ácaros estavam presentes (DEONG; ROADHOUSE, 1922).

A infestação ocorre pela deposição de ovos, que imediatamente começam o estágio larval para completar a formação do ácaro. O período de desenvolvimento entre o estágio de ovo e adulto depende das condições ambientais, especialmente da temperatura e umidade (ROBERTSON, 1952; SÁNCHEZ-RAMOS et al.; 2007a). Temperaturas de maturação em torno de 15 °C promovem uma maior proliferação de ácaros de armazenamento em queijos. Temperaturas mais baixas retardam o metabolismo e, conseqüentemente, bloqueiam o

desenvolvimento (SÁNCHEZ-RAMOS; ÁLVAREZ-ALFAGEME; CASTAÑERA, 2007b). Falhas na higiene das câmaras de maturação também favorecem o surgimento de ácaros ambientais (DEONG; ROADHOUSE, 1922).

Sánchez-Ramos et al. (2007a) descreveram taxas de desenvolvimento diversificadas entre as espécies de ácaros em diferentes condições de temperaturas de maturação do queijo *Cabrales*. As condições observadas poderiam explicar a maior abundância de *A. farris* em comparação com *T. neiswanderi*. Em uma umidade relativa de $90,0 \pm 5$ %, *A. farris* sobreviveu a temperaturas entre 7 e 29,7 °C, enquanto a sobrevivência de *T. neiswanderi* ocorreu entre 10 e 31 °C. Sánchez-Ramos e Castañera (2009) relataram que o método

mais eficiente para controlar a presença de *A. farris*, a principal espécie envolvida na infestação de queijo *Cabrales*, foi a redução da temperatura de 15 °C nas câmaras de maturação. A densidade dos ácaros diminuíram de 174 a 14 (a 6 °C), 11 (a 4 °C) e 1 (um) de ácaro / cm² (a 2 °C) com a redução da temperatura, embora o período de maturação tenha sido consideravelmente estendido. No mesmo trabalho, foram realizados testes de cobertura no queijo bem sucedidos com gorduras (na casca) para inibir a infestação de ácaros, mas essa prática afetou negativamente a aparência do queijo. Embora as avaliações tenham ocorrido em nível laboratorial, é possível relacionar-se com o ambiente de maturação de queijos, onde são usadas temperaturas e umidade controladas.

Quanto ao uso de substâncias químicas para controlar as infestações de ácaros nas instalações de alimentos, é importante enfatizar o risco de seleção de população de ácaros capazes de se tornarem resistentes às ações de acaricidas, especialmente quando essas substâncias são usadas inadequadamente (WILKIN, 1973). No entanto, investigações conduzidas por Abbar et al. (2017) mostraram resultados promissores para a eliminação de ácaros com pesticidas atualmente registrados para uso em indústrias de alimentos: deltametrina e clorpirifós metil, clorfenapir e malation (nomes comerciais). Clorfenapir pode ser aplicado em diversos materiais como metal, concreto e madeira e demonstrou um efetivo controle em ácaros de presunto, eliminando-os

totalmente do ambiente em um período de oito semanas. A aplicação de fumigantes sintéticos podem trazer resultados satisfatórios no controle de ácaros (DEONG; ROADHOUSE, 1922; ZHAO et al., 2015), mas seu uso é limitado em indústria de alimentos devido a produção de gás altamente tóxico para os manipuladores, alta corrosividade e, se usado incorretamente, sua substância tóxica pode migrar para o alimento (ZHAO et al., 2016b).

Além disso, pesquisas recentes descrevem o potencial uso de óleos essenciais extraídos de plantas como ferramentas alternativas para controlar infestações de ácaros em queijos. A aplicação por pulverização de óleo essencial de eucalipto (*Eucalyptus*) na embalagem de papel que cobriu o queijo *Ras* durante 30 dias de maturação

resultou no controle mais eficiente de *A. siro* em comparação a outros óleos essenciais, mas a presença do óleo alterou a avaliação sensorial do queijo (DAWOOD; ALI, 2015). Apesar das atividades acaricidas também eficazes, os óleos essenciais de cravo (*Syzygium aromaticum*) e alecrim (*Rosmarinus officinalis*) também afetaram negativamente o sabor do queijo *Ras* (DAWOOD; ALI, 2015).

Barreiras físicas no queijo, como ceras e polímeros, podem trazer resultados satisfatórios no controle de infestações de ácaros, reduzindo o uso de acaricidas químicos, tanto naturais quanto sintéticos (ROBERTSON, 1952; ZHAO et al., 2016b).

A aplicação de atmosfera controlada tem sido utilizada com eficiência contra ácaros em alimentos de *commodities* estocados e pode também ser um outro método de baixo risco para o controle de ácaros em queijos (MELNYK et al., 2010). Porém, são necessários mais estudos antes que a aplicação desta técnica assegure os melhores resultados em queijos (HASAN et al., 2016).

O uso de ozônio em câmaras de maturação de presunto defumado em uma concentração de 0,4 ppm, oito horas por dia, em um período de 30 dias foi suficiente para eliminar todos os ácaros presentes no ambiente (PIRANI; BERSANI; CANTONI, 2009), indicando o ozônio também como alternativa para o controle de ácaros em

câmaras de maturação de queijos, trabalhos ainda não existentes.

Todavia, dentre todas as formas de se controlar a ocorrência de ácaros em produtos armazenados, a mais eficiente é prevenir a infestação de ácaros através da implementação de boas práticas de fabricação (BPF), incluindo treinamento de manipuladores e higienização adequada e regular do local onde alimentos são mantidos durante o armazenamento. A atenção à higiene deve ocorrer antes de todos os esforços de tentativas de eliminação de infestações (ROBERTSON, 1952; VOGEL; DAL BOSCO; FERLA, 2015).

2.3.5. Riscos para a saúde do consumidor na ingestão de ácaros ou manuseio de queijos com ácaros

A presença de ácaros em queijos, em alguns casos, como discutido anteriormente, torna o alimento indisponível para consumo. Além disso, pode constituir para um risco para a saúde dos manipuladores nos laticínios e para o consumidor que ingere o alimento contaminado. Verificou-se que a ingestão e manuseio de ácaros podem causar uma série de problemas de saúde (ROBERTSON, 1952). Dowling e Thomas (1942) relataram que queijos contaminados com *T. longior* var. *castellanii* causaram dermatite no rosto e pescoço dos manipuladores. Para Vogel et al. (2015) o contato ou ingestão de ácaros ou seus excrementos

podem proporcionar a sensibilização de indivíduos suscetíveis, causando asma, conjuntivite, rinite alérgica, dermatite de contato, enterite e até mesmo choque anafilático.

Diversos estudos relataram problemas devido à presença de ácaros em grãos armazenados. Em um exemplo, quatro espécies de ácaros que são contaminantes de alimentos (*Dermatophagoides farinae*, *Suidasia* sp. prov. *pontifica*, *Tyrophagus entomophagus* e *T. putrescentiae*) foram identificados como alergênicos causadores de anafilaxia imediata após serem ingeridos em alimentos por indivíduos extremamente sensíveis (OLSEN, 1998). Uma revisão bibliográfica conduzida por Sánchez-Borges e Fernandez-Caldas (2015), sobre alergia do consumo de alimentos

contaminados com ácaros, relataram a ocorrência de choque anafilático na ingestão de panquecas contaminadas, sendo estes pertencentes às famílias Pyroglyphidae (*Dermatophagoides pteronyssinus* e *D. farinae*), Glycyphagidae (*Lepidoglyphus destructor*), Echimyopodidae (*Blomia tropicalis* e *Blomia freemani*), Acaridae (*Acarus ovatus*, *T. putrescentiae* e *T. entomophagus*) e Suidasiidae (*Suidasia medanensis*). Felizmente, Sánchez-Borges e Fernandez-Caldas (2015) não relatam nenhum caso de choque anafilático pelo consumo de queijos com ácaros e neste trabalho também não foi encontrada nenhuma informação neste sentido.

Para Vogel et al. (2015), poucas investigações avaliaram os efeitos da presença de ácaros nas mudanças na composição nutricional e

na qualidade dos alimentos. Por conseguinte, o risco potencial para a saúde humana associada à ingestão destes queijos de ácaros permanece largamente negligenciado.

2.3.6. Aspectos regulatórios de ácaros em queijos

A legislação sobre os ácaros na produção de queijo não é abundante e aparentemente não demonstra estar embasada em argumentos científicos. Com exceção de produtos para grãos armazenados, são poucos os países que possuem diretrizes e especificações para os problemas associados à produção ou ao consumo de ácaros em alimentos (Tabela 2).

Tabela 2. Legislação queijos com ácaros.

| Agência regulatória | Padrões | Referências |
|--|---|--|
| ANVISA (Brasil) | Maximo 25 ácaros para cada 225 g de queijo ou 5 ácaros em uma superfície de 2.5 cm ² em uma profundidade de 0,6 cm. | (BRASIL, 2014) |
| <i>Government of Canada</i> (Canada) | Em um universo de 3 amostras, apenas uma amostra pode conter entre 25 e 34 ácaros/225 g de queijo ou 5 ácaros em uma superfície de 2.5 cm ² em uma profundidade de 0,6 cm. | (CANADA, 2009) |
| <i>United States Department of Agriculture Agricultural</i> (Estados Unidos) | Ácaros são indesejáveis e devem ser identificados quando possível. | (FDA, 2017) |
| <i>European Food Safety Authority</i> (Comunidade europeia) | É permitido o uso de animais vivos na produção de alimentos para consumo humano. | (EUROPE, 2002) |
| França | É permitida a produção de queijos com ácaros sem o estabelecimento de limites. | (FRANCE, 2017) |
| <i>Codex Alimentarius</i> | Recomenda-se o uso de diferentes métodos para o controle de ácaros como produtos químicos (fumigação), biológicos, físicos (anaerobiose) ou refrigeração. | (CODEX ALIMENTARIUS, 1981, 1987, 2003) |

As legislações referentes à presença de ácaros em queijo não especificam quais espécies de ácaros são permitidos ou não, apenas determinam a quantidade tolerada nos produtos, quando este limite existe. Por outro lado, embora os regulamentos da *European Food Safety Authority* (EFSA) permita, pelo menos em teoria, a produção de queijos contendo ácaros, através do uso de animais vivos em alimentos para o consumo humano (o que incluiriam os ácaros) (EUROPE, 2002), o *Codex Alimentarius* não estabelece regras para a produção de queijos com ácaros, porém recomenda a utilização de diferentes métodos para evitar sua presença.

Na França, o queijo *Mimolette* é regularizado e tem permissão para ser produzido

(FRANCE, 2017). No entanto, para exportar, barreiras sanitárias impedem sua entrada em alguns países, como a proibição de queijos com ácaros imposta pelos Estados Unidos da América (FOOD-QUALITY, 2013; FRANCE, 2017). Porém, a maioria dos países que importam queijos *Mimolette*, incluindo o Brasil, não possuem uma legislação adequada para esse comércio. No Brasil, devido à falta de uma legislação específica, o queijo *Mimolette* pode ser importado mas, dentro do país importador, os queijos maturados com ácaros não podem ser produzidos (BRASIL, 2014).

A legislação brasileira para a produção ou para o comércio internacional de queijos contendo ácaros permanece largamente negligenciada. As regras em vigor apenas estabelecem um limite

máximo de tolerância para a presença de 25 ácaros mortos para cada 225 g de queijo ou cinco unidades de ácaros em uma superfície de 2,5 cm² até 0,6 cm de profundidade (BRASIL, 2014). Essa legislação não menciona a identificação taxonômica das espécies presentes no queijo e não considera a viabilidade do ácaro, estabelecendo apenas limites de contagem, significando que os ácaros nos queijos são considerados unicamente contaminantes. O *Codex Alimentarius* recomenda o uso de diferentes métodos para o controle de ácaros como produtos químicos (fumigação), biológicos, físicos (anaerobiose) ou refrigeração, significando também que os ácaros são considerados como um problema de contaminação (CODEX ALIMENTARIUS, 1981, 1987, 2003). A

legislação do Canadá é muito semelhante à legislação brasileira, acrescentando três queijos para amostragem, enquanto no Brasil é apenas um (CANADA, 2009; BRASIL, 2014). Nas demais legislações (Tabela 2) a presença de ácaros são indesejáveis mas, ao mesmo tempo, existem queijos com produção centenária utilizando ácaros como coadjuvante tecnológico (HERRMANN, 2005).

Embora no período de maturação, o queijo pode inicialmente ter uma alta contagem de ácaros, dependendo de como é armazenado, esta contagem pode ser reduzida a zero pela morte dos organismos e pela deterioração dos corpos na superfície do queijo, o que torna impossível a realização de uma contagem. Isso reflete uma incerteza sobre a

contagem fora dos limites que potencialmente existiram e a presença de proteínas potencialmente alergênicas de ácaros que podem estar presentes nos alimentos (SÁNCHEZ-RAMOS et al., 2007a). Portanto, se a proteína do ácaro realmente é alergênica, as pessoas alérgicas podem estar expostas a produtos que contenham ou que contiveram ácaros mas que, no momento da análise, não foi possível contá-los, sendo assim, essa metodologia não conseguirá proteger a saúde daqueles que consumam o produto.

2.4 CONCLUSÃO

Os ácaros que infestam queijos podem causar deterioração e perdas econômicas. No entanto, o mesmo tipo de ácaro causador de

infestação pode ser usado como um coadjuvante de maturação e determinar características desejáveis em queijos, como os conhecidos europeus *Mimolette* e *Milbenkäse*. Está bem estabelecido que as BPF são uma maneira eficiente de prevenir infestações de ácaros indesejáveis, mas alguns desafios tecnológicos ainda não foram resolvidos. Portanto, a falta de estudos de avaliação de riscos associados ao consumo de produtos infestados por ácaros, bem como uma legislação adequada e baseada em ciência, poderiam ser considerados obstáculos para a produção e comercialização de queijos contendo ácaros.

Embora a produção e o consumo de queijo com ácaros tenham demonstrado um recente aumento no Brasil, os procedimentos de maturação

aplicados são ainda empíricos, sem regulação adequada e com possíveis falhas ocasionais nos lotes de produção. Além disso, os ácaros predominantes são desconhecidos e nenhum estudo epidemiológico foi feito para avaliar o efeito de manipulação e consumo de queijo contendo ácaros. Como bem descrito por Stejskal et al. (2015), de acordo com as condições europeias, entendemos que se a produção brasileira de queijos com ácaros não se estabelecer de acordo com uma legislação adequada, não só problemas de saúde podem surgir, mas também a produção de queijo pode não ser uma prática viável.

A identificação dos ácaros endógenos nas regiões onde os queijos com ácaros estão sendo produzidos é extremamente importante e os atos

regulatórios devem ser aplicáveis definindo essas espécies, assim como a forma de maturação e comercialização. Considerando que, as Nações Unidas e o *Codex Alimentarius* planejam expandir pesquisas sobre o potencial alergênico de insetos com o intuito de estimular o uso desses animais como fonte de proteína, o que poderia incluir os ácaros, é razoável formular a hipótese de que permitirá a criação de regulamentos mais efetivos para guiar seu uso em alimentos para o consumo humano.

CAPÍTULO II

3 MATURAÇÃO DE QUEIJOS COM ÁCAROS NO BRASIL

3.1 INTRODUÇÃO

Os ácaros estão presentes naturalmente em diversos ambientes, especialmente no meio rural. Os ácaros micófagos são atraídos por fungos, por ser sua alimentação principal. Os fungos, por sua vez, por estarem presentes em queijos, atraem os ácaros que inicialmente se alimentam de fungos e em seguida alimentam-se de queijo, gerando perdas econômicas para a indústria láctea (AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007; BELL, 2014).

Em países europeus a presença de ácaros durante a maturação de queijo é algo frequente e comum, especialmente em queijos maturados de forma mais artesanal (Figura 1). Os maturadores de queijos europeus parecem não se importar com a presença dos ácaros, muito pelo contrário, os utilizam para conferir ao queijo um sabor específico e diferenciado (BRUCKNER; HEETHOFF, 2016) . No passado, na Europa, um queijo que não contivesse uma quantidade considerável de ácaros era pouco valorizado e existia inclusive o fornecimento de "sementes" de ácaros entre os produtores de queijo (FLECHTMANN, 1986).

Os alemães acreditam que o consumo de queijos maturados com ácaros ativa o sistema

imunológico evitando alergias que são causadas pelos próprios ácaros, além do efeito no sabor. Com o nome de *Milbenkase*, i.e. queijo com ácaro, há diversos tipos de queijos maturados na Alemanha, sendo o *Milbenkase Altenburg* (Würchwitzer) um dos mais tradicionais e com uma técnica centenária de produção (HERRMANN, 2005). Este queijo é produzido a partir do queijo *Quark* que é salgado e temperado com ervas, em seguida moldado e acondicionado em caixas de madeira contendo farinha de centeio e ácaros, permanecendo neste local de 3 a 6 meses para o processo de maturação, quando então adquirirá uma coloração marrom e um sabor característico (HERRMANN, 2005; BRUCKNER; HEETHOFF, 2016).

Na França, outro queijo com ácaro bastante conhecido e tradicional é o *Mimolette*. Este queijo é produzido com leite cru de vaca com maturação de aproximadamente seis meses em temperaturas de 10 a 12 °C, formato esférico, cor alaranjada e crosta irregular devido a ação dos ácaros em sua superfície (Figura 2) (FRANÇA, 2017).

No Brasil, até então, os ácaros eram classificados como um problema tecnológico na produção de queijo, porém, com o aprendizado de novas técnicas de maturação, produtores/maturadores brasileiros aventuraram-se na maturação de queijos com ácaros. O procedimento ainda é recente e o objetivo deste trabalho foi investigar a situação de maturação de

queijos na presença de ácaros em diferentes Estados do país.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado com 12 produtores/maturadores de queijo localizados em três Estados brasileiros: Minas Gerais (Belo Horizonte, Brejo Bonito, Serra do Salitre, Serro e Piumhi-i), Santa Catarina (Chapecó, Florianópolis e Paulo Lopes) e São Paulo (Morungaba, São Sebastião e São Paulo).

Para o diagnóstico foi executada uma pesquisa qualitativa utilizando como instrumento um formulário semi-estruturado com os dados a seguir: 1) local e condições de maturação, 2) razões pela presença dos ácaros, 3) forma de controle dos

ácaros e 4) inconvenientes da presença dos ácaros. Os resultados foram avaliados por meio de estatística descritiva.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Brasil, a infestação do queijo por ácaros segue o modelo de produção do queijo francês *Mimolette* no sentido de manter o queijo maturando em ambientes que contêm ácaros naturalmente (FRANCE, 2017), sendo esta infestação identificada pela presença do pó fino e marrom castanho próximo ao queijo (Figuras 3, 4, 6, 7 e 8) como descrito por ROBERTSON (1952) .

A produção francesa mantém os queijos em ambientes com temperaturas controladas (FRANCE, 2017), enquanto que no Brasil 67 %

dos investigados maturam os queijos em temperatura ambiente e 33 % em temperaturas de refrigeração que variam de 10 a 17 °C.

O controle das temperaturas de maturação dos queijos é importante no controle dos ácaros tendo em vista que, em baixas temperaturas, os mesmos não se desenvolvem, assim como em temperaturas muito elevadas (SÁNCHEZ-RAMOS; ÁLVAREZ-ALFAGEME; CASTAÑERA, 2007a; ABOU EL-ATTA; GHAZY; OSMAN, 2014).

Dentre os investigados, 58 % afirmam que a presença dos ácaros durante a maturação é desejável e tem o objetivo de conferir um sabor específico ao queijo. Esses maturadores acreditam que a presença dos ácaros fazem parte naturalmente

do processo de maturação, assim como os fungos presentes nos queijos.

Para Marcellino e Benson (2013), esses elementos, enquanto que alguns processos tecnológicos sejam utilizados para evitar ou intensificar, fazem parte do ciclo evolutivo natural dentro do processo de maturação.

Os maturadores de mais de um tipo de queijo (i.e, com ácaros e sem ácaros), necessitavam evitar a contaminação dos queijos que não continham ácaros, tendo em vista que ambos eram maturados no mesmo ambiente. Eles utilizavam prateleiras diferentes e realizavam limpezas frequentes nas prateleiras que não desejavam a presença dos ácaros.

Os ácaros, mesmo se encontrando em prateleiras diferentes, conseguem migrar para outras prateleiras dentro de um mesmo ambiente através das roupas e mãos dos manipuladores (DEONG; ROADHOUSE, 1922; ROBERTSON, 1952).

Os maturadores que se mostraram contrários à presença dos ácaros durante o processo de maturação dos queijos (42 %) justificam como razões o consumo do queijo pelos ácaros ocasionando fendas e aspecto ruim, assim como relatado em trabalho realizado por Robertson (1952) em uma produção de queijo *Cheddar* infestada por ácaros.

Os maturadores realizavam um controle para que os ácaros não se manifestassem nos

queijos ou para que o ácaros não se proliferassem excessivamente. Para isso, realizavam limpezas frequentes nas câmaras de maturação com detergente neutro, cloro ou vinagre. Para controlar os ácaros nos queijos, os mesmos eram lavados em água corrente e escovados periodicamente ou mantidos refrigerados em baixas temperaturas (em torno de 4 °C) até os ácaros serem eliminados completamente.

Embora exista na literatura a utilização de diversos tipos de produtos químicos para o controle dos ácaros (DEONG; ROADHOUSE, 1922; SÁNCHEZ-RAMOS; CASTAÑERA, 2009; ABBAR; JEFF; THOMAS, 2017), a utilização desses produtos é bastante limitada na produção alimentícia pelo risco de passar para o alimento

esses componentes. A tentativa da utilização de substâncias naturais já foi realizada porém afetou negativamente o sabor do queijo (ABBAR; JEFF; THOMAS, 2017). A utilização de substâncias não nocivas ou que não alterem os sabores e até mesmo o controle físico, como limpeza com água e controle de temperaturas, é mais recomendável dentro de um ambiente de produção de alimentos.

Os ácaros dos queijos brasileiros se proliferam mais rapidamente na ausência de luz, em temperaturas elevadas de maturação tendo sua multiplicação acentuada entre de 20 - 25 °C, em queijos a partir dos 30 dias de maturação, em queijos que não são virados frequentemente e em queijos que apresentam mofo azul (figura 5). Os ácaros se desenvolvem menos quando os queijos

são mantidos em temperaturas mais baixas ou acima de 30 °C, quando se realiza o processo de viragem do queijo frequentemente, na presença do mofo branco e em queijos com gordura excessiva.

A luz constante tem efeito prejudicial no desenvolvimento e reprodução de algumas espécies de ácaros (ŽĎÁRKOVÁ; VORÁČEK, 1993), o que pode justificar sua maior proliferação e ocorrência na ausência de luz, como relatado pelos maturadores de queijos brasileiros.

A faixa de temperatura em que os ácaros dos queijos brasileiros se multiplicam acentuadamente se assemelham com o descrito no trabalho de Sánchez-ramos e Castañera (2007) que identificaram o maior desenvolvimento do *Acarus farris*, ácaro presente no queijo turco, em

temperaturas de 25 °C, tendo seu desenvolvimento desacelerado em temperaturas abaixo de 7 °C e acima de 29 °C.

O melhor desenvolvimento dos ácaros em períodos superiores a 30 dias pode estar associado às moléculas de gorduras e proteínas do queijo, que se encontram no início da maturação em partículas maiores e ainda em formas mais complexas, dificultando a digestibilidade dos ácaros (PEACE, 1983).

Os queijos que não são virados frequentemente favorecem o desenvolvimento de fungos, especialmente na superfície do queijo que fica em contato com a prateleira de maturação, atraindo os ácaros que se alimentam dos fungos (MARCELLINO; BENSON, 2013). A preferência

de alguns ácaros por mofos azuis pode ser explicada pela seletividade digestiva de cada ácaro para cada tipo de fungo. Outra espécie de ácaro pode ser que seja mais seletiva para o mofo branco (HUBERT et al., 2004)

Dentre os inconvenientes resultantes da manipulação dos queijos com ácaros relatam-se coceira na pele e também a possibilidade de rinite, risco que diminui com o prolongamento do contato. Alguns trabalhos relatam o problema de coceira e rinite associados aos manipuladores de queijos contendo ácaros mas, felizmente, nenhum trabalho até o momento relata problemas de saúde relacionados à ingestão de queijos com ácaros (CARVALHO et al., 2018).

3.4 CONCLUSÃO

Os ácaros infestam os queijos brasileiros pela maturação realizada em ambientes que contêm ácaros, podendo ser desejável ou não a presença desses organismos. Mesmo em situações que os ácaros são desejáveis é necessário um controle para que os mesmos não se desenvolvam incontrolavelmente. Os maturadores brasileiros definiram técnicas simples de controle dos ácaros e que não incorrem em riscos para o queijo em processo de maturação. Foram observadas ocorrências de coceira na pele e eventuais rinites pela manipulação dos queijos com ácaros, estas, que por sua vez, diminuem pela exposição prolongada aos ácaros.

MATERIAL COMPLEMENTAR - CAPÍTULO II

Figura 1 - Queijos maturados com ácaros comercializados em Turim / Itália



Fonte: Remy Simão

Figura 2 - Queijo *Mimolette* comercializado em Paris / França



Fonte: Falco Bonfadini

Figura 3 - Queijo com a casca consumida devido a presença de ácaros em Santa Catarina / Brasil



Fonte: Elisabeth Schober

Figura 4 - Queijos com a presença de ácaros em São Paulo / Brasil



Fonte: Bruno Cabral

Figura 5 - Ácaros consumindo fungos azuis presentes na superfície do queijo em Santa Catarina / Brasil



Fonte: Autora

Figura 6 - Queijos com a presença de ácaros em Minas Gerais / Brasil



Fonte: Túlio Madureira

Figura 7 - Queijo com a presença de ácaros em São Paulo / Brasil



Fonte: Pedro Paulo Delgado

Figura 8 - Pó marrom castanho composto por ácaros, restos de queijo e excrementos em Santa Catarina / Brasil



Fonte: Autora

CAPÍTULO III

4 DIVERSIDADE DE ÁCAROS (ACARI) PRESENTES EM QUEIJOS BRASILEIROS MATURADOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR

4.1 INTRODUÇÃO

A maturação de queijos é um processo bioquímico complexo que envolve sucessivas substituições microbianas de acordo com o tempo, umidade, temperatura e características intrínsecas do produto (DE DEA LINDNER et al., 2008). A partir de uma composição inicial diferente em cada tipo de queijo, a maturação exerce um papel fundamental nas características finais do produto

pela ação das enzimas dos microrganismos presentes e melhores adaptados às condições extrínsecas estabelecidas, podendo durar dias, meses ou até anos (ALMENA-ALISTE; MIETTON, 2014).

Em algumas situações, durante a maturação de queijos, observa-se presença de um pó fino próximo ao queijo ou em sua superfície. Esse pó, semelhante ao “pó de cupim”, é resultado de excretas e exúvias da colonização de ácaros no queijo associados a hifas de fungos (HUBERT et al., 2004; STEJSKAL et al., 2015; CARVALHO et al., 2018). De cor marron castanho, é constituído ainda de ácaros vivos e mortos, seus excrementos e queijo deteriorado (DEONG; ROADHOUSE, 1922).

A presença de ácaros em queijos no Brasil está relacionada a um problema tecnológico caracterizando perdas econômicas, tendo em vista que os ácaros se alimentam do queijo, diminuindo o peso das peças que se encontram em processo de maturação (ROBERTSON, 1952). A legislação brasileira estabelece como limites máximos de tolerância à presença de 25 ácaros para cada 225 g de queijo ou cinco ácaros em uma superfície de 2,5 cm² com até 0,6 cm de profundidade (BRASIL, 2014). Contudo, em países como França e Alemanha, a presença desses ácaros durante a maturação é essencial para o desenvolvimento de aromas específicos em alguns tipos de queijos, como por exemplo, no *Mimolette* e *Milbenkäse*

respectivamente (HERRMANN, 2005; FRANCE, 2017).

Com a ascensão do queijo artesanal no Brasil e a introdução de diferentes técnicas de maturação, produtores brasileiros iniciaram também a realização da maturação empírica na presença de ácaros com o objetivo de conferir diferenciação de produto (*i.e.*: sabor característico), como nos queijos francês e alemão (CARVALHO et al., 2018).

Espécies de ácaros são usualmente identificadas por análises morfológicas (MELNYK et al., 2010; DAWOOD; ALI, 2015), contudo, devido a complexidade desta forma de identificação, outros métodos tornaram-se importante na abordagem polifásica, sendo a

identificação molecular hoje uma realidade (KHAING; SHIM; LEE, 2014). Porém, em razão de poucos registros moleculares de espécies de ácaros, especialmente os de proveniência de queijos, o início desse tipo de registro torna-se fundamental para futuras comparações nos bancos de dados, sendo necessário, inicialmente, um trabalho de análise molecular aliado a análises morfológicas (BRASIL, 2014; CARVALHO et al., 2018).

Considerando os poucos estudos relacionados aos ácaros presente em queijos, tanto do ponto de vista negativo (perdas econômicas) quanto positivo (utilização dos ácaros como coadjuvante de tecnologia), o objetivo deste trabalho foi determinar um método de coleta de

amostra de ácaros em queijos para a realização de identificação taxonômica. Objetivou-se também a identificação, de forma pioneira, de espécies encontradas em diferentes queijos brasileiros através de caracteres morfológicos e um marcador molecular (fragmento do gene mitocondrial *Citocromo Oxidase I*).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Protocolo de coleta de amostra de ácaros em queijo

Por não existir na literatura científica até o momento método específico para coleta de amostra de ácaros em queijos para identificação taxonômica e molecular, foram avaliados três protocolos (P)

distintos de coleta em um queijo de aproximadamente 5 Kg contendo ácaros. Este queijo foi produzido no oeste do Estado de Santa Catarina (Brasil): P1 - uma peça fracionada de aproximadamente 150 g do queijo contendo os ácaros foi mantida em embalagem plástica selada a vácuo; P2 - uma peça fracionada de aproximadamente 150 g do queijo contendo os ácaros foi mantida em embalagem plástica selada sem vácuo; P3 - a área externa de uma peça fracionada de aproximadamente 150 g foi raspada com o auxílio de uma espátula e aproximadamente 1 g do pó fino de cor castanha presente na superfície do queijo foi obtida. A amostra P3 foi acondicionada em um tubo tipo Falcon de 50 mL contendo álcool etílico hidratado 77 °GL. As

amostras identificadas foram acondicionadas em caixas isotérmicas em temperatura de refrigeração e enviadas para o laboratório em até 48 h para a realização da triagem, contagem e identificação taxonômica.

4.2.2 Origem das amostras de queijos

Foram coletadas 12 amostras de ácaros em diferentes tipologias de queijos e condições de temperatura de maturação em três Estados do Brasil (Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina) (Tabela 1).

4.2.3 Identificação dos ácaros

4.2.3.1 Identificação morfológica

O material presente nas amostras de queijos foi observado em estereomicroscópio com aumento de 30 x (Nikon, SMZ800, Japão). Na amostra de queijo onde foram observados diferentes tipos morfológicos, uma estimativa da proporção de cada tipo foi realizada. Os ácaros coletados na superfície dos queijos foram montados em lâminas de microscopia em meio Hoyer e secados por 10 dias em estufa com temperatura de aproximadamente 50 °C. Após a secagem, as lâminas foram seladas com verniz cristal e observadas em microscópio DIC com contraste de fase (Nikon, Eclipse Ni, Japão).

Os espécimes foram identificados baseados em chaves de identificação dicotômica para famílias e espécies do Gênero *Acarus*: chave dicotômica baseada em Griffiths (1970); Gênero *Sancasania* (= *Caloglyphus*) - Türk e Türk (1957) e Klimov e O'Connor (2003); Gênero *Tyrophagus* - Johnston e Bruce (1965), Hughes (1976), Fain e Fauvel (1993) e Fan e Zhang (2007).

4.2.3.2 Identificação molecular

Após a identificação morfológica, de cada amostra foram utilizados dois indivíduos para duplicata de cada tipo morfológico e posterior identificação molecular. As amostras foram mantidas em álcool etílico hidratado 77 °GL e acondicionadas a -20 °C até a extração de DNA.

Extração do DNA: A extração de DNA genômico total foi conduzida a partir de cada indivíduo isoladamente, usando o QIAamp® DNA Micro Kit (Qiagen, USA), seguindo as especificações do protocolo de extração de DNA de tecidos. Em um tubo de 1,5 mL contendo 180 µL de tampão de lise foi selecionado e adicionado o indivíduo, com o auxílio de um estereoscópio e um pincel. Em seguida o ácaro foi macerado com o auxílio de um macerador plástico para tubos pequenos e foi adicionado 20 µL de proteinase K agitando os tubos levemente para homogeneização por aproximadamente 15 s. A partir deste momento o protocolo de extração seguiu a descrição contida no manual do fabricante. O DNA extraído foi

armazenado a - 20 °C até o momento da amplificação.

Amplificação do marcador *Citocromo*

***Oxidase I* (COI) e identificação das sequências:**

O fragmento esperado do gene COI de 378 bp foi amplificado usando o seguinte par de oligonucleotídeos: COI-F 5' GTT TTG GGA TAT CTC TCA TAC 3' e COI-R 5' GAG CAA CAA CAT AAT AAG TAT C 3' descrito por Yang et al. (2011). As condições da reação foram: 1 U de Taq DNA Polymerase (Thermo Scientific, Inc., USA), 1X tampão, 2,5 mM MgCl₂, 160 µM de cada dNTP, 0,4 µM de cada primer para um volume final de 50 µL. As condições de amplificação foram: uma etapa inicial de desnaturação a 94 °C

por 3 min, seguido por 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 48 °C por 30 s e 72 °C por 1 min, seguido por uma etapa de extensão final de 72 °C por 7 min.

Os produtos das reações foram visualizados em géis de agarose 1 %, corados com Gel RedTM (Biotium, Fremont, CA, USA) sob um transiluminador de luz UV, sendo purificados e sequenciados ambas as fitas (método de Sanger) pela Macrogen (Seul, Coreia) utilizando-se os mesmos oligonucleotídeos usados na amplificação. A identidade das sequências obtidas foi verificada e a homologia de sequência foi obtida através do uso da ferramenta BLAST (ALTSCHUL et al., 1990) disponível no banco de dados do *National Center*

for Biotechnology Information

(<http://www.blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Protocolo de coleta de amostras de ácaros em queijos

Os ácaros resultantes do P1 apresentaram-se deteriorados em 100% de sua totalidade ao chegar ao processo de triagem no laboratório, não sendo possível sua identificação. O P2 preservou uma pequena quantidade de ácaros vivos e em condições de montagem e identificação (somente oito). No P3 os ácaros apresentaram-se mortos devido a sua imersão em álcool, mas preservados e em condições de montagem para a identificação

morfológica e também molecular (327 unidades preservadas).

Os ácaros são organismos aeróbios que durante a maturação do queijo realizam aberturas na superfície adentrando-se para o interior da peça, sendo sempre encontrados nas partes externas e/ou fendas formadas no queijo (MARCELLINO; BENSON, 2013). Este requerimento aeróbico pode explicar porque os ácaros acondicionados em embalagem plástica a vácuo (P1) perderam viabilidade e condições para identificação. A pressão exercida pelo vácuo na estrutura física destes indivíduos pode também ter colaborado para esta situação. Os resultados direcionaram à utilização do P3 para a coleta das amostras de ácaros para as demais análises taxonômicas.

Um dos problemas dos queijos maturados com ácaros é a presença desses organismos em grandes quantidades na superfície do produto. Nos pontos de comercialização estes ácaros migram do queijo para outros queijos e ambiente, provocando uma infestação local. A inviabilização dos ácaros que foram acondicionados a vácuo sinaliza para a potencial utilização deste tipo de embalagem para queijos maturados com ácaros com o intuito de evitar a disseminação destes organismos no momento da comercialização.

4.3.2 Identificação taxonômica dos ácaros

As amostras de ácaros foram coletadas em 11 diferentes cidades de três diferentes estados brasileiros e em distintos tipos de queijos e

condições de maturação conforme disposto na Tabela 1. Para a identificação molecular foi amplificado um fragmento de 378 pb do gene *COI*, sendo analisado um fragmento de 338 pb a partir do sequenciamento direto dos produtos de PCR.

Tabela 1 - Locais de origem, tipos de queijos e temperatura de maturação das amostras onde os ácaros foram coletados.

| Amostra | Cidade de origem (Estado) | Coordenadas geográficas | Tipo de Queijo | Temperatura de maturação (°C) |
|---------|---------------------------|----------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| 1 | Florianópolis (SC) | 27°35'48" S 48°32'57" O | Minas Artesanal (Serro) | 15 - 17 °C |
| 2 | Belo Horizonte (MG) | 19°48'57" S 43°57'15" O | Minas Artesanal (Araxá) | Ambiente |
| 3 | Brejo Bonito (MG) | 19°0'24" S 46°37'3" O | Minas Artesanal (Alto Paranaíba) | Ambiente |
| 4 | São Paulo (SP) | 23°32'56" S 46°38'20" O | Minas Artesanal (Araxá) | Ambiente |
| 5 | Serra do Salitre (MG) | 19°06'41" S 46°41'23" O | Minas Artesanal (Serra do Salitre) | Ambiente |
| 6 | São Paulo (SP) | 23°32'56" S 46°38'20" O | Parmesão da Mantiqueira | 12 - 16 °C |
| 7 | São Sebastião (SP) | 23°45'36" S 45°24'35" O | Minas Artesanal (Araxá) | Ambiente |
| 8 | Morungaba (SP) | 27°35'48" S 46°47'30" O | Minas Artesanal (Araxá) | Ambiente |
| 9 | Paulo Lopes (SC) | 27°57'42" S 48°41'01" O | Tipo Gruyère | 12 - 13 °C |
| 10 | Piumhi-i (MG) | 20°27'42" S 45°56'45" O | Minas Artesanal (Canastra) | Ambiente |
| 11 | Chapecó (SC) | 27°05'47" S 52°37'06" O | Parmesão | 10 - 12 °C |
| 12 | Serro (MG) | 18°36'17" S 43°22'46" O | Minas Artesanal (Serro) | Ambiente |

MG: Minas Gerais; SC: Santa Catarina; SP: São Paulo.

A identificação morfológica e molecular demonstrou que os ácaros presentes na maioria dos queijos brasileiros são predominantemente da espécie *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank, 1781),

com a exceção do queijo Minas Artesanal do Serro (amostra 12) onde foi identificada, pela análise morfológica, além da espécie *T. putrescentiae* (10 % dos indivíduos), também a espécie *Sancassania* aff. *feytaudi* (Oudemans, 1928) (90 % dos indivíduos) (Tabela 2).

Tabela 2 - Identificação morfológica e molecular das amostras de ácaros presentes nos queijos.

| Amostra | Espécie (identificação morfológica) | Espécie com maior similaridade de sequência ^a (identificação molecular) | Número de acesso ^b | Identidade da sequência <i>COI</i> (%) |
|-----------------|---|--|-------------------------------|--|
| 1 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 2 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 3 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 4 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 5 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 5 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 6 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 7 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | NI | - | - |
| 8 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 9 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 10 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 11 | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| 12 ^c | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | <i>Tyrophagus putrescentiae</i> | AY525572 | 100 |
| | <i>Sarcassamia</i> aff. <i>feytaudi</i> | <i>Aleuriglyphus ovatus</i> | KJ71488 | 84 |
| | | <i>Chortoglyphus arcuatus</i> | EU078970 | 83 |

^a : *GenBank*; ^b : determinada pelo BLAST com a sequência *COI*; ^c : amostra com indivíduos diversos; NI: Não identificada.

A confirmação da espécie *S. aff. feytaudi* pela análise molecular não foi possível pois há somente duas sequências do *COI* depositadas no banco de dados *GenBank* do NCBI até o momento, ambas identificadas como *Sancassania* sp., sendo que apenas uma delas contém toda a região analisada no presente trabalho, com somente 79 % de similaridade. Dentre as sequências depositadas atualmente no *GenBank*, a sequência obtida a partir desta amostra apresentou maior similaridade com *Aleuroglyphus ovatus* (84 %) e *Chortoglyphus arcuatus* (83 %) (Tabela 2). As buscas no *GenBank* dependem da amostragem de sequências que estão nele depositadas. Para alguns gêneros de ácaros há pouca amostragem de sequências de *COI*, o que acaba limitando as buscas. As diferentes sequências de *COI* de *T. putrescentiae* depositadas demonstraram uma similaridade que variou

entre 94 e 100 % com as sequências produzidas neste trabalho.

Uma das repetições das amostras quatro e nove, por causa da qualidade das seqüências obtidas, foi analisado um fragmento gênico menor, 291 e 297 pb respectivamente, porém, esse fragmento menor não impediu a identificação da espécie *T. putrescentiae* (Tabela 2). Com relação a amostra sete, só foi possível fazer a identificação morfológica pois a qualidade das sequências obtidas não permitiu a identificação molecular.

A presença de uma diferente espécie de ácaro, além do *T. putrescentiae*, em um dos queijos pesquisados (amostra 12), pode estar associada ao fungo predominante neste queijo, tendo em vista a capacidade de micofagia seletiva dos ácaros (HUBERT et al., 2004;

ESTRADA-BÁRCENAS et al., 2010; MARCELLINO; BENSON, 2013) ou a diferentes condições de maturação, que podem selecionar as espécies que melhor se adaptam as condições intrínsecas e extrínsecas dos queijos (Tabela 2) (ROBERTSON, 1952; SÁNCHEZ-RAMOS; ÁLVAREZ-ALFAGEME; CASTAÑERA, 2007b; SÁNCHEZ-RAMOS; CASTAÑERA, 2007; ABOU EL-ATTA; GHAZY; OSMAN, 2014). Segundo Shimizu et al. (2016) *Sancassania* sp. Sasagawa pode produzir formiatos alifáticos secretados pelas glândulas opistótonas, relatados com potencial função ferormônica. Esta função biológica atrativa/social pode contribuir para o entendimento da presença de mais de uma espécie contida na amostra de queijo Minas Artesanal do Serro.

As espécies de ácaros identificadas nos queijos brasileiros diferem das espécies de ácaros *Acarus siro* e

Tyrolichus casei presentes nos queijos francêss *Mimolette* e alemão *Milbenkäse* respectivamente, responsáveis por conferir um *flavor* característico nesses queijos (MELNYK et al., 2010; BRUCKNER; HEETHOFF, 2016, CARVALHO et al., 2018).

A espécie *T. putrescentiae* é cosmopolita, podendo ser encontrada na poeira doméstica ou em grãos armazenados, assim como em outros alimentos estocados (VOGEL; DAL BOSCO; FERLA, 2015; ZHAO et al., 2016a). Estudos relatam a presença de *T. putrescentiae* em queijos produzidos na Turquia (AYGUN; YAMAN; DURMAZ, 2007), coincidindo com a espécie encontrada neste trabalho nos queijos brasileiros, demonstrando sua presença difundida pelo mundo. Neste queijo turco, o *T. putrescentiae* é considerado um problema tecnológico. No Brasil, há registros da presença de *T. putrescentiae*

em alimentos como favos de mel (TEXEIRA et al., 2014) e no interior do caule de soja em plantaço (OLIVEIRA; NÁVIA; FRIZZAS, 2007) onde sua presença também é indesejável.

Assim como *T. putrescentiae*, algumas espécies do gênero *Sancassania* são cosmopolitas (ESTRADA-BÁRCENAS et al., 2010; ABOU EL-ATTA; GHAZY; OSMAN, 2014). A espécie *S. aff. feytaudi* encontrada neste trabalho é o primeiro relato de sua identificação em queijos, sendo o queijo brasileiro Minas Artesanal do Serro a primeira notificação.

A utilização de ácaros na maturação de queijos, apesar de ser uma técnica centenária (HERRMANN, 2005) e muito comum no continente europeu (FRANCE, 2017), ainda não foi abordada cientificamente com profundidade. A Organização das Nações Unidas (ONU)

reconhece a importância deste tipo de estudo e solicita aos pesquisadores, legisladores e indústrias de alimentos uma maior atenção ao tema através da realização de estudos relacionados à entomofagia, tenho em vista que esta se tornará uma tendência alimentar futura (FAO, 2015).

4.4 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho demonstraram um método para a coleta de ácaros em queijos para análises de identificação, principalmente a taxonômica. Queijos maturados com ácaros podem ser comercializados em embalagens plásticas a vácuo com o intuito de inibir a sua disseminação ambiental nos postos de comercialização. Os ácaros presentes nos queijos brasileiros investigados são predominantemente *T.*

putrescentiae. Em somente uma das amostras de queijo foi identificada a presença de ácaro da espécie *S. aff. feytaudi*, configurando o primeiro relato de sua identificação em queijos. Apesar da presença de ácaros, no Brasil, ser considerado um problema tecnológico durante a maturação, é necessário investigar se em queijos brasileiros estes são capazes de conferir uma característica sensorial peculiar e desejável ao produto.

Estudos aprofundados de segurança de consumo (avaliação de risco) para queijos com ácaros devem ser conduzidos para cada tipo de processo tecnológico empregado. Os órgãos regulatórios possuem normatizados as expressões de alerta para rotulagens de produtos que podem causar alergias, como ovos, peixes e crustáceos. Em razão do potencial efeito alergênico dos

ácaros, os produtores deverão informar: "ALÉRGICOS:
CONTÉM ÁCAROS".

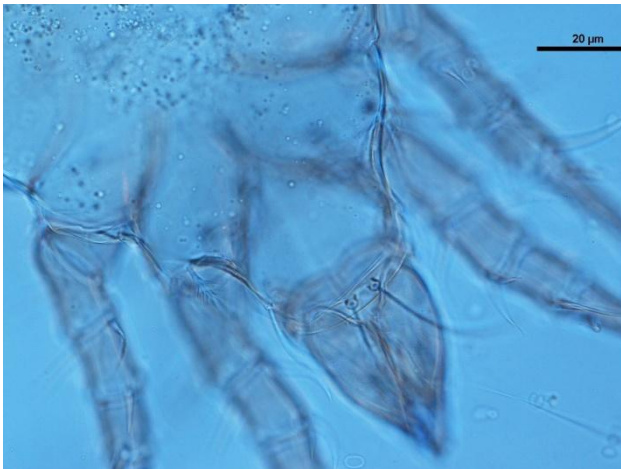
MATERIAL COMPLEMENTAR - CAPÍTULO III

Figura 1 - Vista dorsal de *Tyrophagus putrescentiae* com aumento de 200x



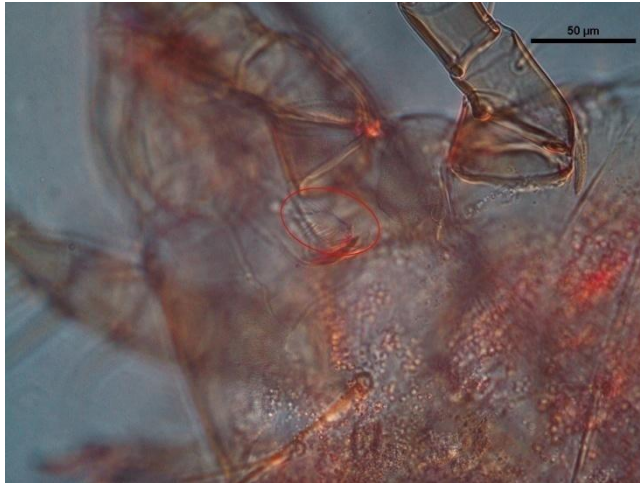
Fonte: André Luís Matioli

Figura 2: Gnatossoma de *Tyrophagus putrescentiae* dorsalmente com aumento de 400x



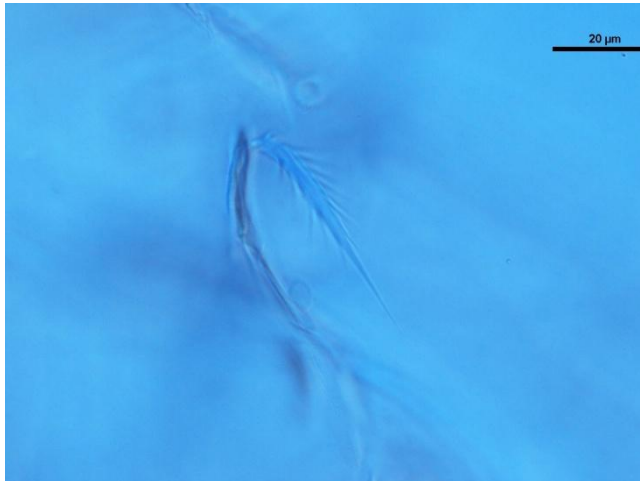
Fonte: André Luís Matioli

Figura 3 - Seta supra coxal de *Tyrophagus putrescentiae* com aumento de 400x



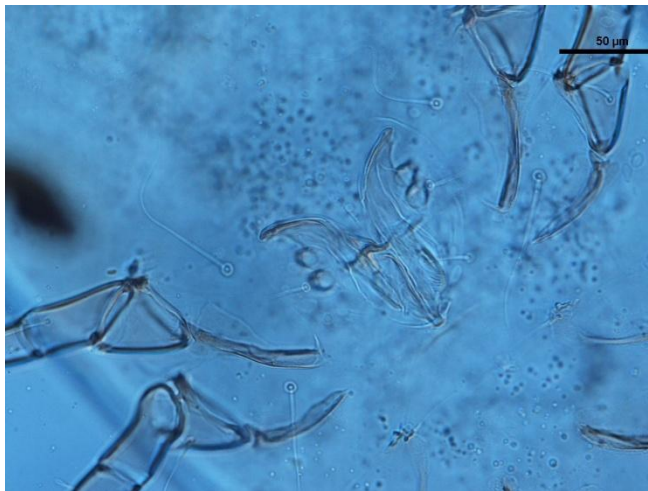
Fonte: André Luís Matioli

Figura 4 - Seta supra coxal de *Tyrophagus putrescentiae* com aumento de 1000x



Fonte: André Luís Matioli

Figura 5- Abertura genital de *Tyrophagus putrescentiae* com aumento de 400x



Fonte: André Luís Matioli

Figura 6 - Região opistossomal ventral e abertura genital de *Tyrophagus putrescentiae* com aumento de 400x



Fonte: André Luís Matioli

Figura 7 - Tarso I de *Tyrophagus putrescentiae* com destaque para os solenídeos w1 e wi com aumento de 1000x



Fonte: André Luís Matioli

Figura 8 - Gnatossoma de *Sancassania* aff. *feytaudi* com destaque para os solenídeos w1 e wi com aumento de 400x



Fonte: André Luís Matioli

Figura 9 - Vista ventral de *Sancassania* aff. *feytaudi* com aumento de 40x



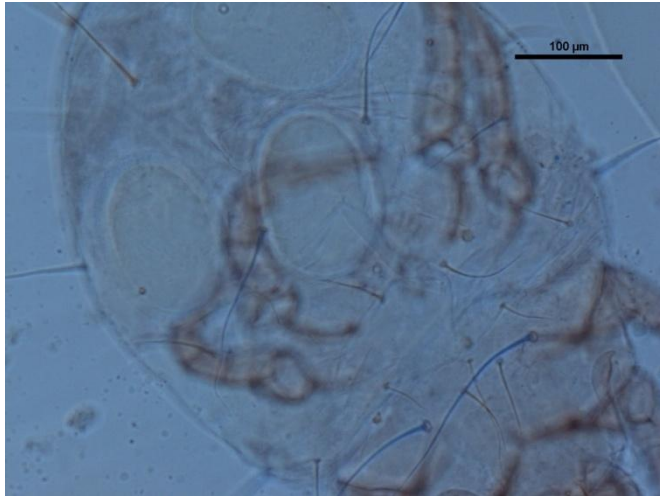
Fonte: André Luís Matioli

Figura 10 - Gnatossoma de *Sancassania* aff. *feytaudi* com destaque para os solenídeos w1 e wi com aumento de 400x



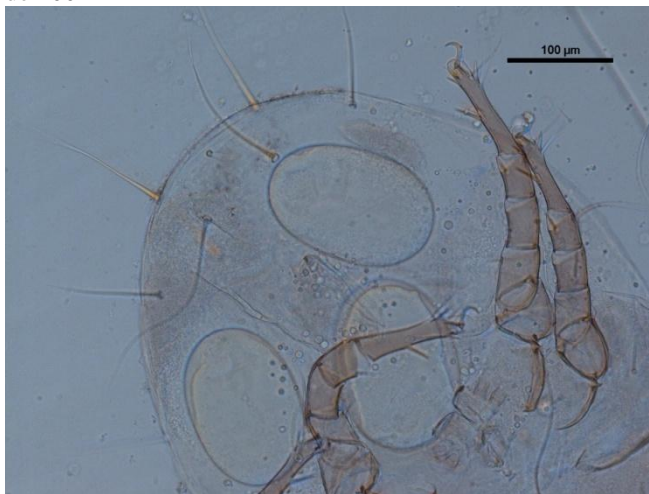
Fonte: André Luís Matioli

Figura 11 - Idiossoma dorsal de *Sancassania* aff. *feytaudi* com aumento de 200x



Fonte: André Luís Matioli

Figura 12 - Opistossoma de *Sancassania* aff. *feytaudi* com aumento de 400x



Fonte: André Luís Matioli

5 CONCLUSÕES GERAIS

Os ácaros que infestam os queijos podem causar deterioração e perdas econômicas ou designar características específicas e desejáveis ao produto final, sendo a aplicação de Boas Práticas de Fabricação (BPF) uma das principais ferramentas para prevenir infestações indesejáveis.

Os ácaros identificados nos queijos brasileiros pesquisados são predominantemente *Tyrophagus putrescentiae*, embora em uma das amostras pesquisadas foi identificada, também, a espécie *Sancassania. aff. feytaudi*.

A Organização das Nações Unidas e o *Codex Alimentarius* planejam expandir pesquisas sobre entomofagia com o intuito de estimular o uso desses animais como fonte de proteína para seres humanos.

Desta forma, os desafios de uso tecnológico dos ácaros presentes nos queijos brasileiros precisam ser resolvidos através de mais estudos associados a avaliação de risco e aptidão tecnológica das diferentes espécies encontradas nestes queijos.

6 REFERÊNCIAS

ABBAR, S.; JEFF, M. W. S. R.; THOMAS, W. Efficacy of selected pesticides against *Tyrophagus putrescentiae* (Schränk): influences of applied concentration , application substrate , and residual activity over time.

Journal of Pest Science, v. 90, n. 1, p. 379–387, 2017.

ABOU EL-ATTA, D. A. E. M.; GHAZY, N. A.;

OSMAN, M. A. Effects of temperature on the life-history traits of *Sancassania* (Caloglyphus) *berlesei* (Acari: Astigmatina: Acaridae) feeding on root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp. (Nematoda: Meloidogynidae).

Experimental and Applied Acarology, v. 64, n. 3, p. 299–307, 2014.

ALMENA-ALISTE, M.; MIETTON, B. Cheese Classification, Characterization, and Categorization: A Global Perspective. **Microbiology Spectrum**, p. 1–29,

2014.

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool.

Journal of molecular biology, v. 215, n. 3, p. 403–10,

1990. AYGUN, O.; YAMAN, M.; DURMAZ, H. A

survey on occurrence of *Tyrophagus putrescentiae*

(acari: acaridae) in surk, a traditional turkish dairy

product. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 3, p.

878–881, 2007.

BELL, C. H. Pest control of stored food products: insects

and mites. **Woodhead Publishing Limited**, p. 494–538,

2014.

BRASIL. Resolução n° 14, de 28 de março de 2014 -

Ministério da Saúde. **Diário Oficial da União**, p. 58,

2014.

BRAZIS, P.; SERRA, M.; SELLÉS, A.; DETHIOUX, F.;

BIOURGE, V.; PUIGDEMONT, A. Evaluation of storage mite contamination of commercial dry dog food. **Veterinary Dermatology**, v. 19, n. 4, p. 209–214, 2008.

BRUCKNER, A.; HEETHOFF, M. Scent of a mite: origin and chemical characterization of the lemon-like flavor of mite-ripened cheeses. **Experimental and Applied Acarology**, v. 69, p. 249–261, 2016.

CANADA. Guidelines for the General Cleanliness of Food. **Government of Canada**, p. 5–6, 2009.

CARVALHO, M. M.; OLIVEIRA, E. E.; MATIOLI, A. L.; FERREIRA, C. L. L.; MACHADO DA SILVA, N.; DE DEA LINDNER, J. Stored products mites in cheese ripening: Health aspects, technological and regulatory challenges in Brazil. **Journal of Stored Products Research**, v. 76, p. 116–121, 2018.

CODEX ALIMENTARIUS. Joint FAO/WHO Food

Standards Programme Codex Committee on Food Additives and Contaminants. **FAO/WHO**. Thirty-first, v. Fourteenth, p. 1–10, 1981.

CODEX ALIMENTARIUS. Joint FAO/WHO Food Standards Programme Codex Committee on Food Additives and Contaminants. **FAO/WHO**, v. Seventeen, n. July, p. 1–10, 1987.

CODEX ALIMENTARIUS. Joint **FAO/WHO** Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. v. Twenty-fif, p. 45–52, 2003.

CONYERS, S. T.; BELL, C. H. The effect of modified atmospheres on the survival of the eggs of four storage mite species. **Experimental and Applied Acarology**, v. 31, n. 1–2, p. 115–130, 2003.

DAWOOD, S.; ALI, F. Identification and Natural Control of Mite in Ras Cheese. **Journal of Food**

Processing & Technology, v. 6, n. 4, p. 435, 2015.

DE DEA LINDNER, J.; BERNINI, V.; DE LORENTIIS, A.; PECORARI, A.; NEVIANI, E.; GATTI, M.

Parmigiano Reggiano cheese: evolution of cultivable and total lactic microflora and peptidase activities during manufacture and ripening. **Dairy Science and Technology**, v. 88, p. 511–523, 2008.

DEONG, E. R.; ROADHOUSE, C. L. Cheese Pests and Their Control. **University of California Publications**, n. Bulletin 343, 1922.

DORES, M. T.; NOBREGA, J. E.; FERREIRA, C. L. L. F. Room temperature aging to guarantee microbiological safety of brazilian artisan Canastra cheese. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 1, p. 180–185, 2013.

DOUWLING, G. B.; THOMAS, E. W. Cheese Itch: Contact Dermatitis due to Mite-infested Cheese Dust.

British Medical Journal, p. 543, 1942.

EALES, B. The life history and economy of the cheese mites. **Annals of Applied Biology**, v. 4, n. 1–2, p. 28–35, 1917.

ESTRADA-BÁRCENAS, D. A.; PALACIOS-VARGAS, J. G.; ESTRADA-VENEGAS, E.; KLIMOV, P. B.; MARTÍNEZ-MENA, A.; TAYLOR, M. L. Biological activity of the mite *Sancassania* sp. (Acari: Acaridae) from bat guano associated with the pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum*. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 2, p. 127–131, 2010.

EUROPE. Regulamento n° 178/2002 do Parlamento Europeu e do Conselho de 28 de Janeiro de 2002. **Jornal Oficial das Comunidades Europeias**, v. 31, p. 1–24, 2002.

FAO. A Contribuição dos Insetos para a Segurança

Alimentar, Subsistência e Meio Ambiente. **Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação**, 2015.

FDA. Domestic and Imported Cheese and Cheese Products. **Food and Drug Administration Compliance Program Guidance Manual**, v. Chapter 03, p. 1–36, 2017.

FLECHTMANN, C. W. H. Acaros em produtos armazenados e em poeira domiciliar. **Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz**, 1986.

FOOD-QUALITY. Mimolette “mite” be blocked if levels are too high, says FDA. **Food Quality News**, 2013.

FRANCE. Décret n°2007-628 du 27 avril 2007 relatif aux fromages et spécialités fromagères. **Journal Officiel de la République Française**, 2017.

HASAN, M.; AIKINS, M. J.; SCHILLING, W.;

PHILLIPS, T. W. Efficacy of Controlled Atmosphere Treatments to Manage Arthropod Pests of Dry-Cured Hams. **Insects**, v. 44, p. 1–15, 2016.

HERRMANN, S. Die Regionale Spezialität “*Altenburger Milbenkäse*”: Eine Analyse des Produktes, der Herstellung und des Marktes. Diplom Arbeit), Jena, Germany: University of Jena. 2005. **Diplom Arbeit. Germany: University of Jena**, p. 151, 2005.

HUBERT, J.; JAROŠÍK, V.; MOUREK, J.;

KUBÁTOVÁ, A.; ŽDÁRKOVÁ, E. Astigmatid mite growth and fungi preference (Acari: Acaridida):

Comparisons in laboratory experiments. **Pedobiologia**, v. 48, n. 3, p. 205–214, 2004.

KHAING, T. M.; SHIM, J. K.; LEE, K. Y. Molecular identification and phylogenetic analysis of economically important acaroid mites (Acari: Astigmata: Acaroidea) in

Korea. **Entomological Research**, v. 44, n. 6, p. 331–337, 2014.

MARCELLINO, S. N.; BENSON, D. R. The Good , the Bad , and the Ugly : Tales of Mold-Ripened Cheese. **Microbiology Spectrum**, v. 1, n. 1, p. 1–27, 2013.

MARTINS, J. M.; GALINARI, É.; PIMENTEL-FILHO, N. J.; RIBEIRO JR, J. I.; FURTADO, M. M.; FERREIRA, C. L. L. F. Determining the minimum ripening time of artisanal Minas cheese , a traditional Brazilian cheese. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 46, p. 219–230, 2015.

MELNYK, J. P.; SMITH, A.; SCOTT-DUPREE, C.; MARCONE, M. F.; HILL, A. Identification of cheese mite species inoculated on Mimolette and Milbenkase cheese through cryogenic scanning electron microscopy. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 8, p. 3461–3468,

2010.

OLIVEIRA, C. M. De; NÁVIA, D.; FRIZZAS, M. R.

First record of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)

(Acari: Acaridae) in soybean plants under no tillage in

Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 876–

877, 2007.

OLSEN, A. R. Regulatory Action Criteria for Filth and

Other Extraneous Materials: II. Allergenic Mites: An

Emerging Food Safety Issue. **Regulatory Toxicology**

and Pharmacology, v. 28, n. 3, p. 190–198, 1998.

PEACE, D. M. Reproductive Success of the mite *Acarus*

Siro on stored cheddar cheese of different ages. **Journal**

of Stored Products Research, v. 19, n. 3, p. 97–104,

1983.

PIRANI, S.; BERSANI, C.; CANTONI, C. Ozono :

Metodo Alternativo Per L ' Eliminazione Degli Acari Da

Speck Ozone : Alternative Method for Mite Control.

Italian Journal of Food Safety, v. 6, p. 83–84, 2009.

ROBERTSON, P. L. Note on *Tyroglyphid* mite species on cheese in New Zealand. **The New Zealand Journal of Science and Technology**, v. 27, n. 6, p. 486, 1946.

ROBERTSON, P. L. Cheese Mite Infestation - An Important Storage Problem. **International Journal of Dairy Technology**, v. 5, n. 2, p. 86–95, 1952.

SÁNCHEZ-BORGES, M.; FERNANDEZ-CALDAS, E. Hidden allergens and oral mite anaphylaxis: the pancake syndrome revisited. **Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology**, v. 15, n. 4, p. 337–343, 2015.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.; CASTAÑERA, P. Development and survival of the cheese mites, *Acarus farris* and *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae), at constant temperatures and 90%

relative humidity. **Journal of Stored Products**

Research, v. 43, n. 1, p. 64–72, 2007a.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; ÁLVAREZ-ALFAGEME, F.;

CASTAÑERA, P. Reproduction, longevity and life table

parameters of *Tyrophagus neiswanderi* (Acari: Acaridae)

at constant temperatures. **Experimental and Applied**

Acarology, v. 43, n. 3, p. 213–226, 2007b.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; CASTAÑERA, P. Effect of

temperature on reproductive parameters and the

longevity of *Acarus farris* (Acari: Acaridae). **Journal of**

Stored Products Research, v. 43, n. 4, p. 578–586,

2007.

SÁNCHEZ-RAMOS, I.; CASTAÑERA, P. Chemical

and physical methods for the control of the mite *Acarus*

farris on Cabrales cheese. **Journal of Stored Products**

Research, v. 45, n. 1, p. 61–66, 2009.

SHIMIZU, N.; SAKATA, D.; MIYAZAKI, H.;
SHIMURA, Y.; KUWAHARA, Y. Identification and
synthesis of (Z,Z)-8,11-heptadecadienyl formate and (Z)-
8-heptadecenyl formate: Unsaturated aliphatic formates
found in the unidentified astigmatid mite, *Sancassania* sp.
Sasagawa (Acari: Acaridae). **Molecules**, v. 21, n. 5, p. 1–
10, 2016.

SINHA, R. N. Role of Acarina in the Stored Grain
Ecosystem. **Recent Advances in Acarology**, v. I, p.
263–272, 1979.

STEJSKAL, V.; HUBERT, J.; AULICKY, R.;
KUCEROVA, Z. Overview of present and past and pest-
associated risks in stored food and feed products:
European perspective. **Journal of Stored Products
Research**, v. 64, p. 122–132, 2015.

TEXEIRA, W.; SANTOS, G.; LUIZ, A.; ALVES, M. F.;

LUISA, M.; AFRICANIZED, O. F.; BEES, H.; APIS, L.;
TEIXEIRA, É. W.; GUIMARÃES, L.; MATIOLI, A. L.;
MESSAGE, D.; LUISA, M.; MARQUES, T.; ALVES, F.
First Report in Brazil of *Tyrophagus putrescentiae*
(SCHRANK) (ACARI : ACARIDAE) in Colonies of
Africanized Honey Bees (*Apis mellifera* L.).
Interciencia, v. 39, n. 10, p. 742–744, 2014.

VOGEL, P.; DAL BOSCO, S. M.; FERLA, N. J. Mites
and the Implications on Human Health. **Nutricion**
Hospitalaria, v. 31, n. 2, p. 944–951, 2015.

WILKIN, D. R. Resistance to lindane in *Acarus siro*
from an English cheese store. **Journal of Stored**
Products Research, v. 9, n. 2, p. 101–104, 1973.

YANG, B.; CAI, J.; CHENG, X. Identification of
astigmatid mites using ITS2 and COI regions.
Parasitology Research, v. 108, n. 2, p. 497–503, 2011.

ŽDÁRKOVÁ, E.; VORÁČEK, V. The effects of physical factors on survival of stored food mites.

Experimental and Applied Acarology, v. 17, n. 3, p. 197–204, 1993.

ZHAO, Y.; ABBAR, S.; AMOAH, B.; PHILLIPS, T. W.; SCHILLING, M. W. Controlling pests in dry-cured ham: A review. **Meat Science**, v. 111, p. 183–191, 2016a.

ZHAO, Y.; ABBAR, S.; PHILLIPS, T. W.; SCHILLING, M. W. Phosphine fumigation and residues in dry-cured ham in commercial applications. **Meat Science**, v. 107, p. 57–63, 2015.

ZHAO, Y.; ABBAR, S.; PHILLIPS, T. W.; WILLIAMS, J. B.; SMITH, B. S.; SCHILLING, M. W. Developing food-grade coatings for dry-cured hams to protect against ham mite infestation. **Meat Science**, v. 113, p. 73–79, 2016b.