

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**MICROORGANISMOS MAIS FREQUENTEMENTE ENCONTRADOS COM  
LIMITES ACIMA DOS ACEITÁVEIS, SEGUNDO A RDC nº 12/ 2001 DA ANVISA  
EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL, REGISTRADOS JUNTO À CISPOA**

**Aluno: Rafael Severino Duarte**

**Porto Alegre**

**2011/2**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

**MICROORGANISMOS MAIS FREQUENTEMENTE ENCONTRADOS COM  
LIMITES ACIMA DOS ACEITÁVEIS, SEGUNDO A RDC nº 12/ 2001 DA ANVISA  
EM PRODUTOS DE ORIGEM ANIMAL, REGISTRADOS JUNTO À CISPOA**

**Autor: Rafael Severino Duarte**

**Monografia apresentada à  
Faculdade de Veterinária como  
requisito parcial para obtenção  
da Graduação em Medicina  
Veterinária**

**Orientadora: Susana Cardoso**

**Porto Alegre**

**2011/2**

## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora professora Susana Cardoso, pela orientação e ensinamentos.

Aos professores Guiomar e Liris pela oportunidade da realização de estágio no CEPETEC.

Aos grande amigos e companheiros do CEPETEC: Maurício, Jonas, Ugo, Daniele, Kássia Ana, Bruna, Joana e Nicole.

Agradeço aos meus pais pela dedicação e amor, não foram apenas pais, mas amigos e companheiros, mesmo nas horas mais difíceis.

À minha namorada Gabriela Javornik Barroso, pelo amor e companheirismo durante toda a minha trajetória na faculdade e apoio nos momentos mais difíceis.

Aos meus amigos e aos demais mestres que participaram dessa jornada, cujo apoio, incentivo foram fundamentais para o meu sucesso.

Muito Obrigado!

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Agentes etiológicos mais comuns em DTA e seus mecanismos fisiopatológicos .....	11
TABELA 2 - Distribuição anual dos produtos de origem animal que apresentaram laudo de análises microbiológicas em desacordo com a RDC nº 12/2001 .....	24
TABELA 3 - Agentes etiológicos que mais foram encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº12/2001 .....	25
TABELA 4 - Microrganismos que mais foram encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº12/2001, em produtos cárneos .....	25
TABELA 5 - Microrganismos que mais foram encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº12/2001, em produtos lácteos .....	28

## **LISTA DE ABREVIACÕES E SIGLAS**

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BPF: Boas Práticas de Fabricação

CISPOA: Coordenadoria de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal

DTAs: Doenças Transmitidas por Alimentos

ETAs: Enfermidades Transmitidas por Alimentos

OMS: Organização Mundial da Saúde

RDC: Resolução de Diretoria Colegiada

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	8
<b>2.1</b>	<b>Principais Patógenos de Origem Alimentar</b> .....	11
2.1.1	<i>Salmonella</i> spp.....	11
2.1.2	Estafilococos coagulase positiva .....	13
2.1.3	<i>Listeria monocytogenes</i> .....	16
2.1.4	<i>Escherichia coli</i> .....	18
2.1.5	<i>Clostridium perfringens</i> .....	21
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	23
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
<b>4.1</b>	<b>Produtos cárneos</b> .....	25
<b>4.2</b>	<b>Produtos lácteos</b> .....	28
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	31
	REFERÊNCIAS .....	32

## RESUMO

Os produtos de origem animal possuem características intrínsecas que constituem-se num meio propício para o desenvolvimento de agentes patogênicos. Além da composição em nutrientes dos alimentos, o armazenamento em locais com temperatura inadequada, faz com que ocorra maior desenvolvimento de microrganismos que podem ocasionar as Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs). As DTAs constituem um importante problema de saúde pública no Brasil e no mundo, sendo geralmente de origem bacteriana. São classificadas em infecções, intoxicações e toxinfecções alimentares. Porém, para causarem a doença, é necessária a ingestão de determinada quantidade de bactérias ou de suas toxinas produzidas. O presente trabalho teve como objetivo realizar um levantamento para saber quais eram os microrganismos mais frequentemente encontrados com limites acima dos aceitáveis e portanto potencialmente causadores de DTA's em produtos de origem animal. Para isso, foram analisados todos os laudos laboratoriais de análises microbiológicas de produtos de origem animal, que se encontravam em desacordo com a RDC nº12/2001 da ANVISA, referentes ao período de janeiro de 2009 a outubro de 2011, esses laudos foram fornecidos pelo setor de qualidade de produto da CISPOA, para que fosse possível realizar essa pesquisa. No período estudado foram analisados e tabulados laudos de 178 produtos de origem animal em desacordo com a legislação vigente, sendo que destes, 97 eram produtos cárneos e 81 eram produtos lácteos, com contagem microbiana acima dos parâmetros estabelecidos pela resolução RDC 12/2001 da ANVISA, que estabelece os padrões microbiológicos para alimentos. Os agentes etiológicos mais frequentemente encontrados com limites acima dos aceitáveis foram: Coliformes a 45°C/g (48,31%), Estafilococos coagulase positiva/g (35,95%), *Salmonella* sp/25g (17,41%), *Listeria monocytogenes*/25g (8,42%) e Clostridio sulfitos redutores a 46°C (3,37%).

Palavra Chave: CISPOA, DTA, Microrganismos

## ***ABSTRACT***

The products of animal origin have inherent characteristics that constitute an environment conducive to the development of pathogens. In addition to the nutrient composition of foods, storage in places with inadequate temperature, makes further development occurring microorganisms that can cause the Foodborne Diseases (DTAS). The DTAS is a major public health problem in Brazil and abroad, usually of bacterial origin. They are classified into infections, poisoning and food poisoning. However, to cause the disease, it is necessary to intake a certain amount of bacteria or their toxins produced. This study aimed to conduct a survey to learn what were the microorganisms commonly found with above acceptable limits and thus potentially causing DTA's in products of animal origin. For this, we analyzed all reports of laboratory microbiological analysis of products of animal origin, which were in disagreement with the RDC No. 12/2001 of the ANVISA, for the period January 2009 to October 2011, these reports were provided by industry quality of product CISPOA, so they could perform this research. During the study period were tabulated and analyzed 178 reports of animal products in violation of applicable law, and of these, 97 were meat products and dairy products were 81, with microbial count above the parameters established by ANVISA resolution RDC 12/2001 establishing microbiological standards for foods. The etiological agents most frequently found with above acceptable limits were Coliforms at 45 ° C / g (48.31%), coagulase-positive staphylococci / g (35.95%), Salmonella sp/25g (17.41%), Listeria monocytogenes / 25g (8.42%) and Clostridium at 46 ° C (3.37%).

Keyword: CISPOA, DTA, Microorganisms

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças transmitidas por alimentos (DTAs) constituem-se num dos problemas de saúde pública mais frequentes do mundo contemporâneo. São causadas por agentes etiológicos, principalmente microrganismos, os quais penetram no organismo humano através da ingestão de água e alimentos contaminados (NOTERMANS; HOOGENBOOM-VERDEGAAL 1992, AMSON et al. 2006). As pessoas de camadas menos favorecidas da população geralmente são as mais afetadas pela contaminação alimentar, devido aos hábitos culturais da alimentação e à necessidade de optar por produtos com menor preço, geralmente de qualidade inferior e mais contaminados (BALBANI; BUTUGAN 2001).

Entre as causas mais frequentes de contaminação dos alimentos, destacam-se a manipulação e a conservação inadequadas dos mesmos, além da contaminação cruzada entre produtos crus e processados (COSTALUNGA; TONDO, 2002; SANTOS et al. 2002; NADVORNY et al. 2004; CARMO et al. 2005, MURMANN et al. 2008).

As doenças transmitidas por alimentos podem dar origem a surtos. Segundo o Centers for Disease Control and Prevention, surto de DTA é o episódio em que duas ou mais pessoas apresentam doença semelhante após ingerirem alimentos de origem comum (CDC, 2000).

A maioria dos casos de DTA não é notificada, pois muitos microrganismos patogênicos presentes nos alimentos causam sintomas brandos, fazendo com que a vítima não busque auxílio médico (COSTALUNGA; TONDO, 2002; FORSYTHE, 2002). Os sintomas mais comuns incluem algia estomacal, náusea, vômitos, diarreia e febre. Dependendo do agente etiológico envolvido, o quadro clínico pode ser extremamente sério, com desidratação grave, diarreia sanguinolenta, insuficiência renal aguda e insuficiência respiratória (FORSYTHE, 2002; RODRIGUES et al. 2004; CARMO et al. 2005; MURMANN et al. 2008).

Segundo a resolução – RDC 12/2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na qual foi aprovado o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos (BRASIL, 2001), existe a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando à proteção à saúde da população e a regulamentação dos padrões microbiológicos para alimentos, indispensáveis para a avaliação da qualidade microbiológica, incluindo a elucidação de DTA's. Esse Regulamento Técnico fornece parâmetros para os limites de microrganismos considerados patogênicos em produtos

de origem animal, sendo assim possível verificar em análises laboratoriais a qualidade microbiológica dos alimentos e confirmar se os mesmos são próprios ou impróprios para o consumo.

A Resolução nº 20, de 22 de outubro de 2003 (RIO GRANDE DO SUL, 2003a) e a Portaria nº 537, de 11 de dezembro de 2003 (RIO GRANDE DO SUL, 2003b), estabelecem a obrigatoriedade do cumprimento do cronograma de análises físico-química e microbiológica da água de abastecimento interno e microbiológica dos produtos de origem animal registrados na Coordenadoria de Inspeção Sanitária de Produtos de Origem Animal (CISPOA). Quando um produto apresenta um laudo de uma análise microbiológica em desacordo com a RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001), este laudo é enviado para o Setor de Qualidade de Produto da CISPOA, onde é arquivado.

O Setor de Qualidade de Produto da CISPOA forneceu os laudos laboratoriais de análises microbiológicas de produtos de origem animal do período de janeiro de 2009 a outubro de 2011, que se apresentavam fora dos padrões estabelecidos pela resolução RDC 12/2001 da ANVISA, para que fosse possível realizar essa pesquisa.

O presente trabalho teve como objetivo a realização de um levantamento para saber quais eram os microrganismos mais frequentemente encontrados com limites acima dos aceitáveis em produtos de origem animal, segundo a RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A contaminação dos alimentos pode ser de natureza biológica, química ou física (FRANCO; LANDGRAF, 1996; GERMANO et al., 2000). Os contaminantes biológicos incluem as bactérias, vírus, fungos e parasitas; as contaminações de natureza química podem ser causadas por diversas substâncias potencialmente tóxicas, entre elas, metais pesados, agrotóxicos, antibióticos, toxinas de animais e plantas; e as contaminações físicas podem ser causadas por diferentes materiais estranhos ao alimento, como por exemplo, a presença de pedaços de vidro ou fragmentos metálicos (BRASIL, 2006).

Segundo autoridades da área de proteção de alimentos, a contaminação de natureza biológica de origem microbiana, é considerada a mais importante para a Saúde Pública (GERMANO; GERMANO, 2001).

Segundo o Manual integrado de prevenção e controle de doenças transmitidas por alimentos (Brasil, 2006), existe vários mecanismos patogênicos envolvidos com a determinação das DTAs de origem microbiana, de forma simplificada podem-se agrupá-las nas seguintes categorias:

- Infecções: causadas pela ingestão de microorganismos patogênicos, capazes de penetrar e invadir tecidos;
- Toxinfecções: causadas por microrganismos toxigênicos, cujo quadro clínico é provocado pelas toxinas liberadas no momento da multiplicação, esporulação ou lise na luz intestinal;
- Intoxicações: provocadas pela ingestão de toxinas presentes no alimento, estas toxinas são produzidas pelo microorganismo, em decorrência de sua proliferação ou esporulação.

A Tabela 1 apresenta alguns dos agentes mais frequentemente associados com DTA e seus respectivos mecanismos fisiopatológicos.

TABELA 1 - Agentes etiológicos mais comuns em DTA e seus mecanismos fisiopatológicos

<b>Intoxicação</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Bacillus cereus</i> - cepa emética
	<i>Clostridium botulinum</i>
<b>Toxinfecção</b>	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigênica
	<i>Bacillus cereus</i> - cepa diarréica
	<i>Clostridium botulinum</i>
	<i>Clostridium perfringens</i>
	<i>Vibrio cholerae</i> O1
	<i>Vibrio cholerae</i> Não O1
<b>Infecção</b>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7
	<i>Brucella</i> spp
	<i>Salmonella</i> spp
	<i>Escherichia coli</i> invasiva
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
	<i>Entamoeba histolytica</i>
	<i>Aeromonas hydrophila</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	
<b>Infecção e/ou toxinfecção</b>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
	<i>Yersinia enterocolitica</i>
	<i>Shigella</i> spp

Fonte: Adaptado de BRASIL (2006).

## 2.1 Principais Patógenos de Origem Alimentar

### 2.1.1 *Salmonella* spp.

A *Salmonella* recebeu este nome em homenagem ao seu descobridor, Daniel Salmon (BUREAU OF ANIMAL IND., 1889). Este gênero está amplamente distribuído na natureza, já tendo sido isolado de todos os vertebrados (ROOF et al., 1992), tendo o homem e os animais como seus reservatórios primários (CAMPOS, 2005).

Atualmente, o gênero *Salmonella* está dividido em três espécies: *S. entérica*, *S. bongori* e *S. subterranea* (SHELOBOLINA et al., 2004) e em mais de 2.500 sorovares identificados, com vasta distribuição na natureza (POPOFF et al., 2003), podendo estar presente no trato gastrointestinal de diversos animais, incluindo peixes, répteis, pássaros e mamíferos (HIRSH, 1990; CLARKE; GYLES, 1993). A maioria dos sorovares não é

adaptada a um único hospedeiro, podendo causar doença tanto no homem como em animais (WRAY; SOJKA, 1977; SCHWARTZ, 2000). No entanto, apenas um pequeno número dentre estes sorovares está frequentemente associado à doença, como Typhimurium e Enteritidis (WRAY; SOJKA, 1977). Estes podem causar infecções intestinais de severidade variada, estando envolvidos nos casos clássicos de toxinfecções alimentares (VARNAM, 1991).

O gênero *Salmonella* pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram negativos, predominantemente móveis pela presença de flagelos peritríquios (GRIMONT et al., 2000), sendo as espécies *S. gallinarum* e *S. pullorum* imóveis (GERMANO; GERMANO, 2001), são anaeróbios facultativos, que apresentam metabolismo respiratório e fermentativo (HOLT et al., 1994). A partir da fermentação de D-glicose e outros carboidratos produzem ácido e gás (GERMANO; GERMANO, 2001; TORTORA et al., 2005). Geralmente não fermentam a lactose (CLARKE; GYLES, 1993). São indol negativos, oxidase negativos, catalase positivos e produzem gás sulfídrico (HOLT et al., 1994).

A temperatura ótima para crescimento é 37°C (HOLT et al., 1994; FRANCO; LANDGRAF, 1996), porém desenvolvem-se numa faixa de crescimento de 7°C a 45°C (GRIFFITH et al., 2006), são resistentes a dessecação e ao congelamento, possuindo a capacidade de sobreviver no ambiente por anos (WILCOCK; SCHWARTZ, 1993). No entanto são sensíveis à luz solar e à maioria dos desinfetantes como fenóis, clorados e iodados (SOBESTIANSKY et al., 1999).

O crescimento de *Salmonella* sp. ocorre em um pH ótimo entre 6,5 e 7,5, admitindo uma variação entre 4,5 e 9,0 (QUINN et al., 2005). Valores inferiores a 4,1 inativam e destroem a *Salmonella* sp. (TORTORA et al., 2005).

Segundo Tortora (2002), quase todos os membros desse gênero são potencialmente patogênicos causando salmonelose ou gastroenterite por *Salmonella*. São habitantes comuns do trato intestinal de vários animais, principalmente aves e bovinos podendo contaminar os alimentos em condições sanitárias precárias.

Na salmonelose humana, o período de incubação, para amostras não tifoides, é de 12 a 72 horas e os sintomas mais comuns são cefaleia, náuseas, vômito, cólica abdominal, diarreia e febre moderada (RIEDEL, 2005). A diarreia pode durar até duas semanas, porém a fase aguda ocorre nas primeiras semanas após a infecção (BRASIL, 2005). A população de maior risco (crianças, idosos e imunodeprimidos) é relacionada como grupo mais afetado por salmonelose (CDC, 2009). A gravidade e o período de incubação dependem do número de salmonelas ingerido, normalmente a recuperação completa ocorre em alguns dias, mas alguns

pacientes disseminam o microrganismo em suas fezes por até 6 meses, sendo portadores assintomáticos (TORTORA, 2002).

Os alimentos envolvidos em surtos de salmoneloses são todos aqueles que possuem alto teor de umidade e com alta porcentagem de proteína (GERMANO; GERMANO, 2001).

Segundo a *European Food Safety Authority* (EFSA, 2008), os principais alimentos envolvidos em surtos, estão relacionados ao consumo de carnes mal cozidas e ovos crus. As pessoas que apreciam alimentos insuficientemente cozidos ou crus, notadamente carne e ovos, estão mais expostas a salmoneloses (GERMANO; GERMANO, 2001).

A prevenção depende de boas medidas de saneamento, higiene do abate, pasteurização do leite, manipulação adequada dos alimentos, conservação e cocção em temperaturas corretas, para impedir a multiplicação do microrganismo (GERMANO; GERMANO, 2001). É preciso evitar a contaminação cruzada entre alimentos, pois a *Salmonella* contida em um alimento pode contaminar uma superfície que posteriormente será utilizada para preparação de outro alimento (TORTORA, 2002).

#### 2.1.2 Estafilococos coagulase positiva

Os estafilococos são bactérias Gram-positivas, imóveis, de forma esférica, medindo de 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$  (CUNHA NETO et al., 2002), que ocorrem em arranjos que se assemelham a cachos de uva (TORTORA, 2002). Apresentam metabolismo respiratório e fermentativo, atuando sobre carboidratos com produção de ácidos, sendo aeróbios e anaeróbios facultativos (CUNHA NETO, 2002). Crescem bem sob condições de alta pressão osmótica e pouca umidade (TORTORA, 2002). A multiplicação ocorre entre 7°C e 48°C, sendo 37°C a temperatura ótima para desenvolvimento. Algumas cepas produzem uma enterotoxina, proteína altamente termoestável (GERMANO; GERMANO, 2001).

O gênero *Staphylococcus* é composto por cerca de 27 espécies, sendo algumas frequentemente associadas a uma ampla variedade de infecções de caráter oportunista, em humanos e animais (TRABULSI, 1999). As principais espécies de estafilococos encontrados em humanos são os *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Staphylococcus saprophyticus* (TRABULSI, 1999).

Os estafilococos são divididos em dois grupos: coagulase positiva e coagulase negativa. Entre os coagulase positiva, o *S. aureus* representa a espécie geralmente envolvida em infecções humanas (TORTORA, 2000).

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são habitantes usuais, da pele, das membranas mucosas, do trato respiratório superior e do intestino do homem (GERMANO; GERMANO, 2001), destacando-se entre elas o *Staphylococcus aureus*, o de maior patogenicidade (TRABULSI, 1999).

Em saúde pública, em particular na área de vigilância sanitária de alimentos, o *Staphylococcus aureus* é considerado como um dos mais frequentes causadores de surto de toxinfecção, devido ao importante papel desempenhado pelos manipuladores, durante as diferentes etapas de processamento dos alimentos, somado aos riscos de contaminação das matérias primas desde sua origem e às temperaturas inadequadas de conservação pós-cocção (GERMANO; GERMANO, 2001).

Segundo Cunha Neto et al. (2002), a intoxicação alimentar provocada por *S. aureus* é devida à ingestão de enterotoxinas produzidas e liberadas pela bactéria durante a sua multiplicação no alimento. Essa intoxicação ocorre devido à ingestão de alimentos, inicialmente contaminados com a bactéria, submetidos a temperaturas de cocção insuficientes para provocar sua destruição e depois mantidos a temperaturas inadequadas para conservação, havendo assim a multiplicação bacteriana e conseqüente produção de enterotoxina (GERMANO; GERMANO, 2001).

Becker et al. (1998) descrevem os *S. aureus* como produtores de um ou mais de um grupo de exotoxinas específicas que incluem: as enterotoxinas estafilocócicas, a toxina estafilocócica esfoliativa e toxina da síndrome do choque. Várias espécies do gênero *Staphylococcus* são apontadas como capazes de produzir as enterotoxinas estafilocócicas (JAY, 1992). Entretanto, apenas o *S. intermedius*, além do *S. aureus*, já foi claramente associado a surtos de intoxicação alimentar (KHAMBATY et al., 1994).

As enterotoxinas estafilocócicas que causam intoxicação alimentar são classificadas por um critério sorológico em grupos antigênicos, sendo que o número de tipos varia com a homologia de sua identificação (LOIR et al., 2003).

Kamboj et al. (2006) descreveram que existem diferentes tipos de enterotoxinas divididas em A até E; G; H; R e U, entretanto somente algumas são capazes de causar intoxicação alimentar.

Segundo Bergdoll (1983) as enterotoxinas são altamente estáveis, resistem à maioria das enzimas proteolíticas, como pepsina e tripsina, portanto, mantêm atividade no trato digestivo após a ingestão. Também são altamente termoestáveis e resistentes à cocção (FORSYTHE, 2002).

As enterotoxinas funcionam não só como potentes toxinas gastrintestinais, mas também como superantígenos, estimulando a proliferação de células T de forma não-específica, induzindo uma produção desordenada de citocinas (BALABAN; RASOOLY, 2000). As citocinas liberadas em resposta a esse estímulo, ligam-se a neuro-receptores do trato intestinal que estimulam o centro do vômito no cérebro, causando os sintomas característicos (KAMBOJ et al., 2006).

A intoxicação alimentar estafilocócica é caracterizada por causar náuseas, vômitos, dores abdominais e diarreia, e por um curto período de incubação, de 30 minutos a 6 horas após a ingestão do alimento. O período de incubação e a severidade dos sintomas dependem da quantidade de enterotoxina ingerida e da susceptibilidade do indivíduo (CUNHA NETO et al., 2002). O restabelecimento é, em geral, rápido (1-5 dias) e a mortalidade muito baixa (RIEDEL, 2005).

Os alimentos envolvidos em surto de intoxicação estafilocócica, são aqueles que possuem elevado teor de umidade e com alta porcentagem de proteína, tais como carnes e os produtos derivados de bovinos, de suínos e de aves, além de ovos (GERAMANO; GERMANO, 2001). Surtos de intoxicação alimentar causados por *S. aureus* são frequentemente relatados, pois havendo no alimento condições favoráveis à multiplicação, em poucas horas certas linhagens produzem toxinas termoestáveis que são responsáveis pelo quadro clínico (RADDI et al., 1988; PINTO, 1999). Alimentos que requerem muita manipulação durante a preparação e são mantidos a temperaturas ligeiramente elevadas após sua preparação são aqueles frequentemente envolvidos em intoxicações alimentares causadas por estafilococos (FORSYTHE, 2002).

Segundo Silva Júnior (2002), o humano pode infectar-se por contato direto com indivíduos doentes ou portadores, ou indiretamente, através da água, do solo, ar, fômites e alimentos. Nesta cadeia epidemiológica, o alimento é um carreador de microrganismos e, pode ser contaminado diretamente a partir das vias de eliminação do homem e dos animais.

Os principais reservatórios de *Staphylococcus aureus* são os humanos e os animais, estando presentes nas vias nasais, cabelos e pele de indivíduos saudáveis (FORSYTHE, 2002). Estima-se que 20 até 60% da população humana possa ser portadora da bactéria, sem apresentar qualquer tipo de doença. Nestas circunstâncias, os portadores humanos, mesmo em condições normais de saúde, sempre representam risco quando lidam com alimentos, pois podem contaminá-los durante as diferentes fases de preparação, através das mãos e das secreções oro - nasais (GERMANO; GERMANO, 2001).

O treinamento de manipuladores é um dos procedimentos de maior relevância para prevenção da contaminação de alimentos, durante as diferentes fases de preparo, aí incluídas todas as medidas de higiene pessoal, utensílios e instalações (GERMANO; GERMANO, 2001). Além disso, deve-se também evitar a contaminação do alimento pelo microrganismo, mantê-lo a baixas temperaturas, pois a toxina estafilocócica é termoestável e não pode ser inativada por métodos de cocção padrão (FORSYTHE, 2002).

### 2.1.3 *Listeria monocytogenes*

Os microrganismos do gênero *Listeria* são bastonetes Gram-positivos, não esporulados (JAY, 2005). *Listeria* spp. são microrganismos anaeróbios facultativos, em média possuem 1 a 2 µm de comprimento e 0,5 µm de largura, móveis à temperatura de 10 a 25°C. Em relação a faixa de pH, a melhor encontra-se entre 6 a 8, porém ainda não está bem definido o pH mínimo para o crescimento e sobrevivência do gênero, podendo este, variar com a temperatura de incubação, atividade de água, composição dos nutrientes entre outros (JAY, 2005).

As espécies do gênero *Listeria* se caracterizam também por apresentar reações de catalase positiva, oxidase negativa e não apresentam hidrólise da ureia e portanto, redução de nitrato (LOW; DONACHE, 1997). Possuem temperatura ótima de crescimento entre 30 e 37°C, porém a temperatura mínima de crescimento encontra-se entre 1,7 a 3,0°C e a máxima é cerca de 45°C (BILLE et al., 1999). Caracterizam-se também, como microrganismos ambientais e, portanto encontram-se amplamente distribuídos na natureza podendo ser encontrados em vegetação deteriorada, solos, fezes de animais, silagem, esgotos, água, carne crua e processada, leite, queijos, vegetais crus, restos de matadouro e portadores assintomáticos (VÁZQUEZ-BOLAND et al., 2001).

O gênero *Listeria* inclui seis espécies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi*, destas, apesar de haver relatos de casos de listeriose com *L. seeligeri*, *L. innocua* e *L. welshimeri* (PERRIN et al., 2003), apenas *L. monocytogenes* e *L. ivanovii* são consideradas patogênicas, a primeira normalmente relacionada a infecções em humanos e a segunda com aborto em animais (SNAPIR et al., 2006).

A diferenciação das espécies do gênero *Listeria* spp. está baseada na presença de atividade hemolítica e na fermentação de açúcares (JEMMI; STEPHAN, 2006).

As espécies de *Listeria* são caracterizadas por seus antígenos, que determinam 17 sorovares, dos quais 13 são representados pela *L. monocytogenes*, principal espécie patogênica (AGUADO et al., 2004).

A *Listeria monocytogenes* é o principal causador de listeriose, grave doença com altas taxas de mortalidade (FARBER; PETERKIN, 1991).

Esse microrganismo possui grande habilidade de crescer e suportar condições adversas como baixas temperaturas, pH ácido, altas concentrações de sal, processos que são utilizados pelas indústrias alimentícias para barrar o crescimento dos microrganismos patógenos (GANDHI; CHIKINDAS, 2007). Além disso, possui facilidade de colonização de superfícies e formação de biofilmes sobre equipamentos da indústria de alimentos e ali permanecer por longos períodos de tempo, há relatos de sobrevivência superior a 10 anos (KATHARIOU, 2002; TOMPKIN, 2002; SWAMINATHAN, GERNER-SMIDT, 2007). Os biofilmes são complexos ecossistemas microbiológicos embebidos em uma matriz de polímeros orgânicos, aderidos a uma superfície. A formação dos biofilmes aumenta a resistência a sanitizantes, desinfetantes e agentes antimicrobianos, desta forma, prejudicando a sua remoção da superfície de equipamentos (ROBBINS et al., 2005).

A listeriose, enfermidade causada pela *Listeria monocytogenes*, é considerada um sério problema de saúde devido a severidade dos sintomas e alta taxa de mortalidade, em torno de 30% apesar de adequado tratamento antimicrobiano (LOW; DONACHE, 1997; SWAMINATHAN; GERNER-SMIDT, 2007). A principal fonte de transmissão é a ingestão de alimentos contaminados. A listeriose atinge principalmente pessoas com o sistema imunológico comprometido como grávidas, recém nascidos, idosos, diabéticos, portadores de neoplasias e da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (FARBER; PETERKIN, 1991).

A dose infectiva da *L. monocytogenes*, bem como, seu período de incubação não estão bem definidos e acredita-se que o aparecimento dos sintomas possa ocorrer de 10 a 70 dias, dificultando a identificação da origem de contaminação em casos isolados (LECUIT, 2007). Em relação à dose infectiva, esta depende do número de microrganismos ingeridos, da susceptibilidade do hospedeiro e da linhagem envolvida (MCLAUHLIN, 2004). Segundo Jemmi e Stephan (2006) a quantidade de microrganismos ingeridos, para o desenvolvimento de listeriose, poderia variar de  $10^2$  a  $10^9$  UFC/g dependendo do estado imunológico do indivíduo.

Os sintomas são bastante parecidos entre todos os indivíduos infectados. Duas formas básicas podem ser observadas: a listeriose neonatal e listeriose em adultos (VÁZQUEZ-

BOLAND et al., 2001). Na sua forma invasiva, a *L. monocytogenes*, adquirida através da ingestão de alimentos contaminados, é capaz de atravessar a barreira intestinal alcançando o fígado e baço, podendo nestes órgãos, multiplicar-se em altos níveis, causando bacteremia e migrar até o cérebro ou placenta causando meningite e encefalite em indivíduos com o sistema imunológico comprometido, abortos em grávidas e infecções generalizadas em neonatos.

A listeriose em grávidas pode ocorrer durante todo o período de gestação, porém, é diagnosticada principalmente no terceiro trimestre (MONNIER et al., 2006). A infecção normalmente apresenta-se assintomática na mãe ou com sintomas semelhantes à de um leve resfriado, enquanto que o feto desenvolve infecção generalizada conhecida como granulomatosis infantiseptica que pode resultar em morte ou parto prematuro (SILVER, 1998). Em adultos, atinge principalmente o Sistema Nervoso Central causando meningite e romboencefalite, outros frequentes sintomas observados em casos de listeriose são bacteremia e septicemia, correspondendo de 15 a 50% dos casos, e com alta taxa de mortalidade em torno de 70% (VAZQUEZ-BOLAND et al., 2001).

#### 2.1.4 *Escherichia coli*

A *E. coli* foi isolada pela primeira vez em 1885, de fezes de crianças, por Theodor Von Escherich (CORRÊA; CORRÊA, 1992; FERREIRA; KOBIL, 2000), o nome dado a esta bactéria, quando descrita pela primeira vez, foi *Bacterium coli commune* devido ao fato de ser uma bactéria encontrada no colon, porção do intestino grosso (RIEDEL, 2005). Também chamou-se *B. coli* até que seu nome atual foi definido por Castellani e Chalmers em 1919 (BARNES et al., 1997). Em 1986 foi bem descrita, sendo considerada por Escherich e Bienstok como participante da microbiota entérica normal do homem e dos animais (CORRÊA; CORRÊA, 1992). Desde as primeiras pesquisas com este microrganismo ficou clara sua associação com a diarreia, particularmente em crianças (RIEDEL, 2005). As infecções ou toxinfecções por *E. coli* passaram a ser denominadas de colibaciloses, sendo os animais e o homem igualmente susceptíveis (SHARF, 1972).

A *E. coli* é membro da família *Enterobacteriaceae* (FERREIRA; KOBIL, 2000; TORTORA, 2000; FORSYTHE, 2002; RIEDEL, 2005), gênero bacteriano com apenas uma única espécie e, aproximadamente, 1000 tipos antigênicos (RIEDEL, 2005), é um dos habitantes mais comuns e mais prolíficos do trato intestinal e, provavelmente, o organismo

mais conhecido na microbiologia (TORTORA, 2000). São bastonetes Gram negativos, não esporulados, com tamanho variando entre 1,1 a 1,5  $\mu\text{m}$  por 2-6 $\mu\text{m}$  (FERREIRA; KOBIL, 2000), catalase positivos, oxidase negativos e anaeróbios facultativos (TORTORA, 2000), a maioria dos isolados fermenta a lactose e faz parte da flora intestinal normal, cerca de  $10^6$  microrganismos/g (FORSYTHE, 2002).

Segundo Lior (1994), as diferentes espécies de *E. coli* podem ser classificadas através da sorotipificação. Kauffmann, em 1944, foi o primeiro a classificar as amostras de *E. coli* por métodos sorológicos, baseando-se na identificação dos antígenos: somáticos O, flagelares H; e, capsulares K (LIOR, 1994; RIEDEL, 2005).

A *E. coli* é a espécie comensal predominantemente na microbiota anaeróbica facultativa do trato gastrointestinal dos humanos e dos animais de sangue quente (DRASAR; HILL, 1974; MORENG; AVANS, 1990). Ela suprime bactérias nocivas e participa da síntese de numerosas vitaminas, chega a representa 80% da flora intestinal aeróbia, sendo eliminada nas fezes, o que propicia a contaminação do solo e das águas (RIEDEL, 2005). É de um modo em geral um comensal inofensivo, mesófilo típico que cresce na faixa de temperatura de  $7^{\circ}\text{C}$  à  $37^{\circ}\text{C}$ , sendo que algumas cepas enteropatogênicas crescem a  $4^{\circ}\text{C}$ .

Para Forsythe (2002), a presença de *E. coli* na água e nos alimentos é um importante indicador de contaminação fecal, sendo normalmente considerada inofensiva, mas algumas cepas podem ser patogênicas.

As cepas de *E. coli* são importantes como possíveis patógenos transmitidos por alimentos, se encontram nas fezes e em geral têm ampla distribuição, embora em pequenas quantidades, nos ambientes onde se encontram os alimentos (FRANCO, 2002). As cepas patogênicas são classificadas de acordo com a sua ação no hospedeiro, podendo ser enteropatogênicas (EPEC), enterotoxigênicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC), enterohemorrágicas (EHEC), enteroagregativas (EaggEC), uropatogênicas (UPEC), neonatalmeningite (NMEC), e facultativamente enteropatogênicas (FEEC) (JAY, 1994; FRANCO; LANDGRAF, 1996). Segundo Tortora (2002), todas as cepas patogênicas de *E. coli* possuem fimbrias especializadas que permitem que se liguem a certas células do epitélio intestinal, esse microrganismo também produz toxinas que causam distúrbios gastrintestinais, denominados coletivamente de gastroenterite por *E. coli*. Dentre as inúmeras cepas enterovirulentas desse microrganismo, a que constitui maior preocupação para as autoridades de saúde, é a *E. coli* O157: H7 responsável pela forma enterohemorrágicas da infecção, tendo sido identificada em 1982, associada a surtos de colite hemorrágica (RIEDEL, 2005).

Segundo Riedel (2005), durante a maior parte do século XX, a indústria de alimentos, considerou a contaminação por *E coli*, meramente, como um problema relacionado a práticas insatisfatórias de higiene, contaminação de origem fecal, porém nas últimas décadas, comprovou-se que muitos tipos de bactérias eram altamente patogênicos para o homem e podiam provocar infecções graves, levando os pacientes ao óbito.

As doses infectantes de *E. coli*, que permitem a colonização do microrganismo ao nível das células intestinais dos indivíduos infectados e a consequente produção de toxina, variam de acordo com o tipo de cepa considerada e com a idade do indivíduo exposto, bem como de seu estado imune (RIEDEL, 2005).

Apesar do elevadíssimo número de tipos antigênicos, apenas uma minoria de cepas é capaz de provocar doença no homem. As diarreias causadas pela *E coli* apresentam distribuição mundial, contudo a real extensão da incidência não está dimensionada, principalmente devido à elevada subnotificação de casos (RIEDEL, 2005).

A incidência de infecções é maior nas regiões tropicais, onde predominam grandes aglomerações populacionais, as condições sanitárias são precárias e a contaminação dos suprimentos de água é uma constante (RIEDEL, 2005).

As principais vias de transmissão são alimentos de origem animal e vegetal, principalmente quando consumidos crus ou insuficientemente cozidos, além da água de abastecimento não tratada (RIEDEL, 2005). A água contaminada com dejetos de esgoto é uma das mais importantes vias de transmissão do agente na natureza, por outro lado, qualquer alimento exposto à contaminação fecal, seja através da água de preparo ou dos manipuladores infectados, é capaz de veicular a *E coli* (RIEDEL, 2005).

A carne bovina moída é a maior responsável pela ocorrência de surtos de *E coli*, sobretudo quando consumida crua ou insuficientemente cozida; constitui, também, a causa mais comum das infecções enterohemorrágicas e enteroinvasivas. Nas mesmas condições, a carne de aves, tem sido apontada como causa de surtos de toxinfecção alimentar, principalmente a enteropatogênica (RIEDEL, 2005).

Os produtos lácteos, especialmente o leite cru, e em menor extensão os queijos, são vias de transmissão importantes para o patógeno. O leite cru em particular tem sido responsável por surtos de toxinfecções enterohemorrágicas e enteroinvasivas (RIEDEL, 2005).

### 2.1.5 *Clostridium perfringens*

Segundo Tortora et al. (2005) um dos agentes comumente envolvidos em intoxicação alimentar é o *Clostridium perfringens*, que são bastonetes Gram positivos, esporulados, anaeróbios (FORSYTHE, 2002), porém podem multiplicar-se na presença de 5% de oxigênio, apresenta cápsula, não toleram baixa atividade de água, apresentam crescimento ótimo em pH 5,5 a 8,0 e temperatura 37 a 45°C e produzem gás como dióxido de carbono e hidrogênio. Podem produzir cinco tipos de toxinas (A, B, C, D e E), sendo a maioria dos casos descritos de sintomas de intoxicação alimentar provocado por cepas tipo A.

Inicialmente, foi isolado de material de necropsia de casos de indivíduos que apresentavam bolhas de gás nos vasos sanguíneos, frequente nos períodos de guerra. A detecção e isolamento de *C. perfringens* só foi possível a partir de 1959, quando grupos de pesquisa começaram a se dedicar ao estudo dos anaeróbios e de meios adequados para o isolamento da bactéria. Somente a partir desta data é que grandes surtos de etiologia desconhecida começaram a ter como agente etiológico *C. perfringens* (SHINOHARA, 2003). Na atualidade, é reconhecido como um dos agentes mais frequentemente envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares, no mundo todo, atrás apenas das salmoneloses (GERMANO & GERMANO, 2001).

O *C. perfringens* é um importante agente patogênico causador de intoxicação alimentar, enterites em humanos e enterotoxemia em animais domésticos. Este microrganismo produz em torno de 15 toxinas e divide-se em cinco tipos toxigênicos, denominados A, B, C, D e E, que se diferenciam com base na produção de toxinas (JAY, 1996). Cepas pertencentes ao *C. perfringens* tipo A e algumas cepas do tipo C e D causam intoxicação de origem alimentar. As cepas de *C. perfringens* tipo A estão relacionadas com enfermidades transmitidas por alimentos e têm sido associadas à casos de diarreia infantil, inclusive síndrome da morte súbita infantil e diarreia em recém nascido, embora esta relação não esteja bem definida (VARNAN; EVANS, 1996; TRABULSI; TOLEDO, 1998; STAGNITTA et al., 2002).

O *C. perfringens* tem como *habitat* normal o solo e o trato intestinal do homem e de outros animais de sangue quente, existindo variações na distribuição de acordo com o tipo de microrganismo. O tipo A faz parte habitualmente da microbiota intestinal de homens e animais, tendo sido frequentemente isolado das fezes de ambos; os tipos B, C, D e E parecem

ser parasitas obrigatórios, são isolados dos animais, mas ocasionalmente podem ser isolados do homem (SIQUEIRA, 1995; VARNAN; EVANS, 1996).

Em portadores humanos, o *C. perfringens* tipo A é um membro comum da flora intestinal, onde cerca de 80 a 100% da população sadia excreta este microrganismo. O microrganismo também pode fazer parte da flora normal oral e vaginal de algumas pessoas, podendo este estar presente na urina, desta forma, os manipuladores de alimentos podem ser carreadores da infecção (VARNAN; EVANS, 1996).

Os alimentos geralmente envolvidos são os derivados cárneos ou de aves cozidos contendo um grande número de células viáveis. As linhagens do tipo A são as mais encontradas como causadoras de intoxicação alimentar, algumas linhagens do tipo C produzem enterotoxinas e podem causar intoxicação alimentar, sendo a enfermidade mais grave denominada enterite necrótica (LABBE, 2001; JAY, 2005).

Para Forsythe (2002), a causa da intoxicação alimentar por *C. perfringens* ocorre por temperatura inadequada dos alimentos cozidos. Para que o *C. perfringens* possa causar a infecção alimentar no homem a dose infectante deve ser de  $10^6$  bactérias por grama ou a fração ingerida do alimento contaminado deve conter uma quantidade superior a  $10^8$  células vegetativas. A toxina é produzida no trato digestivo e está associada com a esporulação (GERMANO & GERMANO, 2001).

A forma mais comum de intoxicação por *C. perfringens* é caracterizada por diarreia e dores abdominais intensas que iniciam 8 a 12 horas após o consumo do alimento contendo grande quantidade do microrganismo, durante aproximadamente 24 horas (FORSYTHE, 2002).

O controle deste microrganismo pode ser feito mediante cocção e resfriamento rápido que reduzem a possibilidade de sobrevivência e posterior esporulação do clostrídio. O reaquecimento do alimento até 70°C imediatamente antes do consumo destrói qualquer célula vegetativa presente (FORSYTHE, 2002).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

A Resolução nº 20, de 22 de outubro de 2003 (RIO GRANDE DO SUL, 2003a) e a Portaria nº 537, de 11 de dezembro de 2003 (RIO GRANDE DO SUL, 2003b), estabelecem a obrigatoriedade do cumprimento do cronograma de análises físico-químicas e microbiológicas da água de abastecimento interno e microbiológicas dos produtos de origem animal registrados na CISPOA. Quando um produto apresenta um laudo de uma análise microbiológica em desacordo com a RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001), este laudo é enviado para o Setor de Qualidade de Produto da CISPOA, onde é arquivado.

O Setor de Qualidade de Produto disponibilizou seu arquivo de laudos para consulta desta pesquisa. O período pesquisado foi de janeiro de 2009 a outubro de 2011 e neste período foram tabulados e analisados os resultados de laudos de 178 produtos de origem animal.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os laudos tabulados e analisados permitiram identificar os seguintes dados: quantidade total de produtos de origem animal que apresentavam padrões microbiológicos fora dos parâmetros estabelecidos pela resolução RDC 12/2001 da ANVISA, quantidade de produtos cárneos e quantidade de produtos lácteos em desacordo com os padrões da RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001) no período de janeiro de 2009 a outubro de 2011.

A Tabela 2 apresenta a distribuição anual dos produtos de origem animal que apresentaram laudos de análises microbiológicas em desacordo com a resolução RDC 12/2001 da ANVISA, durante o período estudado.

TABELA 2 - Distribuição anual dos produtos de origem animal que apresentaram laudo de análises microbiológicas em desacordo com a RDC nº 12/2001

Ano	Número de produtos de origem animal
2009	113
2010	44
2011 (Outubro)	21
<b>TOTAL</b>	<b>178</b>

Verificou-se que o número de produtos de origem animal que apresentaram laudo de análises microbiológicas em desacordo com a RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001) diminuiu ao longo dos anos no período estudado. Isto pode ser devido ao intenso trabalho dos Médicos Veterinários que são os responsáveis fiscais nos estabelecimentos registrados na CISPOA e ao cumprimento nos estabelecimentos das seguintes legislações:

- A Resolução nº 20/2003 (RIO GRANDE DO SUL, 2003a) e a Portaria nº 537/2003 (RIO GRANDE DO SUL, 2003b), que estabelecem a obrigatoriedade do cumprimento do cronograma de análises físico-química e microbiológica da água de abastecimento interno e microbiológica dos produtos de origem animal registrados na CISPOA.
- A Portaria nº 211/2009 (RIO GRANDE DO SUL, 2009), estabelece as normas para implantação das Boas Práticas de Fabricação em todos os estabelecimentos registrados na CISPOA.

Na Tabela 3, pode-se observar quais foram os agentes etiológicos que mais se encontravam com limites acima dos aceitáveis em produtos de origem animal, segundo a RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001), no período de janeiro de 2009 a outubro de 2011.

TABELA 3 - Agentes etiológicos que mais foram encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº12/2001

Agente etiológico	Porcentagem
<i>E coli</i>	48,31%
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	35,95%
<i>Salmonella</i> spp	17,41%
<i>Listeria monocytogenes</i>	8,42%
<i>Clostridium</i> sulfitos redutores	3,37%

Dos 178 produtos, que apresentaram laudos laboratoriais de análises microbiológicas em desacordo resolução RDC 12/2001 da ANVISA, 97 (54,5%) eram de produtos cárneos e 81(45,5%) eram de produtos lácteos.

#### 4.1 Produtos cárneos

Na Tabela 4 pode-se observar em porcentagem quais foram os microrganismos que mais se encontravam com limites acima dos aceitáveis em produtos cárneos, segundo a RDC nº12/2001 (BRASIL, 2001), no período estudado.

TABELA 4 - Microrganismos que mais foram encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº12/2001, em produtos cárneos

Microrganismo	Porcentagem
<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva	41,23%
Coliformes a 45°C	36,08%
<i>Salmonella</i> spp.	31,95%
Clostrídios sulfitos redutores	6,18%

A carne está exposta à contaminação desde a sangria do animal até o consumo do alimento, e frequentemente está envolvida na disseminação de patógenos causadores de enfermidades aos humanos e aos animais (SOUSA et al., 2000). Por ocasião do abate a carne, pode ser contaminada devido ao contato com pelo, pele, cascos, conteúdo do trato gastrintestinal, equipamentos e utensílios utilizados no abate, mãos e vestuários do pessoal envolvido no processo e água utilizada para a lavagem de carcaças (LEITÃO, 1984).

Os *Staphylococcus* spp., são uma indicação de perigo potencial à saúde pública devido à enterotoxina estafilocócica (termoestável), bem como à sanitização questionável, principalmente quando o processo de produção envolve manipulação do alimento (FRANCO & LANDGRAF, 1996; FERNANDES & MIRANDA, 2001; OLIVEIRA, 2001). A contagem de *Staphylococcus* coagulase positiva tem significado como indicador de manipulação inadequada e como microrganismo causador de DTA, é possível supor que as altas contagens obtidas estejam relacionadas a uma precária condição de manipulação e ainda acena com a possibilidade destes produtos serem potencialmente capazes de causar DTA, uma vez que *Staphylococcus* acima de  $10^5$  UFC/g podem produzir enterotoxinas suficientes para causar doença no consumidor. (ALBUQUERQUE, 2006).

A presença de Coliformes a 45°C em alimentos indica condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento, e altas contagens podem significar contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, matéria-prima contaminada, tratamento térmico ineficiente ou pode ser reflexo de falta de higiene pessoal dos manipuladores (BROD, 2002; MACIEL, 2002).

Microrganismos indicadores são aqueles que quando presentes num alimento, podem fornecer informações sobre ocorrência de contaminação de origem fecal, a provável presença de patógenos ou sobre a deterioração potencial do alimento, além de indicarem condições sanitárias inadequadas durante o processamento, produção ou armazenamento. Coliformes totais, termotolerantes e *Staphylococcus* coagulase positiva são considerados microrganismos indicadores (FRANCO e LANDGRAF, 2002).

Entre os agentes que causam enfermidades transmitidas por alimentos (ETAs), a *Salmonella* spp. é o principal e constitui um sério problema para a saúde pública (PELAYO, 1988), devido a sua sintomatologia.

A presença de *Salmonella* spp. em alimentos, por sua vez, torna-os impróprios para o consumo, uma vez que esse é um microrganismo reconhecidamente implicado em surtos de infecção alimentar. É importante salientar que o processamento tecnológico dos produtos cárneos cozidos normalmente destrói *Salmonella* spp. e outros patógenos não esporuláveis. Contudo, contaminações após cozimento podem ocorrer e, em temperaturas favoráveis ocorre o desenvolvimento destes microrganismos (SALVATORI, 2003).

Embora nas últimas décadas algumas bactérias tenham sido reconhecidas como patógenos emergentes, responsáveis por algumas enfermidades importantes, a *Salmonella* spp. ainda continua a ser o principal agente etiológico das ETAs (DOYLE, 1994).

Estudos indicam que em certas partes de equipamentos, que são difíceis de higienizar, como esteiras, picadoras, fatiadoras e embaladoras, estão entre os principais sítios de *Listeria monocytogenes*, mesmo após as operações de limpeza (MIETTINEN et al., 1999; AUTIO et al., 2000; TOMPKIN, 2002). No ambiente industrial, esse microrganismo pode estar em suspensão (JAY, 2005), ou podem se organizar em comunidades na forma de biofilmes, que se fixam às superfícies (GANDHI; CHIKINDAS, 2007). A adesão de *L. monocytogenes* pode ocorrer sobre vários tipos de superfícies (DONLAN, 2002).

Algumas cepas de *L. monocytogenes* podem persistir no ambiente de processamento por longos períodos, havendo relatos de persistência até por mais de 10 anos (KATHARIOU, 2002; TOMPKIN, 2002). Há sugestões de que essa persistência esteja relacionada com a habilidade de algumas cepas formarem biofilmes e assim resistirem aos sanitizantes (HOLAH et al., 2002).

Para Moretro (2004), a persistência está frequentemente associada a equipamentos ou ambientes de difícil higienização. Na indústria de alimentos, as superfícies de equipamentos e de substâncias selantes impermeáveis, de cintas transportadoras e de ralos são potenciais reservatórios de *Listeria* spp. (LADO; YOUSEF, 2007).

Já os *Clostridium* spp., que são formadores de esporos, podem permanecer nos alimentos quando a maioria dos microrganismos entéricos for destruída. Além disso, o *Clostridium perfringens* é a espécie de grande importância para saúde pública, pois os microrganismos desta espécie produzem várias substâncias solúveis de efeitos tóxicos e a intoxicação alimentar por tais germes é uma das DTAs mais comuns, principalmente em produtos cárneos (FRANCO; LANDGRAF, 1996; FERNANDES; MIRANDA, 2001; OLIVEIRA, 2001).

Stagnitta et al. (2002), avaliando carne e derivados cárneos, em São Luis – Argentina encontrou *C. perfringens* em 26,35% das 315 amostras de lingüiça frescal, em 19% das 100 amostras de hambúrgueres e em 24% das 100 amostras de carne moída analisadas. Desta forma, apesar da grande variação de ocorrência, os resultados evidenciam a importância das carnes e derivados cárneos como possíveis veículos de intoxicação alimentar por *C. perfringens*.

## 4.2 Produtos lácteos

Na Tabela 5, pode-se observar em porcentagem quais foram os microrganismos que mais se encontravam com limites acima dos aceitáveis em produtos lácteos, segundo a RDC nº 12/2001 (BRASIL, 2001), no período estudado.

TABELA 5 - Microrganismos que mais foram encontrados com limites acima dos aceitáveis, segundo a RDC nº12/2001, em produtos lácteos

Microrganismo	Porcentagem
Coliformes a 45°C	62,96%
<i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	29,62%
<i>Listeria monocytogenes</i>	18,51%

O leite é um produto que está presente na alimentação de indivíduos de todas as idades e classes sociais, destacando-se, principalmente, na dieta de crianças e idosos (FRANCO et al. 2000), e tem sido considerado como o alimento humano mais próximo da perfeição, por apresentar, entre outras características, um excelente valor nutritivo, devido ao seu teor de proteínas, carboidratos, gorduras, vitaminas, sais minerais e água. Por esta razão, ele também é um excelente meio de cultura, podendo ser facilmente contaminado por vários grupos de microrganismos (DOYLE et al. 1997).

O leite e derivados oferecem aos microorganismos todas as condições necessárias à multiplicação, tornando-os um potencial veiculador de bactérias patogênicas (JAY, 1996).

No Brasil, de modo geral, o leite é obtido sob condições higiênico-sanitárias deficientes, e em consequência, apresenta elevados números de microrganismos, o que constitui um risco à saúde da população, principalmente quando consumido sem tratamento térmico (CERQUEIRA, 1995). Os cuidados higiênicos para evitar a contaminação devem ser iniciados desde a ordenha e continuados até a obtenção do produto final. Diversos microrganismos patogênicos podem ser encontrados contaminando o leite, dentre eles podem-se destacar *Escherichia coli* e *L. monocytogenes* (RIEDEL, 1992).

A obtenção higiênica do leite é o primeiro ponto crítico no processo de fabricação de queijos e de outros derivados, uma vez que o animal, os equipamentos e o ambiente da ordenha podem representar uma fonte importante de contaminação por microorganismos (LANGE, 2003; SCHOLZ, 1997).

Surtos relacionados ao consumo de queijo contaminado com bactérias causadoras de doenças transmitidas por alimentos têm sido freqüentemente relatados (ZOTTOLA, 1991). Existem diversas etapas, ao longo do processamento de queijos, em que os microorganismos podem ser introduzidos no produto. Desta forma, a qualidade do produto final é influenciada pelas condições higiênico-sanitárias em que o leite foi obtido, pelo processamento na indústria, pelas condições de sanificação do ambiente, qualidade da água e pelo armazenamento e transporte da matéria-prima e do produto (ICMSF, 1997).

A presença de bactérias do grupo coliforme em produtos lácteos, em particular a *Escherichia coli*, é apontada pela American Public Health Association, como consequência de condições sanitárias insatisfatórias ou práticas inadequadas durante processamento e estocagem (SPECK1976).

De acordo com Wendpap et al. (1997), a carga microbiana inicial elevada resultara num leite de baixa qualidade, oferecendo riscos a saúde do consumidor. Entretanto um tratamento térmico adequado impossibilitaria a sobrevivência de coliformes fecais, estando por isso sua presença associada à pasteurização insuficiente ou recontaminação pós-processamento, antes ou durante o acondicionamento.

Os resultados obtidos podem ser atribuídos à má qualidade da matéria-prima em virtude de falhas na higiene de produção do leite cru, comprometendo a eficácia da pasteurização (BRANDÃO, 1999). Podem também revelar a existência de falhas na higienização dos equipamentos que entram em contato direto com o leite durante o beneficiamento, ou ainda a manutenção do produto a uma temperatura superior a recomendada pelo Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), o que o inviabilizaria ainda na indústria de beneficiamento (HOFFMANN et al. 1999). A contaminação pós-pasteurização do leite e produtos lácteos está geralmente associada à limpeza deficiente dos equipamentos para embalagem ou contaminação através do ar (COUSIN, 1982).

O *Staphylococcus aureus*, coagulase positiva, é um dos agentes patogênicos mais comuns, responsáveis por surtos de intoxicação alimentar. As peculiaridades do seu habitat tornam sua presença largamente distribuída na natureza, sendo transmissíveis aos alimentos por manipuladores, na maioria das vezes portadores assintomáticos, e pelos animais, principalmente o gado leiteiro com mastite (BALABAN, 2000). A mastite bovina é considerada um dos principais problemas de ordem infecciosa de bovinos produtores de leite, sendo que as causadas por *Staphylococcus coagulase positiva* são as que mais prevalecem

mundialmente. Quanto ao aspecto de saúde pública, a mastite merece importância devido ao risco potencial para transmissão dos microorganismos patogênicos ao homem, pelo do leite e derivados (BALABAN, 2000).

Apesar da pasteurização causar uma diminuição na população de microorganismos presentes no leite, algumas toxinas como a enterotoxina estafilocócica não são inativadas, podendo causar intoxicações alimentares no consumidor (FOX, 1993). Ao lado disto, a recontaminação durante o processamento pode ser um fator importante na qualidade final do produto, principalmente nos tipos frescos, nos quais não existe uma etapa de maturação (FOX, 1993).

Os estafilococos podem ser introduzidos no alimento sob várias formas, entre elas o ato do manipulador levar a mão à boca ou nariz (GONÇALVES, 1998). Outra maneira é através de lesões estafilocócicas, presentes na pele do funcionário que trabalha diretamente com o alimento (PEREIRA, 1999).

A literatura é abundante em relatos de presença de *Listeria* spp. em alimentos, seja nas matérias-primas, durante a produção, durante o processamento ou nos produtos já acabados em exposição nas prateleiras (FRANCO, 1996; PEREIRA, 1993). No Brasil, existem vários registros da presença de *L. monocytogenes* em leite e derivados (DESTRO, 1991; FURLANETTO, 1996; MOURA, 1993; SILVA, 1997; VAN DENDER, 1995).

A adoção do padrão contemplando a ausência de *Listeria* spp. em diversos países (SCHLECH, 1996) visa assegurar um produto isento de risco para o consumidor, pois apesar de uma única célula de *L. monocytogenes* provavelmente não ser suficiente para causar listeriose, sua capacidade de multiplicação em condições de estocagem, mesmo sob refrigeração, faz com que sua presença no alimento coloque em risco a saúde dos consumidores mais susceptíveis, como por exemplo, gestantes, crianças, imunodeprimidos (MADDEN, 1994; SILVA, 1998). A completa exclusão de *L. monocytogenes* dos alimentos é irreal, porém em um futuro próximo, critérios mais convenientes devem ser estabelecidos e rigorosamente adotados (GILBERT, 1995).

Segundo Marshall (1995), pode haver contaminação cruzada de *L. monocytogenes* entre os alimentos e os manipuladores, sendo uma das causas da contaminação do leite depois de pasteurizado. Uma outra possível via de contaminação do leite pasteurizado se refere às falhas no controle da temperatura do pasteurizador, que embora suficientemente altas para exercer um efeito letal sobre os coliformes, não teriam atingido a *Listeria* spp., uma vez que estas bactérias apresentam alta resistência térmica (FRANCO, 1996).

## 5 CONCLUSÃO

Este estudo apontou que os Coliformes a 45°C e o *Staphylococcus* coagulase positiva, são os microrganismos mais frequentes tanto em produtos cárneos, como em lácteos. Isso demonstra que é necessária a intensificação da higiene e sanitização nos estabelecimentos produtores de alimentos de origem animal. O treinamento e a educação dos manipuladores são essenciais para assegurar a qualidade dos produtos (SOUZA, 2004).

A presença de agentes patogênicos em alimentos representa um sério risco à saúde dos consumidores. Por isso deve-se incentivar e valorizar a adoção das boas práticas de fabricação, visando melhorar a qualidade dos produtos e preservar a saúde da população.

## REFERÊNCIAS

- AGUADO, V.; VITAS, A. I.; GARCÍA-JALÓN, I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 90, p. 341- 347, 2004.
- ALBUQUERQUE, F. W et al. Ocorrência de *Vibrio parahaemolyticus* e *Estafilococos* coagulase positivo, em sushis comercializados em alguns estabelecimentos de Fortaleza – CE. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 20, n. 146, p. 58-61, 2006.
- ALTEKRUSE, S. F.; SWERDLOW, D. L. Emerging foodborne diseases. **Emerging Infectious Diseases**. Atlanta, v. 3, n. 3, p. 285-293, 1997.
- AMSON, G. V., HARACEMIV, S. M. C.; MASSON, M. L. Levantamento de dados epidemiológicos relativos a ocorrências/ surtos de doenças transmitidas por alimentos (DTAs) no Estado do Paraná - Brasil, no período de 1978 a 2000. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1139-1145, 2006.
- ARAÚJO, P. C. C. et al. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de peru comercializados na cidade de Niterói-RJ-Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 30, n. 1, p. 19-25, 2002.
- AUTIO, T. et al. *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, Iowa, US; v. 63, n. 10, p. 1438-1442, 2000.
- AKUTSU, R. C. et al. Adequação em boas práticas de fabricação em serviços de alimentação. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 3, p. 419-427, 2005.
- BALBANI, A. P. S.; BUTUGAN, O. Contaminação biológica de alimentos. **Pediatria**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 320-328, 2001.
- BALABAN, N.; RASOOLY, A. Staphylococcal enterotoxins (review). **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 1-10, 2000.
- BARNES, H. J.; VAILLANCOURT, J. P.; GROSS, W. B. Colibacilosis. In: **Diseases of Poultry**. 10<sup>th</sup> ed. Ed. Calnek, B. D. Ames: University Press, 1997. p. 631-644.
- BECKER, K.; ROTH, R.; PETERS, G. Rapid and Specific Detection of Toxigenic *Staphylococcus aureus*: Use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 36, n. 9, p. 2548-2553, 1998.
- BERGDOLL, M. S. Enterotoxins. In: *Staphylococci and Staphylococcal Infections*. **Academic Press**. London. 1983. 559-598 p.
- BILLE et al. *Listeria*, *Erysipelothrix*, and *Kurthia*. In: **Manual of Clinical Microbiology**, Stuttgart, v. 27, p. 454- 461, 2004.

BRANDÃO, A. Restrições econômicas e institucionais a produção de leite na região sul. In: \_\_\_\_\_. **Restrições técnicas, econômicas e institucionais ao desenvolvimento da cadeia produtiva do leite no Brasil- Região Sul**. Brasília: EMBRAPA - CNPGL, 1999. p. 56.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº12, de 02 de Janeiro de 2001. Aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus Anexos I e II. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, Distrito Federal, n. 7, 10 Jan.2001. Seção 1, p. 45-53.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual Integrado de Prevenção e Controle de Doenças Transmitidas por Alimentos**. Brasília, 2006. 136p. Disponível em : <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual\\_dta.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/manual_dta.pdf)>. Acesso em: 07 novembro de 2011.

BRASIL. Secretaria da Vigilância Epidemiológica. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 6ª Ed., Brasília, 2005.

BROD, F. C. A. et al. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de lanches comercializados em vias públicas em cidades da região fronteira noroeste/ RS. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18., 2002, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002. v. 1.

BUREAU OF ANIMAL INDUSTRY. *Classical swine fever*. In: Hog Cholera: It's history, nature and treatment. Washington, 1889. Disponível em: <http://www.archive.org/details/cu31924000384911>. Acesso em 10 de novembro de 2011.

CAMPOS, L. C. *Salmonella*. In: **Microbiologia**. 4. ed. São Paulo, Atheneu. p. 229-238, 2005.

CARDOSO, T. et al. Botulismo alimentar: estudo retrospectivo de cinco casos. **ACTA medica portuguesa**, Lisboa, v. 17, n. 1, p. 54-58, 2004.

CARMO, G. M. I. et al. Vigilância epidemiológica das doenças transmitidas por alimentos no Brasil, 1999-2004. Boletim Eletrônico Epidemiológico, v. 6, p. 1-7, 2005. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol\\_epi\\_6\\_2005\\_corrigido.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol_epi_6_2005_corrigido.pdf). Acesso em: 10 de novembro de 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Botulism in the United States, 1899-1996**: handbook for epidemiologists, clinicians, and laboratory workers. Atlanta: Center For Disease Control and Prevention, 1998.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Surveillance for foodborne-disease outbreaks - United States, 1993-1997. Appendix B - Guidelines for confirmation of foodborne-disease outbreaks. CDC Surveillance Summaries, MMWK, v. 49, p. 54-62, 2000. Disponível em: [http://www.dhss.mo.gov/CDManual/Foodborne\\_condensed.pdf](http://www.dhss.mo.gov/CDManual/Foodborne_condensed.pdf). Acesso em: 10 de novembro de 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Investigation update: outbreak of Salmonella Typhimurium Infections, 2008-2009. Disponível em: <http://www.cdc.gov>. Acesso em: 10 de novembro de 2011.

CERESER, N. D. et al. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 1, p. 280-287, 2008.

CERQUEIRA, M. M. O. P.; LEITE, M. O. Doenças transmissíveis pelo leite e derivados. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n. 13, p. 39-62, 1995.

CHAVES G.M.C. et al. Avaliação bacteriológica de linguiça frescal suína comercializada no município do Rio de Janeiro, RJ. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 73, p. 48-52, 2000.

CLARKE, R. C.; GYLES, C. L. *Salmonella*. In: GYLES, C. L.; CHARLES, O. T. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. 2. ed. Ames: Iowa State University, 1993. p. 133-153.

COUSIN M.A. Presence and activity of Psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: a review. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 45, n. 2, p. 172-207, 1982.

COSTALUNGA, S.; TONDO, E. C. Salmonellosis in Rio Grande do Sul, Brazil, 1997 to 1999. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 342-346, 2002.

CUNHA NETO et al. Staphylococcus enterotoxigênicos em alimentos in natura e processados no Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência e tecnologia de alimentos**, Campinas, v. 22, p. 263-271, 2002.

DESTRO, M. T.; SERRANO, A. M. & KABUKI, D. Y. Isolation of Listeria species from some Brazilian meat and dairy products. **Food Control**, Guildford, v. 2, p. 110-112, 1991.

DONLAN, R.M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 8, n. 9, p. 881-890, 2002.

DOYLE MP.; BEUCHAT LR.; MONTIVILLE TJ. **Food microbiology fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, 1997. 768 p.

EFSA, Journal European Food Safety Authority. Report of task force on zoonoses data collection on the analysis of the baseline survey on the prevalence of Salmonella in slaughter pigs, in the EU, 2006-2007. Part A: Salmonella prevalence estimates. n. 135, p. 111, 2008.

FARBER, J. M.; PETERKIN, P. I. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. **Microbiological Reviews**, Washington, v. 55, n. 3, p. 476-511, 1991.

FERNANDES, F. F.; MIRANDA, Z. B. Estudo comparativo entre a mortadela tipo Bolonha e a imitação de mortadela sob diversos aspectos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 89, p. 54-66, 2001.

FERREIRA, A. J. P.; KOBIL, T. **Colibacilose aviária**. In: Doença das aves. Ed. Berchieri Júnior, A.; Macari, M. Campinas: FACTA, 2000. p. 197-205. 505 p.

FERREIRA, M. C. S, DOMINGUES R. M. C. P. Clostridium. In: TRABULSI, L. R., ALTERHUM, F. (Ed.) **Microbiologia**. 5. <sup>ed.</sup> São Paulo: Atheneu, 2004. p. 400-401.

FIGUEIREDO, M. A. A.; DIAS, J.; LUCENA, R. Considerações acerca de dois casos de botulismo ocorridos no Estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 3, p. 289-291, 2006.

FORSYTHE, S. J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424 p.

FOX, P. F. **Cheese: chemistry, physics and microbiology**. London: Chapman & Hall, 1993. 463 p.

FRANCO, B. D. G.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2002. 182 p.

FRANCO, B. D. G. H.; LANDGRAF, M. **Microbiologia de alimentos**. São Paulo: Atheneu. 1996, 181 p.

FRANCO R. M. et al. Avaliação da qualidade higiênico-sanitária de leite e derivados. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 68-69, p. 70-77, 2000.

FURLANETTO, S. M. P.; SANTOS, M. A. A.; HARA, C. *Listeria* spp. Avaliação da eficiência de quatro meios de plaqueamento no seu isolamento. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 10, n. 46, p. 30-34, 1996.

GANDHI, M.; CHIKINDAS, M.L. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 113, n. 1, p. 1-15, 2007.

GERBA C. P.; ROSE J. B.; HAAS C. N. Sensitive populations: Who is the greatest risk? **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 30, n. 172, p. 113-123, 1996.

GERMANO, M. I. S.; GERMANO, P. M. L; KAMEI, C. A. K. Manipuladores de alimentos: capacitar? É preciso. Regular? Será preciso? **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n.78-79, p. 18-22, 2000.

GERMANO, P. M. L.; GERMANO, M. I. S. **Higiene e vigilância sanitária de alimentos**. 2. ed. São Paulo: Varela, 2001. 655 p.

GILBERT, R. J. Zero tolerance for *Listeria monocytogenes* in foods: is it necessary or realistic, **International Symposium on Problems of Listeriosis**, Perth, vol. 48, n. 4, p. 169-170, 1996.

GÓES, J. A. W. et al. Capacitação dos manipuladores de alimentos e a qualidade da alimentação servida. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 82, p. 20-22, 2001.

GONÇALVES, P. M. R. Toxinfecções alimentares: uma revisão. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 12, n. 53, p. 38-43, 1998.

GRIFFITH et al. Salmonella. Disease of swine. 9. ed. p. 739-751, 2006.

GRIMONT et al. Taxonomy of the Genus *Salmonella*. In Wray, C. & Wray, A. (ed.) **Salmonella in domestic animals**. Londres, UK, p.567-578, 2000.

HIRSH, D. C. *Salmonella*. In: **Review of Veterinary Microbiology**. Boston: Blackwell Scientific Publications, Inc., 1990. p. 110-115

HOFFMANN, F. L. et al. Microbiologia do leite pasteurizado tipo C, comercializado na região de São Jose do Rio Preto - SP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 65, p. 51-54, 1999.

HOLAH, J. T. et al. Biocide use in the food industry and the desinfectante resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 92, p. 111s-120s, 2002. Supplement.

HOLT, J. G. et al. **Bergey's Manual of determinative bacteriology**. 9. ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994. 787 p.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). 1997. **APPCC na qualidade e segurança microbiológica de alimentos**. São Paulo: Varela, 1997. 377 p.

JAY, J. M. **Microbiologia de alimentos**, Porto Alegre: Artmed, 2005. 711 p.

JAY, J. M. **Modern food microbiology**, New York: Chapman & Hall, 1996. 661 p.

JAY, J. M. Staphylococcal gastroenteritis. In: **Modern Food Microbiology**, New York, 2002. 445-478 p.

JEMMI, T.; STEPHAN, R. *Listeria monocytogenes*: food-borne pathogen and hygiene indicator. **Revue Scientifique et Technique Office International de Epizooties**, Paris, v. 25, n. 2, p. 571- 580, 2006.

KAMBOJ, D. V. et al. Heterologous expression of Staphylococcal Enterotoxin B gene for antibody production. **Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 5, p. 551-558, 2006.

KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 65, n. 11, p. 811- 1829, 2002.

LABBE, R. G. *Clostridium. Perfringens*. In:\_\_\_\_\_ **Compendium of methods for the microbiological examinations of foods**. 4. ed. Washington: American Public Health Association-APHA, 2001. 676 p.

- LADO, B. H.; YOUSEF, A. E. Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. In: \_\_\_\_\_ **Listeriose, and food safety**. 3<sup>ed</sup>. Boca Raton: Editora, 2007. cap. 6, p. 157-213.
- LANGE, C. C.; BRITO, J. R. F. Influência da qualidade do leite na manufatura e vida de prateleira dos produtos lácteos: papel das altas contagens microbianas. In: BRITO, J. R. F; PORTUGAL, J.A (Eds.) **Diagnóstico da qualidade do leite, impacto para a indústria e a questão dos resíduos de antibióticos**. Juiz de Fora: Embrapa, 2003. p. 117-138.
- LECUIT, M. Human listeriosis and animal models. **Microbes and Infection**, Paris, v. 9, p. 1216- 1225, 2007.
- LEITÃO, M. F. F. Controle do desenvolvimento microbiano no processamento industrial da carne e produtos cárneos. **Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 21, n. 1, p. 21-39, 1984.
- LIOR, H. Classification of *Escherichia coli*. In: **Escherichia coli in domestic animals and humans**. Ed. Gyles, C. L. Guelph: Cab International, 1994. P. 31-72. 666 p.
- LOW, J. C.; DONACHE, W. A Review of *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. **Veterinary Journal**, London, v. 153, p. 9-29, 1997.
- MACIEL, C. H. P.; PINHEIRO, M. S.; VILASBOAS, G. V. Detecção de *Staphylococcus aureus* enterotoxigênico em manipuladores de uma indústria de lingüiça do estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 18, 2002, Porto Alegre. **Anais**. Porto Alegre: Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002. v. 1.
- MADDEN, J. M. Concerns regarding the occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, and *Escherichia coli* 0157:H7 in Foods Regulated by the U.S. **Food and Drug Administration: a dairy, food and environmental sanitation**, v. 14, n. 5, p. 262-267, 1994.
- MARTINI, M. N.; BATISTUTI, J. Materiais estranhos, 21. Sujidades leves em alimentos: fases e fontes de contaminação, métodos de isolamento, implicações com a saúde humana e legislação. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 2, p. 200-208, 1998.
- MCLAUHLIN et al. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 92, p. 15-33, 2004.
- MIETTINEN, M.K.; BJÖRKROTH, K.J.; KORKEALA, H. J. Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed field gel electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 46, n. 3, p. 187-192, 1999.
- MONNIER et al. Invasion of the placenta during murine listeriosis. **Infection and Immunity**, Washington, v. 74, n. 1, p. 663-672, 2006.

- MORETRO, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. **Biofilms**, London, v. 1, p. 107-121, 2004.
- MORENG, R. E.; AVANS, J. S. **Ciência e produção de aves**. São Paulo: Roca, 1990. 380 p.
- MOURA, S. M.; DESTRO, M.T. & FRANCO, B. D. G. M. Incidence of *Listeria* species in raw and pasteurized milk produced in São Paulo, Brazil. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.19, n. 3, p. 229-237, 1993.
- MUNIZ C. R. et al. Observação microscópica de biofilmes em amostras de presuntos fatiados refrigerados comercializados em supermercados de Fortaleza, Ceará. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.21, n.150, p. 97-98, 2007.
- MÜRMAN, L. et al. Quantification and molecular characterization of *Salmonella* isolated from food samples involved in salmonellosis outbreaks in Rio Grande do Sul, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, **39**: 529-534. 2008.
- NADVORNY A, FIGUEIREDO DMS, SCHMIDT V. Ocorrência de *Salmonella* sp. Em surtos de doenças transmitidas por alimentos no Rio Grande do Sul em 2000. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v. 32, n. 1, p. 47-51, 2004.
- NASCIMENTO, F. C. A. Aspectos sócio-econômicos das doenças veiculadas pelos alimentos. **Nutrição em pauta**, 40: 22-26. 2000.
- NOTERMANS, S.; HOOGENBOOM-VERDEGAAL, A. H. Existing and emerging foodborne diseases. **International Journal of Food Microbiology**, 15(3-4): 197-205. 1992.
- OH, D. H. & MARSHALL, D. L. Influence of packaging method, lactic and monolaurin on *Listeria monocytogenes* in crawfish tail meat homogenate. **Food Microbiology**, London, v. 12, p. 159-163, 1995.
- OLIVEIRA A. M.C. et al. Avaliação de alimentos comercializados no carnaval da cidade do Recife- 2001. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2001, Foz do Iguaçu. **Anais**. Foz do Iguaçu. Sociedade Brasileira de Microbiologia, 2001 p. 397.
- PAIVA, C.P.; BORGES, R.G.; PANETTA, J.C. Frequencia de quadros gastroentéricos em aeronautas: Pressuposta ligação com toxinfecções alimentares. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 75, p. 13-23, 2000.
- PEREIRA, M.L. et al. Estafilococos e alimentos: possibilidades de disseminação através do portador humano e animal. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 13, n. 66-67, p. 48-55, 1999.
- PEREIRA, M. L.; ROCOURT, J. *Listeria monocytogenes*: uma revisão sobre aspectos taxonômicos, importância médica e em alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 7, n. 26, p. 5-12, 1993.
- PERRIN, M.; BEMER, M.; DELAMAREI, C. Fatal case of *Listeria innocua* bacteremia. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 41, n. 11, p. 5308-5309, 2003.

POPOFF, M. Y.; BOCKEMUHL, J.; GHEESLING, L. L. Supplement 2001 (n°45) to the Kauffmann-White scheme. **Research in Microbiology**, v. 154, n. 3, p. 173-174, 2003.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia Veterinária e Doenças infecciosas**, Artmed, Porto Alegre, 2005.

REIJ, M. W.; DEN AANTREKKER, E. D. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 91, n. 1, p. 1-11, 2004.

RIEDEL, G. **Controle sanitário de alimentos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. 79 p.

RIEDEL, G. **Controle sanitário dos alimentos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1992. 320 p.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio. **Resolução nº 20, de 22 de Outubro de 2003**. Estabelece a obrigatoriedade do cumprimento do cronograma de análises físico-química e microbiológica da água de abastecimento interno e microbiológica dos produtos de origem animal registrados na CISPOA. Disponível em : [http://www.saa.rs.gov.br/uploads/12675576511178913060Resolucao\\_20\\_03\\_Analises\\_CISPOA.pdf](http://www.saa.rs.gov.br/uploads/12675576511178913060Resolucao_20_03_Analises_CISPOA.pdf). Acesso em: 10 de novembro de 2011.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio. **Portaria nº 537, de 11 de dezembro de 2003**. Estabelece a obrigatoriedade do cumprimento do cronograma de análises físico-química e microbiológica da água de abastecimento interno e microbiológica dos produtos de origem animal registrados na CISPOA. Disponível em: [http://www.saa.rs.gov.br/uploads/12675576511178913060Resolucao\\_20\\_03\\_Analises\\_CISPOA.pdf](http://www.saa.rs.gov.br/uploads/12675576511178913060Resolucao_20_03_Analises_CISPOA.pdf). Acesso em: 10 de novembro de 2011.

RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura, Pecuária e Agronegócio. **Portaria nº 211, de 05 de Novembro de 2009**. Estabelece as normas para implantação das Boas Práticas de Fabricação em todos os estabelecimentos registrados na Cispoa, substituindo a Portaria 267 de 06 de novembro de 2007. Disponível em: [http://www.saa.rs.gov.br/uploads/12675578341257514742PORTARIA\\_N\\_211\\_2009\\_Obriga\\_BPF.pdf](http://www.saa.rs.gov.br/uploads/12675578341257514742PORTARIA_N_211_2009_Obriga_BPF.pdf). Acesso em: 10 de novembro de 2011.

RITTER, R.; SANTOS, D.; BERGMANN, G. P. Contaminação bacteriana da carne moída bovina comercializada em bancas do mercado público de Porto Alegre, RS. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n. 85, p. 50-56, 2001.

RODRIGUES, K. L. et al. Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Ciência Rural**, 34: 297-299. 2004.

ROBBINS et al. Elimination of *Listeria monocytogenes* biofilms by ozone, chlorine, and hydrogen peroxide. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 68, n. 3, p. 494- 498, 2005.

ROOF, L. et al. Characterization of *Salmonella cholerasuis* isolate after repeated neutrophil exposure. **American Journal of Veterinary Research**. n.53, p. 1328-1332, 1992.

- SALVATORI R.V.; BESSA M.C.C.; ITAPEMA M.R. Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre- RS. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 771-773, 2003.
- SANTOS, L. R. et al. Salmonella Enteritidis isoladas de amostras clínicas de humanos e de alimentos envolvidos em episódios de toxinfecções alimentares, ocorridas entre 1995 e 1996, no Estado do Rio Grande do Sul. **Higiene Alimentar**, 16(102/103): 93-99. 2002.
- SCHLECH, W. F. Overview of listeriosis. **Food Control**, Guildford, v. 7, n. 4-5, p. 183-185, 1996.
- SCHOLZ, W. **Elaboración de quesos de oveja y de cabra**. Zaragoza: Acribia, 1997. p. 145.
- SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis in swine. **Continuing Education**, v.13, n. 1, p. 202- 209, 2000.
- SHANK, F.R. et al. US position on *Listeria monocytogenes* in foods. **Food Control**, Guildford, v. 7, n. 4, p. 229-234, 1996.
- SHELOBOLINA, E. S. et al. Isolation, characterization and U (VI)- reducing potencial of a facultatively anaerobic, acid- resistant bacterium from low-pH, nitrate-and U (VI)- contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 5, p. 2959-2965, 2004.
- SHIONARA et al. Potencial patogênico de *Clostridium perfringens* em alimentos. **Higiene alimentar**, São Paulo, v. 17, n., 106, p. 72-77, 2003.
- SILVA, M. C. D. ***Listeria monocytogenes* em queijos: ocorrência, avaliação de métodos e caracterização de cepas isoladas de queijos**. 1997, 117 f. (Tese) – Instituto de Microbiologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1997.
- SILVA, M. C. D.; VILARDI, T.C.C.; TIBANA, A. Avaliação de métodos para a detecção de *Listeria* em queijos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 150-155, 1998.
- SILVA JÚNIOR, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. 5. ed. São Paulo: Varela, 2002. 347 p.
- SILVER, H. M. Listeriosi during pregnancy. **Obstetrical Gynecological Survey**, Guildford, v. 53, p. 737-740, 1998.
- SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia de alimentos**. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CTAA, 1995. 159 p.
- SNAPIR, Y. M.; VAISBEIN, E.; NASSAR, F. Low virulence but potentially fatal outcome – *Listeria ivanovii*. **European Journal of International Medicine**, v.17, p. 286-287, 2006.
- SOARES, E. 2007. Doenças de origem alimentar: infecções e intoxicações. **Segurança e Qualidade Alimentar**, 2: 6-8.

SOBESTIANSKY, J. et al. **Clínica e Patologia Suína**. Goiânia: Art 3 impressos especiais, 1999. 402 p.

SOUSA, C. L. et al. Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química da carne bovina moída em açougues do município de Macapá – AP. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 14, n. 72, p. 60-65, 2000.

SOUZA, E. L.; SILVA, C. A. Qualidade sanitária de equipamentos, superfícies, água e mãos de alguns estabelecimentos que comercializam alimentos na cidade de João Pessoa, PB. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 18, n. 116-117, p. 98-102, 2004.

SPECK, M. L. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**: Washington, DC, American Public Health Association, 1976.

STAGNITTA, P. V.; MICALIZZI, B.; GUZMÁN, A. M. S. Prevalence of Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* in meats in San Luis, Argentina. **Food Microbiology**, v. 8, n. 5, p. 253-258, 2002.

SWAMINATHAN, B.; GERNER-SMIDT, P. The epidemiology of human listeriosis. **Microbes and Infection**, Paris, v. 9, p. 1236-1243, 2007.

TAKEUCHI, S.; ISHIGURO, K.; IKEGAMI, M. et al. Production of toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 59, n. 4, p. 251-258, 1998.

TOMPKIN, R. B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal Food Protection**, Des Moines, v. 65, n. 4, p. 709-725, 2002.

TORTORA, G. J. **Microbiologia**. 6. ed. Porto Alegre, Artmed, 2002. 827 p.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre, Artmed, 2005. 983 p.

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. **Microbiologia**. 2. ed. São Paulo, Atheneu, 1998. 398 p.

VAN DENDER, A. G. F. *Listeria monocytogenes*: um problema em leite e produtos lácteos. **Informativo Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 3, n. 155, p. 19-23, 1995.

VARNAN, A. H.; EVANS, M. G. **Foodborne Pathogens**. Manson Publishing, 1996. 557 p.

VARNAN, A. S. *salmonella*. In: **Foodborne Pathogens**. London: Wolfe Publishing, 1991. 462 p.

VÁZQUEZ-BOLAND, J. A. et al. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 14, n. 3, p. 584-640, 2001.

WENDPAP, L. L, ROSA, O. O., LIMA M. G. Avaliação microbiológica do leite pasteurizado tipo C comercializado em Cuiaba-MT. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 11, n. 47, p. 34-31, 1997.

WILCOCK, B. P.; SCHWARTZ, K. J. Salmonellosis. In: \_\_\_\_\_ **Diseases of swine**. 7. ed. Ames: Iowa State University Press, 1993. p. 570-583

WRAY, C. W.; SOJKA, W. J. Reviews of the progress of dairy science: bovine salmonellosis. **Journal of Dairy Science**, v. 44, p. 383-425, 1977.

ZOTTOLA, E. A; SMITH, L. B. Pathogens in cheese. **Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 8, n. 3, p. 171-182, 1991.