

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E
DO AMBIENTE

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE APRESUNTADOS, FATIADOS E
COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE PORTO ALEGRE, RS**

Dissertação de Mestrado

Vanessa Daniele Mottin

PORTO ALEGRE

2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA AGRÍCOLA E
DO AMBIENTE

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE APRESUNTADOS, FATIADOS E
COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE PORTO ALEGRE, RS**

Autor: Vanessa Daniele Mottin

Dissertação apresentada como
requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Microbiologia
Agrícola e do Ambiente.
Orientadora: Profa. Dra. Marisa
Ribeiro de Itapema Cardoso.

Porto Alegre (RS), Brasil
Fevereiro, 2008.

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE APRESUNTADOS, FATIADOS E COMERCIALIZADOS EM SUPERMERCADOS DE PORTO ALEGRE, RS¹

Autor: Vanessa Daniele Mottin

Orientador: Profa. Dra. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

RESUMO

Os setores de fiambreteria dos supermercados fracionam quantidades de alimento em escala próxima à industrial, estando submetidos ao mesmo risco de manipulação e contaminação cruzada dos produtos processados. A partir disso, o objetivo desse estudo foi avaliar as condições microbiológicas de apresuntados fatiados e comercializados nesse tipo de estabelecimento em Porto Alegre. Em três estabelecimentos comerciais intencionalmente selecionados, foram coletadas amostras de apresuntado e analisadas quanto à presença de Coliformes Totais e Termotolerantes, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* sp. Das 100 amostras analisadas por estabelecimento, 98%, 35% e 67% foram positivas para a presença de Coliformes Totais, nos estabelecimentos A, B e C, respectivamente. Coliformes Termotolerantes acima do limite estabelecido pela legislação vigente foram detectados em produtos oriundos de todos os estabelecimentos, porém em frequência distinta (A=6; B=1; C=11). Na avaliação de *Staphylococcus* coagulase positiva, o estabelecimento A apresentou 11% de amostras fora do padrão, enquanto o estabelecimento B e C apresentaram 16% e 21%, respectivamente. Todos os estabelecimentos (A=4; B=2; C=1) apresentaram amostras positivas para *Listeria monocytogenes*. *Salmonella* sp. esteve ausente em todas as amostras analisadas. Observou-se tendência de concordância entre o índice elevado de Coliformes Totais e a maior frequência de isolamento de *Listeria monocytogenes*. A partir disso, sugere-se que a manipulação e fatiamento de produtos constituem um ponto adicional de contaminação dos alimentos, devendo ser otimizados os protocolos de higienização nesses setores do comércio para aumentar a segurança dos produtos processados.

¹ Dissertação de Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (70pg). Março, 2008.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF HAM, SLICED AND
COMMERCIALIZED IN SUPERMARKETS OF PORTO ALEGRE, RS²

Author: Vanessa Daniele Mottin

Advisor: Prof. Dr. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso

ABSTRACT

Supermarkets are that retail establishments, process product amounts almost as high as food industries. Thus, food products processed in these establishments may be exposed to the same recontamination risk as at the industrial environment. The aim of this study was to conduct a microbiological evaluation of lunchmeat sliced and sold in supermarkets of Porto Alegre. Samples were purchased at three previously chosen supermarkets and investigated for the presence of total and fecal coliforms, coagulase-positive *Staphylococcus*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* sp. Of a total of 100 samples analyzed in each supermarket (A, B, C) 98%, 35% and 67%, respectively, had total coliforms in variable counts. Samples with fecal coliforms counts (A=6%, B=1% and C=11%) and coagulase-positive *Staphylococcus* counts (11%, B=16% and C=21%) above the legislation limit were also detected. In all supermarkets (A=4, B=2 and C=1), purchased lunchmeat samples presented *Listeria monocytogenes*. *Salmonella* sp. was absent in all samples. A tendency of agreement between total coliforms counts and isolation of *Listeria monocytogenes* was observed. Thus, we suggest that slicing and manipulation of lunchmeat at supermarkets are an additional hazard points for food contamination, pointing the need of optimization on cleaning and disinfection protocols adopted for these food processing areas.

² Master of Science Dissertation in Agriculture and Environmental Microbiology, Instituto de Ciências Básicas da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil (70pg). Março, 2008.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1 Microrganismos presentes em alimentos	10
2.1.1 Microrganismos patogênicos	10
2.1.1.1 <i>Salmonella</i> sp.	10
2.1.1.2 <i>Listeria monocytogenes</i>	12
2.1.1.3 <i>Staphylococcus</i> sp.	14
2.1.2 Microrganismos indicadores de segurança dos alimentos	16
2.1.2.1 Grupo dos coliformes	17
2.2 Origens de contaminação dos alimentos	18
2.2.1 Manipuladores como fontes de contaminação	18
2.2.2 Equipamentos e utensílios como fontes de contaminação	20
3 MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1 Amostras	23
3.1.1 Recepção e preparação da amostra para análise	23
3.2 Avaliação da presença de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes	24
3.3 Avaliação da presença de estafilococos coagulase positiva.....	25
3.4 Avaliação da presença de <i>Listeria</i> sp.	26
3.5 Avaliação da presença de <i>Salmonella</i> sp.	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1. Amostras fatiadas e embaladas em estabelecimentos comerciais de Porto Alegre	29
4.1.1. Isolamento de Coliformes Totais e Termotolerantes	29
4.1.2. Isolamento de <i>Staphylococcus</i> coagulase positiva.....	32
4.1.3. Isolamento de <i>Listeria monocytogenes</i>	35
4.1.4. Isolamento de <i>Salmonella</i> sp.....	38
4.2. Amostras fatiadas e embaladas industrialmente e comercializadas em Porto Alegre ..	39

5 CONCLUSÃO	41
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
Anexo I.....	61
Anexo II	67
Anexo III.....	69

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Mediana (\log_{10} Unidades Formadoras de Colônia. g^{-1}) de Coliformes Totais em 20 lotes de apresuntado fatiado e embalado adquiridos em três supermercados (A, B, C) de Porto Alegre em 2007.	30
Tabela 2: Número de amostras de apresuntado fatiado e embalado adquiridos em três supermercados de Porto Alegre (2007) com contagens de Coliformes Termotolerantes acima do previsto na RDC 12* e com confirmação de presença de <i>Escherichia coli</i>	31
Tabela 3. Número de amostras positivas para determinados patógenos em relação ao Sistema de Inspeção submetido.	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Número de isolados de acordo com a espécie de estafilococos coagulase positiva encontrados em amostras de apresuntado fatiado e embalado em três supermercados de Porto Alegre, 2007.....	34
Figura 2. Número de “pools” de amostras de apresuntado fatiado positivas para espécies de <i>Listeria</i> sp. em três supermercados de Porto Alegre, 2007.....	36

1 INTRODUÇÃO

Desenvolver produtos com qualidade e que não prejudiquem a saúde do consumidor é um desafio que as indústrias enfrentam. Em toda a cadeia alimentar, a manutenção das condições higiênico-sanitárias é um fator fundamental no controle das doenças transmitidas por alimentos (DTA), sendo que os produtos prontos para o consumo podem apresentar risco à saúde do consumidor.

Dentre os produtos cárneos industrializados, um dos mais encontrados à disposição no mercado é o presunto, o qual é preparado exclusivamente de pernil suíno, desossado, adicionado de ingredientes e submetido a um processo de cozimento. A designação apresuntado é dada a produtos elaborados com recortes de presunto ou paleta de suínos, transformados em massa, condimentados, enlatados ou não e submetidos a tratamento térmico. Produtos cárneos cozidos e curados são geralmente considerados seguros, no entanto, a recontaminação com patógenos durante o pós-processamento pode ser a causa de surtos de origem alimentar. Diversos fatores de risco como contaminação cruzada, falta de higiene na preparação do alimento, processamento e estocagem inadequados, podem permitir que microrganismos se multipliquem até atingir doses infectantes. Esta, uma vez atingida, pode fazer com que produtos que não sofram tratamento térmico posterior, causem surtos de DTA com implicações imprevisíveis para os consumidores.

A higiene dos alimentos é importante para garantir segurança, salubridade e sanidade do alimento em todos os estágios de seu desenvolvimento, produção ou manufatura, até o produto final. Existem inúmeros surtos de doenças de origem alimentar relacionados à falta de limpeza e desinfecção de equipamentos, utensílios e superfícies que entram em contato com os alimentos.

A presença de coliformes totais avalia as condições higiênicas, sendo que altas contagens significam contaminação pós-processamento, limpeza e sanificação deficientes, tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem. A presença de coliformes termotolerantes, e principalmente de *Escherichia coli* evidencia condições higiênico-sanitárias inadequadas e pode indicar a presença de enteropatógenos em ambientes ou produtos alimentícios analisados. *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* são importantes patógenos de origem alimentar e surtos têm sido associados à ingestão de produtos cárneos. *L. monocytogenes* é particularmente problemática na indústria de alimentos por poder ser

disseminada no ambiente e também devido à habilidade em crescer em larga faixa de temperatura.

A pesquisa de *L. monocytogenes* em produtos prontos para o consumo é de grande importância, pois é notável que os alimentos envolvidos em surtos e casos esporádicos de listeriose são aqueles processados industrialmente, mantidos sob refrigeração, assim oferecendo condições adequadas para multiplicação. *S. aureus* também tem a habilidade de crescer em larga faixa de temperatura e pH, e, junto com *Salmonella* sp., são os dois principais causadores de DTA no Rio Grande do Sul.

Os supermercados são responsáveis pela manipulação de grandes quantidades de alimentos e atendem a uma parcela significativa da população. Nos setores de fatiamento de produtos de fiambreteria dos supermercados, não há controle ou inspeção como é exigido nas indústrias que os produzem. Entretanto, nesse ambiente, os produtos vindos da indústria são fracionados em grande quantidade, sendo submetidos ao risco de manipulação e contaminação cruzada da mesma ordem daquele do ambiente industrial. Sabendo que na maioria das vezes estes produtos não sofrem processamento térmico posterior, pode-se considerar os setores de fatiamento como potenciais pontos de contaminação dos produtos com bactérias causadoras de DTA.

Em trabalho anterior realizado em supermercados de Porto Alegre, observou-se que o ambiente dos setores de fatiamento apresentava indicadores de higienização com contagens elevadas, demonstrando deficiências nos procedimentos de higienização. Nesse estudo os produtos fatiados não foram amostrados, sugerindo-se que novos estudos fossem conduzidos a partir deste ponto para confirmar o impacto das deficiências detectadas no produto final oferecido ao consumidor.

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi avaliar as condições microbiológicas de embutidos cozidos, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, elucidando o impacto que a introdução de um novo ponto (fatiamento e manipulação) pode oferecer para o risco de contaminação do produto, usando o apresuntado como modelo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microrganismos presentes em alimentos

O alimento propicia a quem o consome um aporte nutricional de fundamental importância. Por outro lado, essa riqueza em nutrientes faz dele um meio de cultura ideal para a multiplicação de microrganismos. As carnes em geral apresentam uma composição química que as tornam excelentes meios de cultura, o que favorece o crescimento microbiano (FRANCO & LANDGRAF, 2005). Alimentos prontos para o consumo incluindo carnes vermelhas, aves, frutos do mar e vegetais têm sido documentados como veículos de muitas bactérias patogênicas e estão envolvidos nas doenças de origem alimentar (BORCH & ARINDEN, 2002; GODBJORNSDOTTIR *et al.*, 2004).

Alguns desses microrganismos podem atuar preservando o alimento durante sua multiplicação, porém outros podem ocasionar sua deterioração. Ao lado disso, são de grande interesse para a saúde pública microrganismos ou suas toxinas que, quando presentes nos alimentos, possam ocasionar infecção e/ou intoxicação no indivíduo que o consome.

2.1.1 Microrganismos patogênicos

2.1.1.1 *Salmonella* sp.

O gênero *Salmonella* é dividido em *S. bongori* e *S. enterica*, pertence à família *Enterobacteriaceae* e compreende bacilos Gram negativos, predominantemente móveis pela presença de flagelos peritríquios, 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 (TORTORA, FUNKE & CASE, 1993). Geralmente não fermentam a lactose. São indol negativos, oxidase negativos, catalase positivos e produzem gás sulfídrico (HOLT *et al.*, 1994). *Salmonella subterranea*, descrita por Shelobolina, *et al.* (2004), representa uma nova espécie do gênero *Salmonella*, sendo que possui 96,4% de seus nucleotídeos idênticos à *Salmonella bongori*. No aspecto bioquímico, possui algumas diferenças, tais como a produção de indol, a não produção de H₂S, ser citrato negativo, entre outras.

Salmonella sp. pode se desenvolver em temperaturas que variam de 7 °C a 45°C, sendo resistentes à dessecação e ao congelamento (WILCOCK & SCHWARTZ, 1993).

No entanto, é classificada como mesófila, tendo sua temperatura ótima de crescimento à 37°C (FRANCO & LANDGRAF, 2005). É sensível à luz solar e à maioria dos desinfetantes como fenóis, clorados e iodados (SOBESTIANSKY *et al.*, 1999).

Assim como a temperatura, o pH de crescimento deste gênero pode variar amplamente, admitindo valores entre 4,5 e 9,0, sendo considerado um pH ótimo para seu crescimento entre 6,5 e 7,5. Valores inferiores a 4,1 inativam *Salmonella* sp. (TORTORA, FUNKE & CASE, 1993).

A *Salmonella* está bastante difundida, estando presente no solo, no ar, nas águas residuais e nos equipamentos, mas seu habitat natural é o trato intestinal dos seres humanos e dos animais, principalmente das aves (SILVA, RAMALHO & FIGUEIREDO, 2004). Também pode ser isolada de carne crua, incluindo frango e seus produtos, leite e derivados (GORMAN, BLOOMFIELD & ADLEY, 2002). Além disso, tem importância também no ambiente de processamento, pois este microrganismo tem a habilidade de formar biofilmes em superfícies de contato com alimentos (JOSEPH, OTTA & KARUNASAGAR, 2001). A transmissão de *Salmonella* sp. ao homem, através da população animal, pode ocorrer pelo contato direto com os animais tanto nas granjas como nos frigoríficos. Mais frequentemente ocorre pela ingestão de produtos contaminados de origem animal (WEGENER & BAGER, 1997), o que pode resultar em toxinfecções alimentares (LEITÃO, 1988).

Salmonella sp. é o mais importante contaminante de produtos alimentícios e é um dos principais agentes bacterianos responsáveis por surtos de toxinfecções alimentares em diversos países (LACONHA *et al.*, 2000; LOPALCO *et al.*, 2000). Dois importantes sorovares transmitidos dos animais para os humanos são *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium (WHO, 2005).

No hemisfério Ocidental e na Europa, *S. Enteritidis* tornou-se o sorovar predominante nos surtos investigados, principalmente aqueles associados ao consumo de aves e ovos (WHO, 2002). Da mesma forma, em estudo realizado por Geimba (2004) em alimentos envolvidos em surtos no Rio Grande do Sul, houve predomínio de *Salmonella* Enteritidis, sendo os alimentos preparados com ovos crus os mais implicados. Segundo dados levantados junto à Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre por Gottardi (2003), o principal agente etiológico identificado nos surtos de DTA, no período de 1995 a 2002, neste município foi *Salmonella* sp. seguido por *Staphylococcus aureus*. A predominância de *Salmonella* sp. como a principal causadora de surtos de DTA também tem sido relatada no Rio Grande do Sul nos últimos anos

(COSTALUNGA & TONDO, 2002; NADVORNY, FIQUEIREDO & SCHMIDT, 2004). Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), durante 1999, *Salmonella* sp. e *Staphylococcus aureus* foram os agentes bacterianos mais associados a surtos nos países associados ao seu Sistema Regional de Informação (OPAS-OMS, 2000). No Brasil, no período de 1999 a 2000, os produtos cárneos foram responsáveis por 11 surtos, envolvendo 690 acometidos, causados por *Salmonella* sp. (SIRVETA, 2007).

A contaminação dos alimentos pode ocorrer devido ao controle inadequado de temperatura, manipulação incorreta ou contaminação cruzada (FORSYTHE, 2002). Para que ocorra uma infecção gastrointestinal de origem alimentar por *Salmonella*, são necessárias as seguintes condições: o alimento deve estar contaminado com *Salmonella* sp.; essas bactérias devem encontrar-se no alimento em número elevado; os microrganismos ingeridos devem estar viáveis (FRAZIER & WESTHOFF, 1993). Wegener & Bager (1997) também ressaltam a importância da composição do produto, da manipulação e práticas no preparo do alimento, e da suscetibilidade dos consumidores primários.

No Rio Grande do Sul, Costalunga & Tondo (2002) encontraram as carnes como um dos principais alimentos incriminados nos surtos investigados entre 1997 e 1999, sendo que a maionese foi citada como o principal produto. Em contraste a isto, Salvatori, Bessa & Cardoso (2003), não encontraram tal patógeno nas lingüiças cruas, salames e lingüiças maturadas comercializadas em Porto Alegre (RS), estudo que está de acordo com Cereser *et al.* (2007), os quais não encontraram amostras positivas para *Salmonella* sp. em salames analisados em Cruz Alta (RS).

2.1.1.2 *Listeria monocytogenes*

O gênero *Listeria* é composto por 6 espécies: *L. monocytogenes*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. welshimeri* e *L. grayi* (HITCHINS, 2003). A espécie *L. denitrificans* foi reclassificada como *Jonesia denitrificans* e as espécies *L. grayi* e *L. murrayi* foram agrupadas em uma única espécie, *L. grayi*. A espécie *L. ivanovii* foi subdividida em duas subespécies: *L. ivanovii* subsp. *ivanovii* e *L. ivanovii* subsp. *londonienis* (FRANCO & LANDGRAF, 2005). Somente uma espécie é potencialmente patogênica para humano, *L. monocytogenes*. São bacilos Gram positivos não formadores de esporos, comuns no ambiente, têm a habilidade de crescer em uma ampla

faixa de pH (4,3 a 9,6) e temperatura (1 a 45°C) e concentração de sal acima de 10% (SEELIGER & JONES; 1986). São psicotróficos (SILVA *et al.*, 2003), podendo sobreviver e crescer em temperatura de refrigeração (4°C), e crescer em atividade de água tão baixas quanto 0,83, inibitória para a maioria dos patógenos (ROBERTS & WIEDMANN, 2003), além de resistir ao congelamento e descongelamento (GERMANO & GERMANO, 2001). A transmissão deste patógeno por alimento contaminado foi demonstrada conclusivamente por investigações epidemiológicas e laboratoriais em 1983 por Schlech *et al.* (1983).

Na Dinamarca, em meados dos anos 1990, microrganismos patogênicos como *L. monocytogenes* e *Salmonella* sp., foram incluídos nos programas de análises regionais (ANDERSEN *et al.*, 2007). *L. monocytogenes*, é um patógeno de grande importância em saúde pública (FOONG, GONZALES & DICKSON, 2004). A infecção é rara, porém a alta taxa de mortalidade, entre 20% e 40%, e o elevado número de indivíduos hospitalizados, que pode chegar a 90% de todos os casos de internação por doença transmitida por alimento, aumenta sua importância para a saúde pública (ZHANG, BHUSHAN & STEPHEN, 2004). Segundo Mead *et al.* (1999), a listeriose é responsável por 3,8% dos casos relatados de hospitalização por doenças de origem alimentar e 27,6% de óbitos resultantes dessas enfermidades.

Listeria sp., em particular *L. monocytogenes*, em virtude da sua habilidade de sobreviver e multiplicar-se em produtos embalados a vácuo e com atmosfera modificada sob temperatura de refrigeração, tem sido reportada mundialmente nos produtos prontos para o consumo (HUSS, JERGENSEN & VOGEL, 2000). Em geral, a primeira origem de contaminação de alimentos por *L. monocytogenes* antes de chegar ao consumidor é o ambiente de processamento (KATHARIOU, 2002).

Produtos cárneos processados podem ser contaminados por *L. monocytogenes* em vários estágios: ingredientes crus contaminados, processo insuficiente/inadequado de esterilização dos produtos, contato com alimentos crus não processados que estão contaminados ou superfícies e pessoal insuficientemente higienizados (CHASSEIGNAUX *et al.*, 2001). Reij e Den Aantrekker (2004) apontam a higiene pessoal inadequada e processamento dos alimentos como modo de transmissão desses patógenos. A contaminação cruzada pode ocorrer em muitos estágios entre a planta de processamento de carnes até o consumidor. A limpeza é um passo importante em função da remoção da matéria orgânica da superfície de processamento (CHASSEIGNAUX *et al.*, 2001;THEVENOT *et al.*, 2005).

O crescimento e sobrevivência deste microrganismo são dependentes de sua habilidade de vencer as barreiras ambientais encontradas durante o processo de fabricação e conservação, assim como temperatura, pH, atividade de água e disponibilidade de nutriente. A maioria das bactérias, incluindo *L. monocytogenes*, é geralmente resistente a mudanças pequenas nos parâmetros ambientais específicos, mas múltiplas mudanças estimulam respostas de estresse as quais geralmente são direcionadas à sua sobrevivência e não ao seu crescimento (BOOTH, 1998).

Em 1992 ocorreu um surto de listeriose na França em consumidores de um produto típico da região “pork tongue in jelly” feito a partir de língua cozida de suíno (SALVAT *et al.*, 1995). Casos esporádicos têm sido reportados por Farber e Peterkin (1991) com uma variedade de produtos cárneos, incluindo “nuggets” de frango, frango cozido e resfriado, lingüiça de carne suína, carne cozida de peru, entre outros. Farber & Daley (1994) encontraram *L. monocytogenes* em 7 do total de 101 amostras de patês analisados na sua pesquisa. Carne suína e produtos suínos processados foram implicados em surtos envolvendo *L. monocytogenes* na França (JACQUET *et al.* 1995; GOULET *et al.* 1998) e em outros países europeus (JAY, 2005).

No Brasil, Silva e colaboradores (2004) encontraram *L. monocytogenes* em amostras analisadas em frigoríficos, tanto na matéria-prima quanto no produto final, demonstrando a necessidade de readequação nas práticas de limpeza e sanificação das plantas de processamento, bem como o risco potencial de listeriose ao consumidor.

2.1.1.3 *Staphylococcus* sp.

Segundo Silva & Gandra (2004) o grupo dos estafilococos coagulase positiva são os patógenos mais importantes em alimentos, uma vez que sua presença em alimentos processados pode indicar deficiência no processamento ou condições higiênicas inadequadas do processo; e suas enterotoxinas, uma vez presentes no alimento, poderão causar intoxicação alimentar.

As bactérias do gênero *Staphylococcus* são cocos Gram positivos com diâmetro variando de 0,5 e 1,5µm, imóveis e não formadoras de esporos. Quando visualizadas em microscópio, aparecem na forma de cachos de uva, por se dividirem em planos diferentes; entretanto, dependendo da idade da colônia, podem ser encontradas isoladas, aos pares, agrupadas em tétrades ou, ainda, em pequenas cadeias. A maior parte das espécies apresenta metabolismo respiratório e fermentativo e têm capacidade de

fermentar uma grande variedade de carboidratos, principalmente em condições de aerobiose, com produção final de ácido, mas não de gás (SILVA, 1998; KLOOS & BANNERMAN, 1999; FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Staphylococcus aureus assume importância tanto por ser uma bactéria potencialmente patogênica, como pelo fato de sua presença, em contagens elevadas, indicar a falta de higiene na manipulação (BANWART, 1989; FRANCO & LANDGRAF, 2005). Este microrganismo pode existir como membro permanente ou transitório da microbiota humana, sem causar sintomas (HATAKKA *et al.*, 2000). Os principais reservatórios são humanos e animais, estando presentes nas vias nasais, cabelos e pele de indivíduos saudáveis (GENIGEORGIS, 1989). Ao lado disso, são também encontrados no ar, esgoto, água, leite, alimentos e equipamentos de processamento de alimentos (SILVA JR & MARTINS, 1991; FORSYTHE, 2002). Manipuladores infectados, com hábitos de higiene inadequados, são um dos fatores que contribuem para a contaminação do alimento por *S. aureus* (JAY, 2005). Sua presença nas mãos de manipuladores portadores sadios ou assintomáticos constitui fator epidemiológico importante em surtos causados por produtos cárneos associados a esse agente (SILVA JR. *et al.*, 1990).

Os estudos relacionados aos fatores extrínsecos e intrínsecos que interferem na multiplicação destes microrganismos em alimentos foram realizados, em quase sua totalidade, com *S. aureus*, devido a esta ser a espécie mais relacionada a casos de intoxicação alimentar (JAY, 2005; SILVA, JUNQUEIRA & SILVEIRA, 1997). Jay (2005) relata que *S. aureus* é capaz de se multiplicar em uma ampla faixa de pH e temperatura, e Franco e Landgraf (2005) salientam que estes microrganismos apresentam tolerância a concentrações de 10 a 20% de NaCl, bem como a nitratos e que têm capacidade de crescer em alimentos com baixa atividade de água ($A_a=0,86$). Quando em condições ideais, conseguem desenvolver-se em A_a de até 0,83, sem, no entanto, produzir enterotoxinas. As intoxicações estafilocócicas estão associadas à ingestão de enterotoxinas produzidas por algumas linhagens de *S. aureus* que, quando presentes nos alimentos, tiveram condições de multiplicação. Por essa razão, alimentos que requerem muita manipulação durante a preparação e são mantidos a temperaturas de risco são aqueles freqüentemente envolvidos em intoxicações alimentares causadas por estafilococos (JAY, 2005; HPA, 2006).

A toxina estafilocócica, uma vez produzida, é termoestável e não pode ser inativada por métodos de cocção padrão (FORSYTHE, 2002) nem mesmo por

pasteurização e UHT (SILVA & GANDRA, 2004). As enterotoxinas estafilocócicas (EE) são proteínas extracelulares hidrossolúveis, cuja composição de aminoácidos, estrutura molecular e atividades farmacológicas são semelhantes entre si, possuindo, entretanto, propriedades imunológicas distintas. Não são inativadas por enzimas proteolíticas, característica que explica a capacidade de permanecerem ativas após ingestão, resistindo à ação de enzimas produzidas por outros microrganismos e às enzimas do próprio alimento (SILVA, 1998; NOVAK, 1999).

Franco e Landgraf (2005) relatam que não existe uma concordância sobre a dose tóxica capaz de causar sintomatologia em seres humanos, porém, de maneira geral, estima-se que esteja entre 0,015 e 0,375 mg de enterotoxina por Kg de peso corpóreo. Jay (2005) diz que 200µg seriam suficientes para causar a enfermidade.

Em Pelotas (RS), *S. aureus* produtor de enterotoxina A foi o causador de um surto que acometeu 88 pessoas, as quais consumiram sanduíche de galinha em um restaurante institucional (RODRIGUES *et al.*, 2004). No mesmo estado, pesquisadores encontraram estafilococos coagulase positiva em algumas amostras de salame comercializado (CERESER *et al.*, 2007), e, no Recife, Freitas e colaboradores (2004) encontraram *S. aureus* em amostras de carcaça de frango.

2.1.2 Microrganismos indicadores de segurança dos alimentos

Alguns microrganismos patogênicos presentes em alimentos são de difícil detecção na análise de rotina. Por essa razão, microrganismos indicadores são utilizados, pois sua detecção fornece uma evidência indireta da possível presença de um patógeno (FORSYTHE, 2002).

Indicador é um microrganismo ou um grupo de microrganismos que são indicativos de que o alimento foi exposto a condições que propiciaram um aumento no risco de contaminação por patógenos ou mantido sob condições que permitam a multiplicação desses microrganismos (JAY, 2005).

Um indicador de segurança dos alimentos, segundo Jay (2005), deve apresentar algumas características como:

- a) Ser detectável de forma fácil e rápida;
- b) Ser facilmente distinguível de outros membros da microbiota do alimento;
- c) Possuir um histórico de associações constantes com o patógeno cuja presença visa indicar;

- d) Estar sempre presente quando o patógeno de interesse estiver presente;
- e) Ser um microrganismo cujas contagens sejam correlacionadas às quantidades do patógeno de interesse;
- f) Possuir características e taxas de crescimento equivalentes às do patógeno;
- g) Possuir taxa de mortalidade que seja ao menos paralela à do patógeno e, de preferência, que persista por mais tempo que este último;
- h) Estar ausente nos alimentos que estão livres de patógenos, ou se estiver presente, deverá estar em baixas contagens.

Microrganismos indicadores são utilizados na avaliação da qualidade microbiológica da água (FRANCO & LANDGRAF, 2005) e também para determinar a qualidade sanitária de alimentos. Por meio dessa avaliação, podem ser verificadas a possível contaminação fecal e a presença de patógenos, assim como as condições sanitárias do processamento, produção e estocagem (BANWART, 1989). Análises de indicadores são amplamente utilizadas para mensurar a sanitização imprópria. Fazem parte desse grupo os coliformes totais, coliformes fecais, as bactérias aeróbias mesófilas, psicrotróficas, estafilococos, entre outros (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

2.1.2.1 Grupo dos coliformes

Os coliformes são um grupo de enterobactérias presentes nas fezes, no ambiente, no solo e na superfície de vegetais, animais e utensílios (RODRIGUES *et al.*, 2003). É composto por bactérias da família *Enterobacteriaceae* e é um indicador da qualidade higiênico-sanitária do alimento (RODRIGUES *et al.*, 2003; FRANCO & LANDGRAF, 2005). São capazes de fermentar a lactose com produção de gás quando incubados a 35-37°C por 48 horas. Fazem parte desse grupo, entre outros, os gêneros *Escherichia*, *Enterobacter*, *Citrobacter* e *Klebsiella*, sendo que somente a *Escherichia coli* tem como habitat primário o trato intestinal dos animais. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, também estão presentes em outros ambientes, onde persistem por tempo superior ao de bactérias patogênicas de origem intestinal. Logo, a presença de coliformes totais no alimento não indica necessariamente contaminação fecal recente ou ocorrência de enteropatógenos (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Os coliformes que apresentam a capacidade de continuar fermentando a lactose com produção de gás, quando incubados à temperatura de 44-45°C são denominados coliformes fecais ou termotolerantes (FRANCO & LANDGRAF, 2005).

Os coliformes termotolerantes são encontrados freqüentemente no trato intestinal do homem e dos animais, sendo a *Escherichia coli* a principal representante deste grupo. A presença de coliformes termotolerantes no alimento indica contato direto ou indireto com microrganismos encontrados no intestino humano ou animal, podendo estar associada à presença de outros organismos patogênicos (BANWART, 1989; ALMEIDA *et al.*, 1996).

Em alimentos processados, a presença de um número considerável de coliformes ou de membros da família *Enterobacteriaceae* pode indicar processamento inadequado, recontaminação pós-processamento, sendo os equipamentos sujos ou a manipulação sem cuidados de higiene, as causas mais freqüentes (BANWART, 1989; FRANCO & LANDGRAF, 2005), assim como tratamentos térmicos ineficientes ou multiplicação durante o processamento ou estocagem também são considerados importantes (JAY, 2005).

2.2 Origens de contaminação dos alimentos

2.2.1 Manipuladores como fontes de contaminação

A importância de transmissão de doenças infecciosas pelas mãos de humanos foi demonstrada há muito por Semmelweis, mas foi Price, que realmente estudou os tipos de bactérias na pele classificando-as em “residentes e transitórias” (ALMEIDA *et al.*, 1995). Manipuladores de alimentos têm um papel importante na segurança alimentar e contribuem na transmissão de agentes causadores de toxinfecções alimentares, por introduzirem patógenos no alimento durante a produção, processamento e distribuição (ANGELILLO *et al.*, 2000; ALMEIDA *et al.*, 1995).

Na indústria de alimentos, a higienização é frequentemente negligenciada ou efetuada em condições inadequadas, mas esta situação pode ser revertida pelos profissionais que atuam na área. A higienização na indústria de alimentos visa basicamente a preservação da pureza, da palatabilidade e da qualidade microbiológica dos alimentos, auxiliando, portanto, na obtenção de produtos que, além das qualidades nutricionais e sensoriais, tenham uma boa condição higiênico-sanitária, não oferecendo riscos à saúde do consumidor (ANDRADE & MACÊDO, 1996).

O manipulador é considerado um importante agente contaminante para alimentos. Na pele, existe uma vasta microbiota que serve como importante fator de

contaminação, sendo assim, manipuladores portadores assintomáticos ou doentes podem disseminar através do alimento, microrganismos como *E. coli*, *Staphylococcus sp.*, *Salmonella sp.*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* e estreptococos fecais (RIBEIRO, REIS & ROSSI, 2000). De acordo com Raddi, Leite & Mendonça (1988), tendo as mãos como veículo de trabalho, os manipuladores de alimento podem, através do contato direto ou por perdigotos, perpetuar a cadeia epidemiológica da intoxicação estafilocócica. Suzuki, Saito & Ishikawa (1999) demonstraram que algumas linhagens de *S. aureus* foram isoladas de manipuladores, do alimento e de pacientes de um surto ocorrido em Aichi-Ken, Japão, indicando que os manipuladores foram a possível origem de contaminação. Siqueira Jr. (2004), afirma que o homem é considerado a principal fonte de contaminação por *S. aureus*, estimando que 30 a 50% das pessoas saudáveis são portadoras dessa bactéria.

Em serviços de alimentação é importante verificar se a manipulação dos alimentos é realizada em condições adequadas. Tradicionalmente, as medidas de controle incluem a implementação de técnica de lavagem das mãos, treinamento e conscientização dos profissionais envolvidos no preparo, armazenamento e distribuição de alimentos. Estudos têm demonstrado a eficácia do uso de antissépticos na higienização das mãos dos manipuladores de alimentos (SHOJAEI, SHOOSHTARIPOOR & AMIRI, 2006; AYÇIÇEC *et al.*, 2004).

Os hábitos de higiene pessoal são ferramentas importantes para evitar contaminações cruzadas (CONTRERAS *et al.* 2003), sendo que estas constituem um problema potencial de saúde pública. Cardoso, Chaves & Andrade (1994) afirmam que existe uma relação direta entre as condições higiênicas dos manipuladores de alimentos e doenças bacterianas de origem alimentar, onde manipuladores doentes, portadores assintomáticos, que apresentam hábitos de higiene pessoal inadequados, ou preparam alimentos com atitudes anti-higiênicas contaminam os alimentos. Ayçiçek *et al.* (2004) mostram resultados em sua pesquisa que indicam uma correlação positiva entre experiência de trabalho e higiene das mãos. A higiene das mãos de manipuladores de alimentos experientes em um hospital foi muito melhor quando comparada aos manipuladores sem experiência. Shojaei, Shooshtaripoor & Amiri (2006) demonstram a eficácia da higiene pessoal em manipuladores de alimentos, antes do início da jornada de trabalho. Em sua pesquisa, 72,7% do pessoal envolvido antes da intervenção do estudo, estavam contaminados com uma ou mais bactérias potencialmente patogênicas. A frequência de contaminação das mãos dos manipuladores depois dessa intervenção

diminuiu para 32%, mostrando a importância da higiene adequada, e ressaltando que, na maioria das vezes, microrganismos são prontamente removidos com uma lavagem adequada das mãos.

2.2.2 Equipamentos e utensílios como fontes de contaminação

Microrganismos patogênicos e deteriorantes podem manter-se em partículas de alimentos ou de água sobre utensílios lavados inadequadamente (SILVA Jr., 1999; VIALTA, MORENO & VALLE, 2002). Do ponto de vista sanitário, o uso de recipientes e utensílios contaminados representa um risco, particularmente quando se refere a alimentos cozidos que não se destinam ao consumo imediato (SILVA Jr., 1999). A contaminação cruzada por microrganismos patogênicos em alimentos crus ou cozidos pode ocorrer por contato com superfícies de tábuas de corte, equipamentos e utensílios durante a sua preparação (ZHAO *et al.*, 2001; BLAIS, 1999).

Segundo Dunsmore (1981), superfícies de equipamentos usadas para manipulação e preparação de alimentos são reconhecidas fontes de contaminação e recontaminação microbiana, especialmente quando inadequadamente higienizadas. Microrganismos patogênicos expostos sobre a superfície de contato podem ser transferidos para outras superfícies de forma direta ou através de partículas no ar e, estudos indicam que várias bactérias, incluindo *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* sp. sobrevivem em panos e esponjas de limpeza, utensílios e também dinheiro, por horas ou dias após contaminação inicial (KUSUMANINGRUM *et al.*, 2003). Souza, Silva & Sousa (2004) relatam a presença de coliformes totais, bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas em amostras de equipamentos, superfícies de pré-preparo e nas mãos dos manipuladores de alimentos, e Tomkin (2002), diz que *Listeria* sp. também sobrevive em uma variedade de superfícies, incluindo esponjas, descascadores de vegetais, fatiadoras, cortadores, bicos aspersores de mangueiras e correias transportadoras, as quais são consideradas fontes de contaminação em plantas processadoras de alimentos cárneos prontos para o consumo.

Conforme WHO (2002), quase 25% das toxinfecções alimentares, na Europa, podem ter sido causadas por contaminação cruzada. Segundo Reij & Den Aantrekker (2004) a contaminação cruzada pode ser uma freqüente e importante causa de toxinfecções alimentares a qual tem ocorrido também como consequência de inadequada limpeza e desinfecção.

Superfícies mal higienizadas podem prover o contato inicial necessário para adesão microbiana (OLIVEIRA *et al.*, 2006). À exemplo disso, aço, vidro, polipropileno, plástico, borracha, fôrmica e ferro podem agregar resíduos orgânicos, como restos de alimentos decorrentes da má higienização. Esses resíduos constituem meio de cultura adequado para o crescimento e multiplicação de bactérias e fungos. Decorrentes dessa multiplicação há formação de polímeros extracelulares e outros catabólitos que, ao serem formados, juntam-se ao substrato existente, aumentando o poder de adesão de outros microrganismos. A essa massa de resíduos, microrganismos e seus produtos extracelulares dá-se o nome de biofilme. Esse biofilme, formado na superfície de utensílios, pode cristalizar e formar depósitos ou crostas extremamente aderentes quando submetidas ao calor, protegendo novos microrganismos e dificultando os procedimentos de lavagem e desinfecção, constituindo pontos de contaminação (SILVA Jr., 1999). Microrganismos tornam-se mais resistentes à ação dos sanificantes e outros agentes antimicrobianos quando estão fixados em algumas superfícies (PENG, TSAI & CHOU, 2002).

Segundo Somers & Wong (2004), a formação de biofilmes é uma preocupação na indústria de processamento de alimentos devido ao seu potencial como fonte de contaminação alimentar, podendo levar à diminuição da qualidade e segurança dos alimentos. Este fato despertou maior interesse com o reconhecimento da *L. monocytogenes* como patógeno de origem alimentar, uma vez que é comumente encontrada no ambiente e já isolada em vários tipos de plantas de processamento de alimentos. Dados de Wilks, Michels & Keevil (2006) demonstram que a sobrevivência e a persistência de *L. monocytogenes* é diferente em diferentes materiais de superfície.

O tempo necessário para a formação desse biofilme depende da frequência e do regime de limpeza (GIBBONS *et al.*, 2006). Vialta, Moreno & Valle (2002) relatam que a adesão ocorre entre vinte minutos a duas horas, ressaltando que fatores como tipo de superfície, composição do meio, idade e população da bactéria influenciam no processo de formação do biofilme. O fatiamento de presuntos é uma etapa crucial no controle da estabilidade microbiana desse alimento, pois, o contato com a superfície do cortador pode representar uma importante fonte de microrganismos deteriorantes ou patogênicos, podendo ocasionar, ainda, a formação de biofilmes na superfície do presunto. Segundo estudos de Muniz *et al.* (2007), mesmo dentro do prazo de validade, o presunto é um alimento extremamente susceptível ao desenvolvimento de biofilmes bacterianos e

aparenta possuir grande diversidade bacteriana, que pode ter sido originada no processo de fatiamento da peça no presunto original.

A razão para que se limpem e sanifiquem as superfícies que entram em contato com os alimentos e o ambiente, deve-se ao fato de que essas operações auxiliam o controle microbiológico. A limpeza do equipamento contribui direta ou indiretamente, para o nível de contaminação do alimento, o qual pode influir sobre a sua estabilidade e inocuidade (GIBBONS *et al.*, 2006). A remoção desses resíduos deve ser feita o mais rapidamente possível para evitar a formação de biofilmes, que serão mais difíceis de remover. Logo, aconselha-se que esta limpeza inicie imediatamente após o término do uso dos equipamentos e utensílios (VIALTA, MORENO & VALLE, 2002).

Falhas nos procedimentos têm sido diretamente associadas à ocorrência de surtos (Silva Jr., 1999), sendo que a manipulação incorreta e a deficiência nos procedimentos voltados à garantia da segurança dos alimentos, além da falta de informação sobre a importância da segurança dos alimentos, levam a ocorrência de inúmeros casos de intoxicação, contaminação ou infecção (FREO & REOLON, 2006). À exemplo disso, um estudo realizado por Haeghebaert *et al.* (2002) demonstraram que a contaminação de equipamentos foi o fator desencadeante em 59% dos surtos de intoxicação alimentar investigados na França durante o ano de 2001. Da mesma forma, no Rio Grande do Sul, 7,11% dos surtos de DTA que ocorreram entre 1997 e 1999, estiveram associados à higiene precária de equipamentos e utensílios (COSTALUNGA & TONDO, 2002).

Neste contexto, estudos realizados por Gottardi *et al.* (2006) em estabelecimentos que comercializam alimentos em Porto Alegre (RS) demonstraram que em alguns casos, houve a introdução de coliformes totais e estafilococos após a higienização de equipamentos e superfícies, concluindo-se que procedimentos de treinamento, controle e avaliação devem ser implementados para garantir a segurança dos alimentos manipulados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

As amostras foram adquiridas em três supermercados da cidade de Porto Alegre, selecionados entre um grupo de estabelecimentos avaliados anteriormente por Gottardi (2006) quanto à presença de microrganismos indicadores nas superfícies de manipulação e equipamentos de fatiamento. Naquele estudo, os três estabelecimentos não haviam apresentado diferença significativa nas avaliações realizadas tanto entre si, como com outros estabelecimentos avaliados naquela oportunidade.

O número de amostras foi calculado a partir da fórmula estatística: $1-(1-p)^n$, sendo p = prevalência e n = número de amostras a serem analisadas.

Segundo BRASIL (2001), “ n : é o número de unidades a serem colhidas aleatoriamente de um mesmo lote e analisadas individualmente. Nos casos nos quais o padrão estabelecido é ausência em 25g, como para *Salmonella sp.* e *Listeria monocytogenes*, é possível a mistura das alíquotas retiradas de cada unidade amostral, respeitando-se a proporção p/v (uma parte em peso da amostra, para 10 partes em volume do meio de cultura em caldo)”.

A partir disso, em cada coleta foram adquiridas cinco unidades amostrais de aproximadamente 50 g, as quais foram processadas no mesmo dia, correspondendo a um lote. No caso da análise para *Salmonella* e *Listeria*, uma amostra correspondeu ao “pool” das cinco unidades amostradas, conforme preconizado por BRASIL (2001).

A aquisição das amostras foi realizada em intervalos de sete dias até completar 20 semanas, totalizando 20 lotes em cada um dos estabelecimentos.

Para análise dos produtos fatiados e embalados na indústria foram coletadas marcas aleatórias de acordo com o sistema de inspeção específico. De acordo com a disponibilidade dos produtos em cada estabelecimento, as amostras foram coletadas semanalmente, durante 6 semanas, totalizando 6 lotes (30 unidades amostrais) de indústrias com Sistema de Inspeção Federal (SIF) e 5 lotes (24 unidades amostrais) de indústrias com Sistema de Inspeção Estadual (CISPOA).

3.1.1 Recepção e preparação da amostra para análise

Esta etapa foi realizada conforme Silva, Junqueira & Silveira (1997):

a) Abertura da embalagem: Antes de abrir, a área externa da embalagem foi desinfetada com álcool 70°.

b) Retirada da unidade analítica: Foi utilizada uma tesoura estéril para permitir a retirada de porções aproximadamente iguais de cada uma das embalagens unitárias, até se obter a quantidade requerida para amostra (25 gramas).

3.2 Avaliação da presença de Coliformes Totais e Coliformes Termotolerantes

Para este trabalho, utilizou-se a metodologia descrita por Brasil (2003):

Uma amostra de 25 g do alimento foi inoculada em 225 mL de água peptonada 0,1% e homogeneizada durante 60 segundos em “stomacher”, sendo esta a diluição 10^{-1} . A partir da diluição inicial, efetuaram-se as demais diluições desejadas em solução salina peptonada 0,1%.

Após as diluições terem sido preparadas, com o auxílio de um micropipetador foram inoculadas alíquotas de 1 mL de cada diluição na superfície de placas de petri esterilizadas. Adicionou-se Violet Red Bile Agar (VRBA) (Biobrás) previamente fundido, fazendo a homogeneização cuidadosa e posterior repouso para solidificação. Adicionou-se sobre cada placa, cerca de 10 mL de VRBA (Biobrás) previamente fundido, formando uma segunda camada de meio. Incubou-se por 18 - 24 horas na temperatura de 37°C.

Para confirmação de coliformes totais foram selecionadas cinco colônias típicas e inoculadas, com o auxílio de uma alça de platina previamente esterilizada, em tubos contendo caldo verde brilhante bile 2% lactose (Merck), incubadas a 37°C por 24 – 48 horas. Consideraram-se positivas as reações dos tubos com turvação do meio e formação de gás no interior do tubo de Durhan invertido.

Com o auxílio de alça de platina previamente esterilizada, cinco colônias típicas foram inoculadas em tubos contendo caldo EC (Merck) e incubadas em banho-maria a 44,5°C por 24 – 48 horas. Consideraram-se positivas as reações dos tubos que tiveram turvação do meio e formação de gás no interior do tubo de Durhan invertido.

A partir dos isolados de coliformes termotolerantes foram feitos isolamento em ágar McConkey (Merck) e testes bioquímicos específicos (Produção de Indol, Voges-Proskauer, Vermelho de Metila e Produção de Citrato) a fim de identificar *Escherichia coli*.

Para o cálculo do número de coliformes totais e termotolerantes a seguinte regra foi utilizada: número de colônias contadas na placa x % de colônias confirmadas x o inverso da diluição utilizada para a contagem.

3.3 Avaliação da presença de estafilococos coagulase positiva

Após as diluições terem sido preparadas, foram inoculadas alíquotas de 0,1 mL de cada diluição na superfície de placas previamente preparadas e secas de ágar Baird Parker (Merck). Com alça de Drigalski flambada em álcool, o inóculo foi espalhado em toda superfície do ágar, obedecendo ao critério de espalhamento das placas de maior diluição para as placas de menor diluição. Após, as placas foram incubadas invertidas a 37° C por 48 horas em estufa bacteriológica.

Para contagem das colônias presuntivas foram selecionadas placas com 20 a 200 colônias e foram contadas as colônias típicas de *Staphylococcus*: colônias negras, circulares, pequenas (máximo 1,5mm de diâmetro), lisas, convexas, com bordas perfeitas, massa de células esbranquiçadas nas bordas, rodeadas por uma zona opaca e/ou um halo transparente se estendendo para além da zona opaca.

Foram selecionadas cinco colônias típicas de cada placa para teste da coagulase e transferidas para tubos com Caldo Infuso Cérebro Coração (BHI) (Difco) incubados em estufa bacteriológica durante 24 horas a 37° C.

Para o teste da coagulase foram transferidos 0,2mL de cada cultura obtida em Caldo Infuso Cérebro Coração (BHI) (Difco) para um tubo de ensaio e adicionados 0,2mL de Plasma-EDTA, homogeneizados com movimentos suaves para não interferir na coagulação. Foram incubados em estufa bacteriológica a 37° C e observadas a cada hora a formação do coágulo durante 24 horas. Reações positivas (formação do coágulo) foram consideradas confirmatórias da presença de estafilococos coagulase positiva. Para o cálculo do número de estafilococos coagulase positiva foi utilizado: número de colônias características contadas na placa x % de colônias confirmadas x o inverso da diluição utilizada para a contagem.

As colônias confirmadas como estafilococos coagulase positiva foram mantidas em ágar triptona de soja (TSA) (Merck) sob refrigeração, para posterior identificação.

Para diferenciação dos estafilococos coagulase positiva (*S. aureus*, *S. hyicus* e *S. intermedius*) foram empregados testes, propostos por Kloos & Bannerman (1990):

- a produção de acetoina foi verificada a partir de tubos com caldo à base de glicose e peptona, que após 48 h de incubação a 37°C, foram adicionados de 0,6mL de α -naftol a 5% (p/v) em álcool absoluto e 0,2mL de hidróxido de potássio a 40% (BARROW & FELTHAM, 1995);

- a utilização anaeróbica do manitol foi feita em tubos incubados em sistema GasPak;

- a atividade da β -galactosidase foi determinada como descrito por Hendrickson (1985), com o emprego do substrato 2-naftil- β -D-galactopiranosídeo, incubado com suspensões das bactérias a 37°C.

- para a identificação de colônias sensíveis à acriflavina, foram utilizadas placas de petri contendo ágar P (PHILLIPS & NASH, 1985) (Anexo III) ou Baird-Parker, adicionadas de solução de acriflavina (concentração final no meio de $7\mu\text{g.mL}^{-1}$, conforme Devriese (1981). Placas com e sem acriflavina foram inoculadas com suspensões de bactérias em caldo tripton de soja (TSB) (Merck), incubadas durante 24-48h a 35°C e avaliadas quanto à sensibilidade e resistência (BRITO, CAMPO & BRITTO, 2002).

3.4 Avaliação da presença de *Listeria* sp.

O isolamento de *Listeria monocytogenes* foi realizado conforme Brasil (2003):

Uma amostra de 25g do alimento foi adicionada a 225mL de Caldo de Enriquecimento para *Listeria* (UVM) (Difco) e colocados em sacos plásticos estéreis (Bag Stomacher) os quais foram homogeneizados em “Stomacher” (Interscience) durante 60 segundos e incubados a uma temperatura de 30°C por 24 horas.

A partir do Caldo de Enriquecimento para *Listeria* (UVM) (Difco), alíquotas de 0,1mL de cada amostra foram inoculadas em 9,9mL de caldo Fraser (Difco) e incubadas a 35°C por 24 - 26 horas.

Após a incubação, com o auxílio de alça de platina, foram retiradas alíquotas de cada tubo de enriquecimento seletivo e semeadas em meios seletivos indicadores: ágar triptose (Merck) com ácido nalidíxico (ATN) e ágar Palcam (AP) (Difco) que foram incubados por 24 – 48 horas a 35°C. A seleção no ATN baseou-se nas características das colônias, quando observadas sob luz oblíqua, em estereoscópio. No AP (Difco), observou-se a não fermentação do manitol e a formação de esculetina pela hidrólise da esculina, reação revelada pela presença de ferro trivalente.

Colônias características foram semeadas por esgotamento, em ágar triptose de soja (Merck) acrescido de 0,6% de extrato de levedura (TSA-YE) e incubadas a 30°C por 24 horas. As placas foram examinadas sob luz oblíqua e selecionadas as colônias

que apresentaram coloração azulada típica. As colônias foram transferidas para tubos contendo TSA-YE inclinado e um tubo com caldo triptona de soja (Merck) com 0,6% de extrato de levedura (TSB-YE). Estes tubos foram incubados a 30°C por 24 horas, a partir dos quais foram realizados os testes bioquímicos para confirmação do microrganismo.

Colônias que apresentaram crescimento típico foram submetidas à coloração de Gram, teste da catalase e provas bioquímicas: TSI (Oxoid), vermelho de metila, Voges-Proskauer (Oxoid), motilidade (SIM) (Merck), fermentação dos açúcares (glicose, ramnose, manitol, xilose e maltose) e redução de nitrato, de acordo com Mac Faddin (1980).

Isolados que apresentaram forma de cocobacilos Gram positivos, catalase positiva e perfil bioquímico compatível com *Listeria* sp. foram submetidos ao Teste de CAMP, realizado em placas contendo ágar sangue e inoculadas culturas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 49444) e *Rhodococcus equi* (ATCC 6939). Entre estas culturas, foram semeadas as culturas suspeitas de *Listeria* sp.

Segundo Farber *et al.* (1994), as culturas de *Listeria monocytogenes* produzem reação de hemólise discreta, porém nas proximidades da cultura de *Staphylococcus aureus*, o halo torna-se maior e mais nítido.

3.5 Avaliação da presença de *Salmonella* sp.

A metodologia de análise da presença de *Salmonella* sp. adotada para este trabalho foi previamente avaliada por Michael *et al.* (2003), constando de uma etapa de pré-enriquecimento, seguida do enriquecimento seletivo e do isolamento das colônias em meio sólido seletivo.

Uma amostra de 25g do alimento foi adicionada a 225mL de água peptonada tamponada e colocada em sacos plásticos estéreis (Bag Stomacher) os quais foram homogeneizados em “Stomacher” (Interscience) durante 60 segundos e incubados a uma temperatura de 37°C por 24 horas.

A partir da água peptonada tamponada, alíquotas de 1mL e 0,1mL de cada amostra foram inoculadas, respectivamente, em 9 mL de caldo Tetrionato Müller-Kauffmann (TMK) (Difco) e em 9,9 mL de caldo Rappaport-Vassiliadis (Difco), e incubadas em banho-maria a 42°C por 24 horas.

Após 24 horas de incubação, com o auxílio de alça de platina, foram retiradas alíquotas de cada tubo de enriquecimento seletivo e semeadas em meios seletivos

indicadores: ágar Xilose Lisina Tergitol-4 (XLT-4) (Merck) e ágar Verde Brilhante Vermelho de Fenol Lactose Sacarose (BPLS) (Merck) com Novobiocina 0,1%. Ambos os meios foram incubados por 24 horas a 37°C.

Colônias suspeitas nos meios seletivos foram isoladas em ágar Triptona Soja (TSA) (Merck) e, após a obtenção de culturas puras, foram submetidas a provas de triagem. Foram utilizados o ágar Três Açúcares-Ferro (TSI) (Oxoid) e o ágar Lisina-Ferro (LIA) (Oxoid) para a identificação inicial das colônias suspeitas. Todas as amostras bacterianas que apresentaram perfil semelhante ao de *Salmonella* sp., nos meios de triagem, foram submetidas a outras provas bioquímicas [uréia (Isofar), fenilalanina (Difco), citrato (Biobrás), ONPG (o-nitrofenil-β-D-galactopiranosídeo) e SIM (produção de indol, H₂S, motilidade) (Biobrás)] e aglutinação com soro somático polivalente (PROBAC) para confirmação. Os meios foram preparados conforme instruções do fabricante e interpretados conforme Mac Faddin (1980).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Amostras fatiadas e embaladas em estabelecimentos comerciais de Porto Alegre

4.1.1. Isolamento de Coliformes Totais e Termotolerantes

Das 300 amostras coletadas, divididas em 20 lotes por estabelecimento, 66,6% foram positivas para coliformes totais. No estabelecimento A, 98% das amostras tinham a presença de Coliformes Totais, enquanto nos estabelecimentos B e C, 35% e 67% das amostras foram positivas, respectivamente. As contagens encontradas variaram entre estabelecimentos e lotes amostrados, sendo a menor contagem ($1,51 \log_{10}\text{UFC.g}^{-1}$) observada no estabelecimento C e a maior ($7,45 \log_{10}\text{UFC.g}^{-1}$) no estabelecimento A (Anexo 1). Observa-se que no estabelecimento A, as medianas encontradas em todos os lotes foram superiores aos dos demais estabelecimentos (Tabela 1), indicando que nesse supermercado existiam maiores dificuldades quanto à higiene durante o processo de fatiamento de apresuntado.

Como Coliformes Totais são bactérias consideradas ambientais, a limpeza e sanificação dos equipamentos e utensílios de trabalho são passos fundamentais para uma diminuição considerável de seu número nas amostras. A partir disso, pressupõe-se que os processos inadequados referentes à higiene de superfícies adotados nos estabelecimentos visitados permitiram que uma quantidade expressiva de bactérias fosse transmitida cruzadamente aos alimentos ali manipulados.

Em alimentos processados, a presença de um número elevado de coliformes ou de membros da família *Enterobacteriaceae* pode indicar processamento inadequado, recontaminação pós-processamento, sendo os equipamentos sujos ou a manipulação sem cuidados de higiene, as causas mais frequentes (BANWART, 1989; FRANCO & LANDGRAF, 2005), assim como a multiplicação durante o processamento ou estocagem. A legislação federal vigente (BRASIL, 2001) não estabelece padrões para bactérias mesófilas e coliformes totais, sendo estes microrganismos considerados indicadores de condições higiênico-sanitárias inadequadas (FRANCO & LANDGRAF, 2005) durante o processo e fracionamento, podendo-se citar o fatiador e o manipulador como potenciais fontes de contaminação (SERIO *et al.*, 2007; SOUZA, SILVA & SOUSA, 2004).

Tabela 1: Mediana (\log_{10} Unidades Formadoras de Colônia. g^{-1}) de Coliformes Totais em 20 lotes de apesuntado fatiado e embalado adquiridos em três supermercados (A, B, C) de Porto Alegre em 2007.

Lote*	Estabelecimento		
	A	B	C
1	5,11	2,18	2,56
2	6,74	2,58	3,09
3	7,18	Neg.	3,65
4	6,27	Neg.	2,28
5	5,40	2,31	3,66
6	5,87	2,30	4,12
7	6,11	4,02	5,00
8	6,80	5,72	5,17
9	4,38	4,80	3,33
10	6,18	Neg.	Neg.
11	5,00	Neg.	3,45
12	5,66	Neg.	Neg.
13	4,71	3,48	4,05
14	5,69	3,66	Neg.
15	5,11	2,50	3,97
16	4,56	2,33	2,79
17	6,11	3,52	1,62
18	4,97	Neg.	3,72
19	4,95	2,90	Neg.
20	5,28	2,46	3,43

*Lote corresponde a cinco amostras individuais de aproximadamente 50 g.

Os resultados verificados no presente estudo também encontram suporte nos dados obtidos por Gottardi (2006) em ambientes de fatiamento de supermercados em Porto Alegre, onde Coliformes Totais foram encontrados tanto em fatiadora de fiambres (até $45,5 \text{ UFC.cm}^{-2}$), quanto na superfície da mesa de manipulação desses produtos (até 6 UFC.cm^{-2}).

A presença de Coliformes Termotolerantes acima do previsto na legislação ($>10^3 \text{ UFC.g}^{-1}$) (BRASIL, 2001) foi detectada em amostras de apesuntado adquiridas em todos os estabelecimentos (Tabela 2). Entretanto, os lotes amostrados no estabelecimento B tiveram estatisticamente ($P < 0,05$) menos amostras com Coliformes Termotolerantes acima do limite previsto na legislação (BRASIL, 2001). Ao lado disso,

a única amostra de Coliforme Termotolerante do estabelecimento B não pôde ser confirmada como sendo *E. coli*. Nos estabelecimentos A e C também foi observado que nem todas as amostras com presença de Coliformes Termotolerantes acima do previsto na legislação tiveram colônias confirmadas como *E.coli*, sendo os isolados obtidos classificados como *Klebsiella* sp.

Tabela 2: Número de amostras de apresentado fatiado e embalado adquiridos em três supermercados de Porto Alegre (2007) com contagens de Coliformes Termotolerantes acima do previsto na RDC 12* e com confirmação de presença de *Escherichia coli*.

Estabelecimento	Coliformes Termotolerantes > 10 ³	
	UFC.g ⁻¹	<i>E. coli</i>
A	6	3
B	1	0
C	11	3
Total	18	6

UFC= Unidades Formadoras de Colônia

* RDC n° 12, de 2 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001).

Enquanto a presença de Coliformes Totais indica condições inadequadas de higiene do ambiente de processamento e manipulação, a presença de Coliformes Termotolerantes pode indicar contaminação durante o processo de fatiamento, determinada pelo manipulador com hábitos de higiene insuficientes. No presente estudo, houve concordância entre ambos os indicadores, uma vez que o estabelecimento B apresentou visivelmente as melhores condições considerando ambos os grupos de microrganismos. Ao contrário, no estabelecimento A, foram encontradas as contagens mais elevadas de Coliformes Totais e observou-se, proporcionalmente, a maior presença de *E.coli* dentre os Coliformes Termotolerantes. No estabelecimento C as contagens de Coliformes Totais foram relativamente mais baixas quando comparadas ao estabelecimento A, mas ocorreu um maior número de amostras positivas para Coliformes Termotolerantes, a maioria não sendo identificadas como *E. coli*.

Alimentos contaminados com *E. coli* podem revelar ao consumidor contato anterior do produto direta ou indiretamente, com o conteúdo fecal, sendo que a bactéria pode estar presente no ambiente, tendo como origem o trato gastrointestinal. Ao analisar

resultados referentes à quantificação de coliformes termotolerantes, Souza, Silva & Sousa (2004) verificaram que os maiores índices foram encontrados na superfície de preparo e nas mãos dos manipuladores. Dessa forma, é possível que os manipuladores tenham sido os responsáveis pela introdução desse grupo de microrganismos nas amostras analisadas no presente estudo, uma vez que nas superfícies de manipulação e nos equipamentos a presença de coliformes termotolerantes e *E.coli* não havia sido reportada por Gottardi (2006), em supermercados de Porto Alegre.

Ayçiçek *et al.* (2004) encontraram 7,8% das mãos de manipuladores contaminadas com *E. coli*. Souza, Silva & Sousa (2004) encontraram *E. coli* nas mãos de funcionários e equipamentos de todos os estabelecimentos amostrados em sua pesquisa em João Pessoa, PB, enquanto Lues & Tonden (2007), encontraram essa bactéria em somente um manipulador, entre um total de 50 amostrados. Enquanto Christison, Lindsay & Holy (2007) observaram que as contagens de coliformes nas mãos de manipuladores e nas placas de corte foram significativamente mais elevadas do que as contagens correspondentes obtidas dos utensílios de preparação.

Shojaei, Shooshtaripoor & Amiri (2006) demonstraram a eficácia da higiene pessoal em manipuladores de alimentos, na redução da contaminação por agentes potencialmente patogênicos. Neste estudo, a frequência de *E. coli* das mãos dos manipuladores diminuiu de 22% para 3,3% após a correta higienização.

Considerando o total de amostras analisadas, observa-se que 6% (18/300) estavam fora dos padrões exigidos pela legislação brasileira. Em estudo semelhante conduzido em Cruz Alta (RS), com amostras de salame produzido sob inspeção, Cereser *et al.* (2007) verificaram que 4% de 50 amostras analisadas estavam em desacordo com os parâmetros da legislação vigente. Ao lado da potencial capacidade da *E. coli* em causar gastroenterites, a presença desse microrganismo nesses produtos oferecidos ao consumidor demonstra a possibilidade de outros patógenos associados ao trato gastrointestinal estarem presentes. Dessa forma, os presentes dados demonstram que os consumidores podem estar expostos ao risco de doenças transmitidas por alimentos ao adquirirem esse produto.

4.1.2. Isolamento de *Staphylococcus coagulase positiva*

Nas 100 amostras de apresuntado avaliadas em cada estabelecimento, observou-se a presença de estafilococos coagulase positiva em 16% do total amostrado (Anexo 1). Entretanto, considerando o limite de 10^3 UFC.g⁻¹ estabelecido pela legislação (BRASIL,

2001), observou-se que no Estabelecimento C, onde havia sido detectado o maior número de produtos com contagens de coliformes termotolerantes acima do padrão estabelecido, foi encontrada também a maior frequência (18%) de amostras em desacordo com a legislação. Por outro lado, os estabelecimentos A e B, apesar de terem diferido de forma expressiva nas contagens de coliformes totais e termotolerantes, apresentaram frequência semelhante de amostras acima do padrão estabelecido para estafilococos coagulase positiva (11 e 10%, respectivamente).

A presença de estafilococos coagulase positiva revela a inadequada manipulação do alimento. Sendo o humano o responsável pela introdução de tal patógeno no alimento, é presumível que este se encontre em determinados produtos que sofreram manipulação. Nos estabelecimentos amostrados em Porto Alegre por Gottardi (2006), detectaram-se falhas no que diz respeito ao processo de higienização, resultando em utensílios e equipamentos contaminados. Entretanto, a presença de estafilococos coagulase positiva foi verificada mais frequentemente após o processo de higienização das superfícies de trabalho, provavelmente introduzidos pelo contato com a mão dos funcionários do setor. A alta rotatividade de manipuladores de alimentos, na maioria dos estabelecimentos, resultando em treinamento inadequado de pessoal, pode ser uma das razões para as falhas detectadas pelo presente estudo.

Soto *et al.* (1996) e Van Den Bergh *et al.* (1999) demonstram que entre 20 e 55% de adultos saudáveis carregam *S. aureus* na suas fossas nasais, e Raddi, Leite & Mendonça (1988) consideram essa área o principal reservatório de estafilococos no homem e a incidência na população é tal que parece ser impossível sua eliminação. Acco *et al.* (2003) isolaram *S. aureus* em 30% de um total de 47 manipuladores de alimentos de indústria de cereais e geléia de frutas em Porto Alegre (RS), resultado muito parecido ao de Figueroa *et al.* (2002). André *et al.* (2008), em um total de 92 amostras de mãos e fossas nasais, coletadas de uma equipe de funcionários em uma fábrica de produtos lácteos, encontraram respectivamente, 30,4% e 32,6% de amostras com a presença de *S. aureus*.

S. aureus é a bactéria mais isolada a partir de mucosa nasal e mãos na maioria dos estudos conduzidos (RADDI, LEITE & MENDONÇA 1988; AYÇIÇEK *et al.*, 2004; BRESOLIN, DALL'STELLA & FONTOURA-DA-SILVA, 2005; LUE & TONDES, 2007). Shojaei, Shooshtaripoor & Amiri (2006) observaram uma redução significativa na contaminação por esta bactéria nas mãos dos manipuladores quando estes foram treinados para realização de higiene pessoal rigorosa, enquanto que

Bresolin, Dall'stella & Fontoura-da-Silva (2005) constataram que *S. aureus* não foi eliminado das mãos pelo procedimento de lavagem adotado pelos manipuladores em 41,1% dos casos, sendo que em 21,1%, a bactéria apareceu na mão após esse procedimento, indicando que houve recontaminação.

Apesar de *S. aureus* ser o principal representante dos estafilococos coagulase positiva encontrados em alimentos, outras espécies desse gênero (*S. intermedius* e *S. hyicus*) também podem estar presentes, o que foi efetivamente observado no presente estudo. Ao lado disso, observa-se que de uma mesma amostra houve o isolamento concomitante de *S. aureus*, *S. intermedius* e *S. hyicus* (Figura 1). Esses dados evidenciam uma recontaminação dos produtos via manipulador e utensílios e uma contaminação cruzada, hipótese relacionada ao processamento de produtos crus e cozidos em mesmo equipamento.

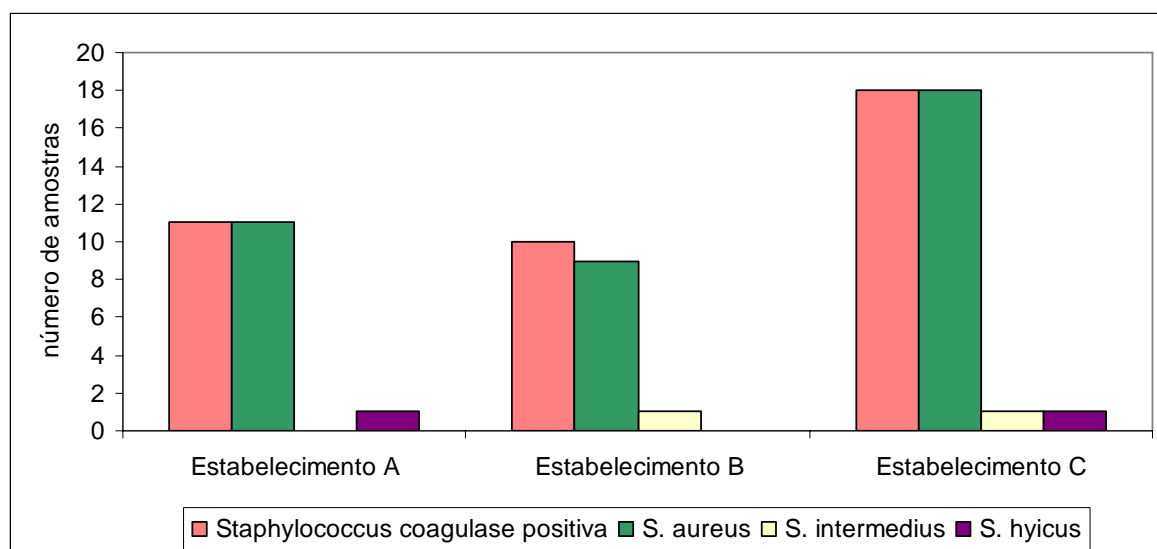


Figura 1. Número de isolados de acordo com a espécie de estafilococos coagulase positiva encontrados em amostras de presunto fatiado e embalado em três supermercados de Porto Alegre, 2007.

A ocorrência de *S. intermedius* no produto pode sugerir um prévio contato do manipulador com animais portadores, ou ainda, contato direto de animais com o ambiente de manipulação. *S. intermedius* é considerado um microrganismo patogênico de interesse veterinário (OLIVEIRA, 2000), encontrado como parte da microbiota da pele, cavidades orais e nasais de cães, visons, equinos e gatos, que pode causar infecções cutâneas, urinárias, ósseas e do sistema nervoso central, em várias espécies

animais (JAY, 2005; KONEMAM *et al.* 2001). Segundo Jay (2005), *S. intermedius*, assim como *S. aureus*, apresenta a capacidade de produzir enterotoxinas. Khambati, Bebbet & Shah (1994) relacionaram esse microrganismo com vários surtos de intoxicação alimentar, principalmente envolvendo produtos de origem animal. No entanto, Talan *et al.* (1989), pesquisando esse microrganismo em 144 humanos expostos frequentemente a cães, isolou somente uma amostra de *S. intermedius* na nasofaringe, concluindo que a colonização das mucosas de humanos por essa bactéria não é comum.

S. hyicus, assim como *S. intermedius*, é considerado um patógeno de interesse veterinário (OLIVEIRA, 2000), encontrado, principalmente em suínos e bovinos, frequentemente associado à epidermite exudativa, uma doença que acomete suínos lactentes e recém desmamados. Não há relatos na literatura do envolvimento dessa espécie em intoxicações alimentares. A hipótese sugerida para o isolamento de *S. hyicus* nos produtos amostrados que sofrem tratamento térmico na indústria, é que estes possam ter sido contaminados cruzadamente por outros produtos, inclusive queijos. Neste caso, produtos que não sofreram tratamento térmico podem ter sido fatiados e manipulados nos mesmos utensílios posteriormente utilizados para o processamento dos apresentados, deixando nestes uma carga microbiana, incluindo o *S. hyicus*.

4.1.3. Isolamento de *Listeria monocytogenes*

No presente estudo, dos 60 “pools” de amostras analisadas para presença de *Listeria* sp. 16 (26,6%) foram positivas. No estabelecimento A, predominaram amostras identificadas como *L. monocytogenes*, enquanto no estabelecimento C, *L. innocua* foi mais isolada. Já no estabelecimento B o número de amostras contaminadas com *L. monocytogenes* e *L. innocua* foi igual (Figura 2).

A presença de *Listeria* sp. está diretamente relacionada às condições higiênicas do local de processamento dos alimentos, sendo que é capaz de permanecer no ambiente, sobrevivendo e multiplicando-se em condições adversas. Houve concordância entre elevadas contagens de Coliformes Totais e presença de *Listeria* sp. (Anexo I). Estes resultados podem ser justificados por ambas as bactérias terem como habitat principal o ambiente. Desta forma, torna-se evidente que o processo de higienização inadequado utilizado pelos estabelecimentos propiciou contaminação do produto com um agente causador de DTA.

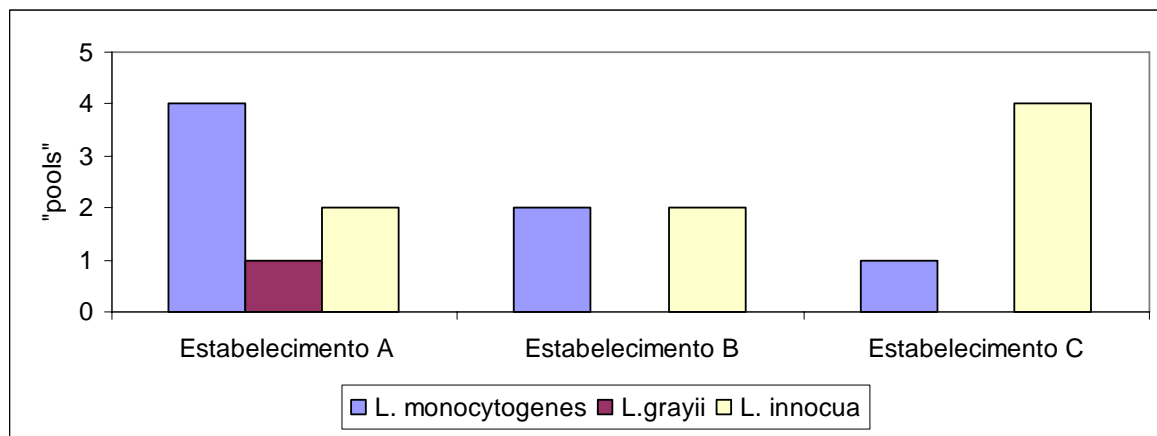


Figura 2. Número de “pools” de amostras de presunto fatiado positivas para espécies de *Listeria* sp. em três supermercados de Porto Alegre, 2007.

Apesar dos produtos lácteos serem os mais frequentemente associados à presença de *L. monocytogenes* (JAY, 2005) existem vários relatos na literatura sobre o isolamento desse agente em produtos cárneos. Da mesma forma, o processamento e o armazenamento como fatores que favorecem a introdução e multiplicação de *Listeria* sp. em alimentos cárneos já foram amplamente documentados.

UYTTENDAELE, DE TROY & DEBEVERE (1999) encontraram 1,4% e 6,14% de amostras de presunto cozido positivas antes e depois do fatiamento, respectivamente, sugerindo uma contaminação durante o processo de fatiamento. Sergelidis *et al.* (1997) pesquisaram *Listeria* sp. em plantas de processamento de produtos cárneos, encontrando dentre 22 refrigeradores amostrados, uma e oito amostras positivas para *L. monocytogenes* e *L. innocua*, respectivamente. No mesmo estudo, *L. monocytogenes* foi isolada de um manipulador, dentre 22 amostrados. Em pesquisa realizada por Azevedo *et al.* (2005) em Portugal, foram encontradas *L. monocytogenes* e *L. innocua* em três e um dos 86 refrigeradores domésticos analisados, respectivamente. Estes estudos demonstram a viabilidade de *Listeria* sp. no ambiente de processamento, além da importância do fator refrigeração para o crescimento deste gênero.

Assim como no presente estudo, um dos aspectos mais preocupantes relacionados à presença de *L. monocytogenes* é que, os produtos contaminados serão consumidos sem tratamento térmico, o qual destruiria a bactéria. Investigando produtos cárneos cozidos prontos para consumo, Gibbons *et al.* (2006) encontraram quatro de 11 amostras contaminadas com *Listeria* spp., das quais destas duas foram classificadas como *L. monocytogenes*. Frizzo *et al.* (2003) encontraram 22 amostras positivas entre

39 analisadas, das quais 54,28% foram classificadas como *L. monocytogenes*. Este patógeno também foi encontrado por Cordano & Rocourt (2001) e Thevenot *et al.* (2005), em salsichas secas cruas no Chile e na França, respectivamente, na proporção de 10,6% e 10%. Nos Estados Unidos, 22,9% de produtos suínos de criação caseira e amostras de salsichas estavam contaminadas por este patógeno (DUFFY *et al.*, 2001), e Farber & Daley (1994) encontraram *L. monocytogenes* em sete de 101 amostras de patês analisados. Tobia, Mengoni & Pellon (1997) analisaram 30 amostras de embutidos termoprocessados embalados a vácuo, conservados refrigerados e que são consumidos sem cocção provenientes de estabelecimentos comerciais na Argentina, encontrando 16,7% positivas para *L. monocytogenes*. Em uma pesquisa com produtos prontos para o consumo, Christison, Lindsay & Holy (2007) encontraram 4% de amostras positivas para *L. monocytogenes*. Araújo *et al.* (2007) encontraram todas as cinco amostras de lingüiça mista tipo frescal contaminadas com *L. monocytogenes* e *L. innocua*.

No presente estudo *L. innocua* foi encontrada em proporção maior à *L. monocytogenes*, o que também ocorreu nos estudos de Sergelidis *et al.* (1997). Yokota *et al.* (2007) não isolaram *L. monocytogenes* em 83 amostras de produtos cárneos comercializados no Distrito Federal, no entanto, foi detectada a presença de *L. innocua* em cinco amostras, o que pode ser considerado indicativo do risco de *L. monocytogenes* estar contaminando o alimento, visto que possuem o mesmo habitat (DUARTE, 2005; CZAJA, *et al.*, 1993). Fatores como estresse, número inicial relativo de ambas as bactérias e seleção das colônias somente de *L. innocua*, visto que são semelhantes, podem estar relacionados com a não detecção de *L. monocytogenes* (RYSER & DONNELLY, 2001).

L. monocytogenes é um patógeno implicado em vários surtos de doenças transmitidas por alimentos. Embora a listeriose tenha sido freqüentemente relacionada com o consumo de produtos lácteos, surtos na década de 80 envolveram produtos cárneos (SCHWARTZ *et al.*, 1988). Estudos retrospectivos de 10 anos na França revelaram que os produtos cárneos de origem suína estão envolvidos mais freqüentemente em surtos do que os produtos lácteos naquele país (LECLERC *et al.*, 2002). No presente estudo, presunto suíno cozido mostrou ser um veículo potencial para a transmissão de *L. monocytogenes* aos consumidores, especialmente aqueles pertencentes a grupos de risco.

4.1.4. Isolamento de *Salmonella* sp.

Salmonella sp. não foi isolada nos produtos fatiados amostrados em estabelecimentos de Porto Alegre. Este resultado pode ser atribuído ao fato de os produtos amostrados sofrerem tratamento térmico na indústria, que destrói a *Salmonella*. A recontaminação durante o processo de manipulação requereria manipuladores portadores assintomáticos e/ou contaminação cruzada com produtos crus com a presença da bactéria. Em ambos os casos, supõem-se que seria introduzido um baixo número de bactérias e, uma vez que *Salmonella* sp. não apresenta boa capacidade de multiplicação na temperatura de refrigeração (JAY, 2005), possíveis contaminações ocorridas passaram despercebidas. Ao lado disso, *Salmonella* sp. não é uma boa competidora, sendo inibida nos casos em que há uma microbiota interferente no produto. Dessa forma, no presente estudo não pode ser descartada a possibilidade de que a elevada presença de Coliformes Totais possa ter prejudicado o isolamento de *Salmonella* sp.

Produtos prontos para o consumo têm sido reportados como contaminados por *Salmonella* sp., enfatizando o risco do consumidor frente a esses alimentos (TSUJI *et al.*, 2002; FAUSTINI, ROSSI & PERUSSI, 2003). Em estudo realizado com produtos prontos para o consumo, Christison, Lindsay & Holy (2007) no sul da África, encontraram 16% de positividade para *Salmonella* sp. Fai *et al.* (2004), pesquisando *Salmonella* sp. em presuntos cozidos comercializados em Fortaleza (CE), encontraram 30% de amostras positivas. Sabendo-se que o processo de cozimento do presunto destrói essa bactéria, sua presença no produto pode ser atribuída a contaminações cruzadas durante o manuseio e fatiamento, como pode ser também verificado na pesquisa realizada por Arumugaswamy *et al.* (1995), onde alguns alimentos cozidos, prontos para o consumo, comprados de vendedores de rua estavam contaminados por *Salmonella* sp..

Cereser *et al.* (2007) não encontraram amostras positivas para *Salmonella* sp. nos salames analisados em estudo realizado em Cruz Alta (RS), resultado semelhante ao de Salvatori, Bessa & Cardoso (2003) em Porto Alegre (RS), enquanto Mürmann, Santos e Cardoso (2005) reportaram 25% de lingüiça frescal de carne suína com presença de *Salmonella* sp., na mesma cidade.

4.2. Amostras fatiadas e embaladas industrialmente e comercializadas em Porto Alegre

Este estudo partiu da hipótese que produtos fatiados provenientes da indústria apresentariam uma carga microbiana baixa, já que sofreram processamento térmico em sua origem. Dessa forma a hipótese levantada foi que os produtos teriam sido contaminados durante o processamento e manipulação no estabelecimento comercial. Para confirmar essa hipótese foram adquiridos apresuntados embalados na indústria e comercializados nos mesmos estabelecimentos incluídos no estudo.

Das 54 amostras coletadas, 35,2% foram positivas para coliformes totais, sendo que no Sistema de Inspeção Federal observou-se um número inferior de amostras contaminadas (23,3%) (Anexo II), justificando a hipótese de que ocorre a introdução de microrganismos durante o processo de fatiamento e manipulação nos estabelecimentos comerciais. As contagens encontradas foram variadas entre os sistemas, sendo a menor contagem ($1,34 \log_{10} \cdot g^{-1}$) observada em um produto sob SIF e a maior ($3,54 \log_{10} \cdot g^{-1}$) em uma amostra de produto sob CISPOA (Anexo II).

Somente uma amostra apresentou *L. monocytogenes* e Coliformes Termotolerantes (tabela 3), sugerindo uma contaminação pós-processamento na indústria. Fica evidente que o nível de isolamento desses microrganismos foi muito inferior ao encontrado em produtos fracionados nos supermercados, corroborando a hipótese de que os mesmos foram introduzidos durante o processamento no comércio.

Ao avaliar a contaminação de produtos por estafilococos coagulase positiva e *S. aureus*, observa-se que os índices de isolamento foram semelhantes aos que haviam sido encontrados nos produtos fracionados no comércio. Entretanto, as frequências de isolamento concentraram-se nos produtos originados de indústrias sob inspeção estadual, tradicionalmente de menor porte e, muitas vezes, com procedimentos de boas práticas de fabricação deficientes.

Nessa etapa também houve a pesquisa de *Salmonella* sp., encontrando-se duas amostras positivas entre os produtos originados de indústria sob Inspeção Federal. A presença de *Salmonella* sp. em suínos ao abate e produtos de origem suína tem sido reportada no Brasil (BESSA, COSTA & CARDOSO, 2004; CASTAGNA et al., 2004; MURMANN, SANTOS & CARDOSO, 2006), entretanto esse é o primeiro relato de isolamento em apresuntado. Uma vez que se trata de um produto submetido a tratamento térmico, provavelmente houve uma recontaminação do produto após o

processamento, o que alerta para a necessidade de constante monitoramento dos pontos críticos de controle, mesmo em indústrias com programas de APPCC instalados.

Tabela 3. Número de amostras positivas para determinados patógenos em relação ao Sistema de Inspeção submetido.

	Amostras	<i>L. monocytogenes</i> *	Coliformes Termotolerantes**	<i>Staphylococcus</i> coagulase positiva**	<i>S.</i> <i>aureus</i>	<i>Salmonella</i> <i>sp.</i> *
Inspeção Federal	30	0	0	2	2	2
Inspeção Estadual	24	1	1	5	5	0

* “Pools” de amostras.

** Amostras acima do limite considerado aceitável pela legislação vigente.

5 CONCLUSÃO

Nos estabelecimentos avaliados neste estudo estavam sendo comercializados apresentados fatiados com elevado número de microrganismos indicadores e presença de *Listeria* sp., indicando que a manipulação e fatiamento de produtos podem ser um ponto adicional de contaminação dos alimentos, e a necessidade de otimização dos protocolos de higienização nesses setores do comércio para aumentar a segurança dos produtos processados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACCO, M. *et al.* Identification of multiple strains of *S. aureus* colonizing nasal mucosa of food handlers. **Food Microbiology**, London, v.20, p.489-493, 2003.

ALMEIDA, C.R.T. *et al.* **Contaminación microbiana de los alimentos vendidos en la via publica em ciudades de América Latina y características sócio-económicas de sus vendedores y consumidores.** Washington: Organización Panamericana de Salud, p.176, 1996.

ALMEIDA, R.C.C. *et al.* Avaliação e controle de qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.29, n.4, p.290-294, 1995.

ANDERSEN, J.K. *et al.* New strategies for the use of microbiological examinations in food control in Denmark. **Food Control**, Guildford, v.18, p.273-277, 2007.

ANDRADE, N.J.; MACEDO, J.A.B. **Higienização na indústria de Alimentos.** São Paulo: Varela. 1996. 182p.

ANDRÉ, M.C.D.P.B. *et al.* Comparison of *S. aureus* isolates from food handlers, raw milk and Minas Frescal cheese by antibiogram and pulsed-field gel electrophoresis following SmaI digestion. **Food Control**, Guildford, v.19, p.200-207, 2008.

ANGELILLO, I. F. *et al.* Food handlers and foodborne diseases, knowledge attitudes and reported behavior in Italy. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.3, p.381-385, 2000.

ARAÚJO, M.R. *et al.* *L. monocytogenes* em produtos comercializados em Pelotas, Brasil. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 3., E BRASILEIRO DE

HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 9.,2007, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2007. p. 194-195.

ARUMUGASWAMY, R. K. *et al.* Prevalence of *Salmonella* in raw and cooked foods in Malaysia. **Food Microbiology**, London, v.12, p.3-8, 1995.

AZEVEDO, I. *et al.* Incidence of *Listeria* spp. in domestic refrigerators in Portugal. **Food Control**, Guildford, v. 16, p. 121-124, 2005.

AYÇIÇEK, H. *et al.* Assessment of the bacterial contamination on hands of hospital food handlers. **Food Control**, Guildford, v.15, p. 253-259, 2004.

BANWART, G.J. **Basic Food Microbiology**. Estados Unidos da América: Van Nostrand Reinhold, 1989, 2ed, 773p.

BARROW, G.I.; FELTHAM, R.K.A. **Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria**. 3. ed. Cambridge: Cambridge University, 1995. 331p.

BESSA, M.C.; COSTA, M.; CARDOSO, M. Prevalência de *Salmonella* sp. em suínos abatidos em frigoríficos do RS. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v.24, n.2, p.80-84, 2004.

BLAIS, B.W. Swab-based enzyme immunoassay system for detection of meat residues on food contact surfaces as a hygiene monitoring tool. **Journal of Food Protection**. v.62, n.4, p.386-389.1999.

BOOTH, I. The bacteria strike back. **Biochemistry**, v.5, p.8-11, 1998.

BORCH, E.; ARINDEN, P. Bacteriological safety issues in red meat and ready-to-eat meat products, as well as control measures. **Meat Science**, Oxford, v.62, p.381-390, 2002.

BRASIL. Resolução RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 do Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, de 10 de janeiro de 2001.

BRASIL. Instrução Normativa nº 62, de 26 de agosto de 2003 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Seção 1, Página 14 de 18 de setembro de 2003.

BRESOLIN, B.M.Z.; DALL' STELLA, J.; FONTOURA-DA-SILVA, S.E. Pesquisa sobre a bactéria *S. aureus* na mucosa nasal e mãos de manipuladores de alimentos em Curitiba/ Paraná/ Brasil. **Estud. Biolog.**, v.27, n.59, p.27-32, 2005.

BRITO, M.A.V.P.; CAMPOS, G.M.M; BRITO, J.R.F. Simplified scheme for identification of coagulase-positive staphylococci isolated from bovine mastitis. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, p. 79-82, 2002.

CARDOSO, R.C. V.; CHAVES, J.B.P.; ANDRADE, N.J. Avaliação da eficiência de agentes sanificantes para mãos de manipuladores de alimentos em serviços de refeições coletivas. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 14, 1994, São Paulo. **Resumos...** São Paulo: SBCTA, 1994. 117p.

CASTAGNA, S.M.F., SCHWARZ, P., CANAL, C.W., CARDOSO, M. Prevalência de suínos portadores de *Salmonella* sp. ao abate e contaminação de embutidos tipo frescal. **Acta Scientiae Veterinariae**, Porto Alegre, v.32, p.141-147, 2004.

CERESER, N.D. *et al.* Qualidade higiênico-sanitária de salame produzido sob inspeção permanente. *In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 3., E BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 9., 2007, Porto Seguro. Anais...* Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2007. p. 192-193.

CHASSEIGNAUX, E. *et al.* Molecular epidemiology of *L. monocytogenes* isolates collect from the environment, raw meat and raw products in two poultry- and pork processing plants. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.91, p.888-889, 2001.

CHRISTISON, C.A.; LINDSAY, D.; HOLY, A. von. Microbiological survey of ready-to-eat foods and associated preparation surfaces in retail delicatessens, Johannesburg, South Africa. **Food Control** in press, Guildford, 2007.

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

CONTRERAS, C.J. *et al.* Higiene e sanitização na indústria de carne e derivados. São Paulo: Varela, 2003. 181 p.

CORDANO, A.M., ROCOURT, J. Occurrence of *L. monocytogenes* in food in Chile. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.70, p.175-178, 2001.

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

CZAJA, J. *et al.* Differentiation of *L. monocytogenes* and *Listeria Innocua* by 16S rRNA genes and intraspecies discrimination of *L. monocytogenes* strains by random amplified polymorphic DNA polymorphisms. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington v. 59, p. 304-308, 1993.

DUFFY, E.A. *et al.* Extent of microbial contamination in United States pork retail products. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.64, p.172-178, 2001.

DEVRIESE, L. A. Baird-Parker medium supplemented with acriflavine, polymyxins and sulphonamide for the selective isolation of *Staphylococcus aureus* from heavily contaminated materials. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v. 50, p.351-357, 1981.

DUARTE, D.A.M. *et al.* Pesquisa de *L. monocytogenes* e microrganismos indicadores higiênicos sanitários em queijo de coalho produzido e comercializado no estado de Pernambuco. **Arquivo Instituto Biologia**, São Paulo, v.72, n.3, p.297-302, 2005.

DUNSMORE, D.G. Bacteriological control of food equipment surfaces by cleaning systems. I. Detergent effects. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.44, p.15-20, 1981.

FAI, A.E.C. *et al.* Presença de *Salmonella* sp. em presunto cozido suíno sem capa de gordura comercializado em supermercados de Fortaleza/CE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 19., 2004, Recife. **Anais...** Recife: SBCTA, 2004.

FARBER, J.M.; DALEY, E. Presence and growth of *L. monocytogenes* in naturally-contaminated meats. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.22, p.33-42, 1994.

FARBER, J.M.; PETERKIN, P.I. *L. monocytogenes*, a foodborne pathogen. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, Ottawa, v.55, p.476-511, 1991.

FAUSTINI, A.; ROSSI, P.G.; PERUCCI, C.A. Food borne outbreak control teams. Outbreaks of foodborne disease in the Lazio region, Italy: the results of the

epidemiological field investigations. **European Journal Epidemiology**, Dordrecht, v.18, p.699-702, 2003.

FIGUEROA, G.G. *et al.* Portación de *Staphylococcus aureus* enterotoxigénicos em manipuladores de alimentos. **Revista Médica de Chile**, Santiago, v.130, n.8, p.859-864, 2002.

FOONG, S.C.C.; GONZALES, G.L.; DICKSON, J.S. Reduction and survival of *L. monocytogenes* in ready-to-eat meats after irradiation. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.67, n.7, p. 77-82, 2004.

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

FRANCO, B.D.G. M; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 195p.

FRAZIER, W.C.; WESTHOFF, D. C. **Microbiologia de los alimentos**. 4.ed. Zaragoza: Acribia. 1993. 681p.

FREITAS, M.F.L. *et al.* Sensibilidade antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus* spp. isoladas de carcaças de frango comercializadas em Recife. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.3, p.405-407, 2004.

FREO, J.D.; REOLON, J.I. Qualidade dos produtos derivados de carne e leite, industrializados pelas agroindústrias de Fredenico Westphalen, RS. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.21, n.140, p. 53-59, 2006.

FRIZZO, S.E. *et al.* Incidência de *L. monocytogenes* em presunto suíno cozido sem capa de gordura comercializado em supermercados de Fortaleza/CE. *In: ENCONTRO*

UNIVERSITÁRIO DE INICIAÇÃO À PESQUISA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ, 22., 2003, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: UFC, 2003.

GEIMBA, M.P. *et al.* Serological characterization and prevalence of *spvR* genes in *Salmonella* isolated from foods involved in outbreaks in Brazil. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 67, p.1229-1233, 2004.

GENIGEORGIS, C. A. Present state of knowledge on Staphylococcal intoxication. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.9, p.327-360, 1989.

GERMANO, P.M.L.; GERMANO, M.I.S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela. 2001.629p.

GIBBONS, I. *et al.* Investigation for possible source(s) of contamination of ready-to-eat meat products with *Listeria* spp. and other pathogens in a meat processing plant in Trinidad. **Food Microbiology**, London, v.23, p.359-366, 2006.

GORMAN, R.; BLOOMFIELD, S.; ADLEY, C.C. A study of cross-contamination of food-borne pathogens in the domestic kitchen in the Republic of Ireland. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.76, p.143-150, 2002.

GOTTARDI, C.P.T. Surtos de toxinfecção alimentar notificados e investigados no município de porto alegre no período de 1995 a 2002. 46p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2003.

GOTTARDI, C.P.T. Avaliação das condições higiênico-sanitárias do ambiente de manipulação de produtos fatiados de origem animal de redes de supermercados de Porto Alegre. **Dissertação** (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

GOULET, C. *et al.* Listeriosis outbreaks associated with the consumption of rillettes in France in 1993. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.77, p.155-160, 1998.

GUDBJORNSDOTTIR, B. *et al.* The incidence of *L. monocytogenes* in meat, poultry and seafood d plants in Nordic countries. **Food Microbiology**, London, v.221, p.217-225, 2004.

HAEGHEBAERT, S. *et al.* Les toxi-infections alimentaires collectives en France. **Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire**, France, v.50, p.249-253, 2002.

HATAKKA, M. *et al.* Genotypes and enterotoxicity of *S. aureus* isolated from the hands and nasal cavities of flight-catering employees. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.11, p.1487-1491, 2000.

HENDRICKSON, D. A. Reagents and strains. *In*: LENNETTE, E.H. *et al.* Manual of clinical microbiology, 4.ed. American Society for Microbiology, Washington, 1985. 1093-1107 p.

HITCHINS A. D. *Listeria monocytogenes*. *In*: **Bacteriological Analytical Manual**. 8. ed. 2003. cap. 10. Disponível em: <http://www.cfsn.fda.gov/~ebam/bam-10.html>. Acesso em: 25 out. 2007.

HOLT, J. G. *et al.* **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 9.ed. Williams & Wilkims, 1994. 787 p.

HPA. 2005. <http://www.hpa.org.uk>. Acesso em 17 de outubro de 2006.

HUSS, H.H.; JERGENSEN, L.V.; VOGEL, B.F. Control options for *L. monocytogenes* in seafoods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.62, p.267-274, 2000.

JAY, J.M. Prevalence of *Listeria* spp. in meat and poultry products. **Food Control**, Guildford, v.7, p.209-214, 1996.

JAY, J.M. **Microbiologia dos alimentos**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 712p.

JACQUET, C.B. *et al.* Investigations related to the epidemic strain involved in French listeriosis outbreaks in 1992. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.61, p.2242-2246, 1995.

JOSEPH, B.; OTTA, K.K.; KARUNASAGAR, I. Biofilm formation by *Salmonella* sp. on food contact and their sensitivity to sanitizers. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.64, p.367-372, 2001.

KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v.65, p.1811-1829, 2002.

KHAMBATY, F.M.; BEBBET, R.W.; SHAH, D.B. Pulsed-field gel electrophoresis to the epidemiological characterization of *Staphylococcus Intermedius* implicated in a food-related outbreak. **Epidemiology and Infection**, New York, v. 113, p. 75-81, 1994.

KLOOS, W.E.; BANNERMAN, T.L. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: MURRAY,P.R. *et al.* **Manual of clinical microbiology**. 7.ed. Washington: American Society for Microbiology. chap. 16, p.264-282. 1999.

KONEMAM, E.W. *et al.* **Diagnóstico Microbiológico**. Medsi Editora Médica e Científica, 2001. 1466p.

KUSUMANINGRUM, H.D. *et al.* Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.85, p. 227-236, 2003.

LACONHA, I. *et al.* Genotypic characterization by PFGE of *Salmonella enterica* serotype enteritidis phage types 1,4,6, and 8 isolated from animal and human sources in three European countries, **Veterinary Microbiology**, v. 75, p. 155-165. 2000.

LECLERC, V. *et al.* Pathogens in meat and milk products: surveillance and impact in human health in France. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v.76, p.195-202, 2002.

LEITÃO, M.F.F. Microbiologia de alimentos. In: ROIMAN, L.R. TRAVASSOS, J.L., AZEVEDO. **Tratado de Microbiologia.**, São Paulo: Manole, 1988, p.30-75.

LOPALCO, P.L. *et al.* Epidemiologic study and cost analysis of an *Salmonella* Enteritidis epidemic. **Annali d'igiene**, v.12, p.279-285, 2000.

LUES, J.F.R.; TONDEN, I. van. The occurrence of indicator bacteria on hands and aprons of food handlers in the delicatessen sections of a retail group. **Food Control**, Guildford, v. 18, p. 326–332, 2007.

MAC FADDIN, J.F. **Biochemical test for identification of medical bacteria.** 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527p.

MEAD, P.S. *et al.* Food-related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v.5, p.607–625, 1999.

MICHAEL, G.B. *et al.* Comparison of different selective enrichment steps to isolate salmonella sp. from feces of finishing swine. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.34, p.138-142, 2003.

MUNIZ, C.R. *et al.* Observação microscópica de biofilmes em amostras de presuntos fatiados refrigerados comercializados em supermercados de Fortaleza, Ceará. *In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 3., E BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 9., 2007, Porto Seguro. Anais...* Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2007., p.97-98.

MÜRMAN L., SANTOS M.C., CARDOSO M. Prevalence and level of *Salmonella enterica* in pork fresh sausages purchased in southern Brazil. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM SALMONELLA AND SALMONELLOSIS, 13., 2006, Saint-Malo. Proceedings...* Saint-Malo, 2005. p. 443-444.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, D.M.S.; 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.

NOVAK, F.R. Ocorrência de *S. aureus* resistentes à meticilina em leite humano ordenhado. Tese (Doutorado em Microbiologia) – Instituto de Microbiologia Prof. Paulo de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1999.

OLIVEIRA, L.A.T. *et al.* Biofilme na indústria de alimentos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.20, n.141, p.33-35, 2006.

OLIVEIRA, S.J. **Microbiologia veterinária**. Guia Bacteriológico Prático. 2.ed. Canoas: Editora da Ulbra, 2000. 240p.

OPAS-OMS. 126ª Sessão do comitê executivo. Washington, 2000. Disponível em http://www.paho.org/portuguese/gov/ce/ce126_12.pdf. Acesso em 07/10/2005.

PENG, J.; TSAI, W.; CHOU, C. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.77, p.11-18, 2002.

PHILLIPS, E.; NASH, P. Culture media. *In*: LENNETTE, E.H. *et al.* (ed). **Manual of clinical microbiology**. 4.ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology, 1985. p. 1051-1092.

RADDI, M.S.G.; LEITE, C.Q.F.; MENDONÇA, C.P. *S. aureus*: portadores entre manipuladores de alimentos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.22, n.1, p. 36-40, 1988.

REIJ, M.W.; Den AANTREKKER, E.D. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. **Journal of Food Protection**, Des Maines, v.91, p.1-11, 2004.

RIBEIRO, A.C.; REIS, D.O.; ROSSI, D.A. Procedimento de higienização na redução do número de microrganismos das mãos de manipuladores, em uma indústria frigorífica. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.14, n.70, p.52-57, 2000.

ROBERTS, A.J.; WIEDMANN, M. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v.60, p.904-918. 2003.

RODRIGUES, K.L. *et al.* Condições higiênico-sanitárias no comércio de alimentos em Pelotas-RS. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.23, p.447-452, 2003.

RODRIGUES, K. L. *et al.* Intoxicação estafilocócica em restaurante institucional. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.1, p.297-299, 2004.

RYSER , E.T.; DONNELLY, C.W. *Listeria*. In: DOWNES, F.P.; ITO, K. (Eds). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4.ed. Washington: American Public Health Association, 2001. 63-67p.

SALVAT, G. *et al.* Control of *L. monocytogenes* in the delicatessen industries: the lesson of a listeriosis outbreak in France. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.25, p.75-81, 1995.

SALVATORI, R. U.; BESSA, M.C.; CARDOSO, M.R.I. Qualidade sanitária de embutidos coletados no mercado público central de Porto Alegre, RS. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.4, p.771-773, 2003.

SCHLECH, W.F. *et al.* Epidemic listeriosis evidence for transmission by food. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v.308, p.203-206, 1983.

SCHWARTZ, B. *et al.* Association of sporadic listeriosis with consumption of uncooked hot dogs and undercooked chicken. **Lacert ii**, p.779-782, 1988.

SEELIGER, H. P. R.; JONES, D. *Listeria*. In: SNEATH, P. H. A. (Coord.) **Bergey's Manual os Sistematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. 2v. p. 1235-1245.

SERGELIDIS, D. *et al.* Temperature distribution and prevalence of *Listeria* spp. in domestic, retail and industrial refrigerators in Greece. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.34, p.171-177, 1997.

SERIO, J. *et al.* Avaliação microbiológica de presuntos fatiados refrigerados comercializados em supermercados de Fortaleza, Ceará. *In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 3., E BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 9., 2007, Porto Seguro. Anais...* Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2007. p.100-101.

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. nov. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.70, n.5, p.2959-2965, 2004.

SHOJAEI, H.; SHOOSHTARIPOOR, J; AMIRI, M. Efficacy of simple hand-washing in reduction of microbial hand contamination of Iranian food handlers. **Food Research International**, v.39, p. 525-529, 2006.

SILVA, E. N. Roteiro de aula da disciplina de Tecnologia avançada de carnes e derivados: **Contaminação e deterioração da carne**. Campinas: UNICAMP, 1999. 9p.

SILVA, I.M.M. *et al.* Ocurrence of *Listeria* spp. In critical control points and the environment of Minas Frescal cheese processing. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.81; p. 241-248. 2003.

SILVA Jr, E. A. **Manual de controle higiênico-sanitário em alimentos**. São Paulo: Varela, 1996, 397p.

SILVA Jr. *et al.* **Fundamentos para diagnóstico e prevenção das toxinfecções na cozinha industrial**. São Paulo: Silus – Alimentação e serviços, 1990. 99p.

SILVA Jr. *et al.* Qualidade microbiológica de equipamentos, utensílios e manipuladores de uma indústria de processamento de carnes. **Revista Nacional da Carne**, São Paulo, n.326, p.10-14, 2004.

SILVA Jr, E.A.; MARTINS, E.A. Análise microbiológica em cozinhas industriais. **Higiene Alimentar**.São Paulo. v.5; n.17, p 20-24. 1991.

SILVA, M.C.D.; RAMALHO, L.S.; FIGUEIREDO, E.T. *Salmonella* sp. em ovos e carcaças de frango “in natura” comercializadas em Maceió, AL. **Higiene Alimentar**. São Paulo, v.18, n.121, p.80-84, 2004.

SILVA, N.J.; JUNQUEIRA, V.C.A.; SILVEIRA, N.F.A. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**, São paulo: Livraria Varela, 1997. 296p.

SILVA, P. S.; GANDRA, E.A. Estafilococos coagulase positiva: patógenos de importância em alimentos. **Revista Higiene Alimentar**, São Paulo, v.18, n.122, p.32-40, 2004.

SILVA, W.P. Caracterização fenotípica e genotípica de cepas de *S. aureus* isoladas de leite de vacas com mastite subclínica e de outras produtoras de leite. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.

SILVA, W.P. *et al.* *Listeria* spp. no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.3, p.911-916, 2004.

SIQUEIRA, R. S. **Manual de microbiologia dos alimentos**. Brasília: Embrapa, 1995. 159p.

SIRVETA – Sistema de información regional para la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos – INPAZZ – OPAS/OMS. Disponível em: <http://www.panalimentos.org/sirveta/e/report_eta01.asp>. Acesso em: 11 jan. 2007.

SOBESTIANSKY, J. *et al.* **Clínica e Patologia Suína**. Goiânia: Art 3, 1999. 464p.

SOTO, A.C. *et al.* Prevalencia de *S. aureus* en manipuladores de alimentos de una Universidad de la Región Metropolitana. **Revista Médica de Chile**, Santiago, v.124, p.1142-1146, 1996.

SOUZA, C.S. Uma guerra quase perdida. **Revista Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, v.23, p.27-35, 1998.

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

SUZUKI, Y.; SAITO, M.; ISHIKAWA, N. Restriction fragment length polymorphism analysis by pulsed-field gel eletrophoresis for discrimination os *Staphylococcus aureus* isolates from foodborne outbreaks. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.46, p.271-274, 1999.

TALAN, D.A. *et al.* Frequency of *Staphylococcus intermedius* as human nasofaryngeal flora. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.27, n.10, p.2393, 1989.

THEVENOT, D. *et al.* Prevalence of *L. monocytogenes* in 13 dried sausage processing and their products. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.102, p.189-200, 2005.

TOBIA, M. B.; MENGONI, G. B.; PELLON, H.S. *L. monocytogenes* y *Listeria* sp. en productos termoprocessados. **Revista Argentina de Microbiología**, Buenos Aires, v.29, p.109–113, 1997.

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

TONDO, E.C. *et al.* Assessing and analysing contamination of dairy products processing plant by *S. aureus* using antibiotic resistance and PFGE. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v.46, p.136-142, 2000.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Introducion a la Microbiologia**. 3 ed. Zaragoza: Acribia, 1993. 792 p.

TSUJI, H. *et al.* An outbreak of enterohemorrhagic *E. coli* O157 caused by ingestion of contaminated beef fat grilled meat-restaurant chain stores in the Kinki District in Japan: epidemiological analysis by pulsed-field gel electrophoresis. **Japanese Journal Infectious Disease**, Tokio, v.55, p. 91-92, 2002.

UYTTENDAELE, M.; DE TROY, P.; DEBEVERE, J. Incidence of *L. monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.53, p.75-80, 1999.

VAN DEN BERGH, M.F.Q.. *et al.* Follow-up of *S. aureus* nasal carriage after 8 years: defining the persistent carrier state. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.10, p.3133-3140, 1999.

VIALTA, A.; MORENO, I.; VALLE, J.L.E. Boas práticas de fabricação, higienização e análise de perigos e pontos críticos de controle na indústria de laticínios: 1- queijão. **Revista Indústria de Laticínios**, p.56-63. 2002.

WEGENER, H.C.; BAGER, F. Pork as a source of human salmonellosis. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON EPIDEMIOLOGY AND CONTROL OF SALMONELLA IN PORK, 2., 1997. Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: [s.n.], 1997. p.3-8.

WILCOCK, B. P.; SCHWARTZ, K. J.; Salmonellosis. In LEMAN, A. D. *et al.* **Diseases of Swine**, 7. ed. Ames: Iowa, 1993. p.570-583.

WILKS, S.A.; MICHELS, H.T.; KEEVIL, C.W. Survival of *L. monocytogenes* Scott A on metal surfaces: Implications for cross-contamination. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.111, p.93-98, 2006.

WHO (World Health Organisation), 2002. **Foodborne diseases, emerging**. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs124/en/print.html>. Acessado em dezembro de 2006.

WHO (World Health Organisation), 2005. **Drug-resistant Salmonella**. Disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/print.html>. Acessado em dezembro de 2006.

YOKOTA, I.T.C. *et al.* Pesquisa de *L. monocytogenes* em produtos cárneos comercializados no Distrito Federal, Brasil. **In: CONGRESSO LATINOAMERICANO, 3., E BRASILEIRO DE HIGIENISTAS DE ALIMENTOS, 9., 2007, Porto Seguro. Anais...** Porto Seguro: Sociedade Brasileira de Higienistas de Alimentos, 2007. p.186-187.

ZHANG, W.; BHUSHAN, M.J.; STEPHEN, J.K. Multi-virulence-locus sequence typing of *L. monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v.70, n.2, p.913-920, 2004.

ZHAO, C. *et al.* Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork and beef from the greater Washington, D.C. area. **Applied and Environmental Microbiology**. Washington, v.67, n.12, p.5431-5436, 2001.

Anexo I

Resultados obtidos na avaliação do estabelecimento A

Coleta	Coliformes Totais	Log(10)	Coliformes Termorolerantes	<i>E. coli</i>	Estafilococos coag. +	Log(10)	<i>Listeria sp.</i>
1	7.150.000	6,85	0		0		
1	287.555	5,46	0		0		
1	10.000	4,00	0		0		
1	7.000	3,85	0		0		
1	129.500	5,11	0		0		
2	5.100.000	6,71	0		0		
2	5.550.000	6,74	0		0		
2	4.500.000	6,65	0		0		P
2	23.400.000	7,37	0		0		
2	5.600.000	6,75	0		0		
3	15.000.000	7,18	0		0		
3	16.000.000	7,20	0		0		
3	18.000.000	7,26	0		0		
3	10.000.000	7,00	0		0		
3	13.400.000	7,13	0		0		
4	1.980.000	6,30	0		0		
4	760.000	5,88	0		0		
4	1.950.000	6,29	0		0		P
4	300.000	5,48	0		0		
4	1.865.000	6,27	0		0		
5	250.000	5,40	0		0		
5	330.000	5,52	0		0		
5	310.000	5,49	0		0		
5	202.000	5,31	0		0		
5	179.000	5,25	0		0		
6	720.000	5,86	0		0		
6	825.000	5,92	0		0		
6	740.000	5,87	0		0		P
6	600.000	5,78	0		0		
6	830.000	5,92	0		0		
7	1.290.000	6,11	0		0		
7	1.110.000	6,05	1.110.000		0		
7	1.260.000	6,10	0		0		P
7	8.000.000	6,90	8.000.000	P	16.100.000	7,21	
7	7.600.000	6,88	0		0		
8	3.000.000	6,48	0		0		
8	3.850.000	6,59	0		0		
8	27.900.000	7,45	0		0		
8	6.400.000	6,81	0		0		
8	6.300.000	6,80	0		0		
9	30.000	4,48	0		0		
9	23.000	4,36	0		0		
9	24.000	4,38	0		0		
9	158.000	5,20	0		0		
9	21.000	4,32	0		0		
10	39.000	4,59	0		0		
10	1.800.000	6,26	0		0		
10	2.170.000	6,34	0		760.000	5,88	
10	1.500.000	6,18	0		300.000	5,48	
10	234.000	5,37	0		0		

Continuação Anexo I
Resultados obtidos na avaliação do estabelecimento A

Coleta	Coliformes Totais	Log(10)	Coliformes Termotolerantes	<i>E. coli</i>	Estafilococos coag. +	Log(10)	<i>Listeria sp.</i>
11	66.000	4,82	0		0		
11	100.000	5,00	0		0		
11	207.000	5,32	0		0		
11	151.500	5,18	151.500		0		
11	80.000	4,90	0		0		
12	1.195.000	6,08	0		0		
12	460.000	5,66	0		0		
12	1.340.000	6,13	0		0		P
12	290.000	5,46	0		0		
12	Ausente		0		480.000	5,68	
13	40.500	4,61	0		330.000	0,00	
13	51.500	4,71	0		0		
13	800.000	5,90	0		0		
13	30.000	4,48	30.000	P	0		
13	700.000	5,85	0		0		
14	520.000	5,72	0		0		
14	376.000	5,58	0		0		
14	492.000	5,69	0		0		
14	810.000	5,91	0		0		
14	135.500	5,13	0		0		
15	91.000	4,96	0		0		
15	133.000	5,12	0		0		
15	187.000	5,27	0		890.000	5,95	
15	128.000	5,11	0		0		
15	89.000	4,95	0		0		
16	20.000	4,30	0		0		
16	36.000	4,56	0		0		
16	48.000	4,68	0		0		
16	23.000	4,36	0		0		
16	38.000	4,58	0		0		
17	1.170.000	6,07	0		0		
17	1.350.000	6,13	0		0		
17	1.500.000	6,18	0		265.000	5,42	P
17	1.300.000	6,11	0		795.000	5,90	
17	1.270.000	6,10	0		875.000	5,94	
18	73.000	4,86	0		0		
18	180.000	5,26	180.000	P	0		
18	137.500	5,14	0		0		P
18	72.000	4,86	0		0		
18	94.000	4,97	0		0		
19	98.000	4,99	0		0		
19	67.000	4,83	0		0		
19	93.000	4,97	0		0		
19	89.000	4,95	0		0		
19	58.000	4,76	0		0		
20	260.000	5,41	0		200.000	5,30	
20	Ausente		0		150.000	5,18	
20	190.000	5,28	0		0		
20	475.000	5,68	475.000		0		
20	150.000	5,18	0		0		

Continuação Anexo I
Resultados obtidos na avaliação do estabelecimento B

Coleta	Coliformes Totais	Log(10)	Coliformes Termotolerantes	<i>E. coli</i>	Estafilococos coag. +	Log(10)	<i>Listeria sp.</i>
11	0				0		
11	0				0		
11	0				0		
11	0				5.100	3,71	
11	0				0		
12	0				0		
12	0				0		
12	0				0		
12	0				0		
12	0				0		
13	0				0		
13	5.350	3,73			0		
13	0				0		P
13	3.000	3,48			0		
13	6.200	3,79			0		
14	0				10.300	4,01	
14	2.500	3,40			5.100	3,71	
14	4.550	3,66			0		
14	8.750	3,94			0		
14	11.920	4,08			12.200	4,09	
15	0				0		
15	315	2,50			0		
15	0				0		P
15	0				0		
15	0				0		
16	280	2,45			261.000	5,42	
16	0				140.000	5,15	
16	0				250.000	5,40	
16	215	2,33			180.000	5,26	
16	0				240.000	5,38	
17	3.300	3,52			0		
17	2.600	3,41			440	2,64	
17	1.800	3,26			240	2,38	P
17	7.000	3,85			0		
17	3.700	3,57			0		
18	0				0		
18	0				0		
18	0				0		
18	0				0		
18	0				0		
19	330	2,52			0		
19	700	2,85			0		
19	1.110	3,05			0		
19	800	2,90			0		
19	900	2,95			0		
20	0				2.300	3,36	
20	0				2.000	3,30	
20	275	2,44			1.450	3,16	
20	1.385	3,07	1.385		0		
20	675	2,83			0		

Continuação Anexo I
Resultados obtidos na avaliação do estabelecimento C

Coleta	Coliformes Totais	Log(10)	Coliformes Termotolerantes	E. coli	Estafilococos coag.+	Log(10)	<i>Listeria sp.</i>
1	760	2,88			0		
1	256	2,41			0		
1	124	2,09			0		
1	365	2,56			0		
1	756	2,88			0		
2	1.820	3,26	1820		0		
2	410	2,61	410		0		
2	2.780	3,44			0		P
2	1.240	3,09			0		
2	945	2,98	945		0		
3	4.800	3,68			0		
3	4.450	3,65			0		
3	3.300	3,52			0		
3	1.745	3,24	1.745	P	0		
3	26.000	4,41			0		
4	0				0		
4	37.500	4,57			0		
4	405	2,61			1.700	3,23	P
4	0				0		
4	0	2,28			0		
5	55.500	4,74			0		
5	105.500	5,02			0		
5	2.200	3,34			0		
5	3.450	3,54			5.000	3,70	
5	4.550	3,66			0		
6	13.450	4,13			95.000	4,98	
6	2.600	3,41			0		
6	0				0		P
6	13.200	4,12			0		
6	2.600	3,41			0		
7	99.000	5,00	99.000		0		
7	288.000	5,46	288.000		0		
7	141.000	5,15	141.000		0		
7	22.000	4,34	22.000		0		
7	58.500	4,77	58.500	P	0		
8	149.000	5,17			570.000	5,76	
8	0				0		
8	0				0		P
8	0				0		
8	0				0		
9	0				0		
9	0				0		
9	0				0		
9	0				0		
9	0				0		
9	0				0		
10	0				0		
10	0				0		
10	0				0		
10	0				0		
10	4.500	3,65			0		

Continuação Anexo I
Resultados obtidos na avaliação do estabelecimento C

Coleta	Coliformes Totais	Log(10)	Coliformes Termotolerantes	<i>E. coli</i>	Estafilococos coag. +	Log(10)	<i>Listeria sp.</i>
11	2.850	3,45			0		
11	1.550	3,19			0		
11	3.500	3,54			0		
11	1.650	3,22			0		
11	7.350	3,87			0		
12	0				1.150	3,06	
12	0				0		
12	0				0		
12	0				0		
12	0				0		
13	13.000	4,11			0		
13	11.200	4,05			0		
13	2.000	3,30			0		
13	8.700	3,94			0		
13	12.450	4,10			4.950	3,69	
14	0				6.800	3,83	
14	0				0		
14	0				13.000	4,11	
14	0				0		
14	0				10.200	4,01	
15	9.300	3,97			9.300	3,97	
15	12.700	4,10			20.000	4,30	
15	8.750	3,94			0		
15	11.450	4,06			7.700	3,89	
15	8.300	3,92			0		
16	1.170	3,07			0		
16	510	2,71			0		
16	555	2,74	555	P	0		
16	620	2,79			0		
16	695	2,84			0		
17	515	2,71			2.850	3,45	
17	40	1,60			3.500	3,54	
17	32	1,51			0		
17	42	1,62			5.150	3,71	
17	63	1,80			4.350	3,64	
18	5.250	3,72			0		
18	9.800	3,99			0		
18	3.450	3,54	3.450		0		P
18	3.300	3,52			0		
18	0				0		
19	0				0		
19	0				0		
19	0				0		
19	0				0		
19	0				0		
20	4.050	3,61			54.500	4,74	
20	2.700	3,43			32.000	4,51	
20	1.200	3,08			23.000	4,36	
20	4.100	3,61			72.000	4,86	
20	1.975	3,30			64.000	4,81	

Anexo II

Resultados obtidos na avaliação de apresuntados de indústria com SIF

Coleta	Coliformes Totais	Log (10)	Coliformes Termotolerantes	Estafilococos coag. +	Log (10)	Listeria sp.	Salmonella sp.
1	0			0			
1	0			0			
1	0			0			
1	0			0			
1	0			0			
2	0			0			
2	22	1,34		3.000	3,48		
2	0			0			P
2	89	1,95		850	2,93		
2	120	2,08		980	2,99		
3	0			0			
3	0			0			
3	0			0			
3	0			0			
3	0			0			
4	0			0			
4	0			0			
4	260	2,41		1.500	3,18		P
4	98	1,99		680	2,83		
4	0			3.500	3,54		
5	0			0			
5	0			0			
5	0			0			
5	0			0			
5	0			0			
6	89	1,95		0			
6	156	2,19		0			
6	0			1.200	3,08		
6	0			0			
6	0			0			

Continuação do Anexo II
 Resultados obtidos na avaliação de apresuntados de indústria com CISPOA

Coleta	Coliformes Totais	Log (10)	Coliformes Termotolerantes	Estafilococos coag. +	Log (10)	<i>Listeria sp.</i>	<i>Salmonella sp.</i>
1	0			1.305	3,12		
1	850	2,93		1.350	3,13		
1	980	2,99		3.520	3,55	P	
1	1.170	3,07		0			
1	0			0			
2	0			0			
2	0			5.300	3,72		
2	0			0			
2	515	2,71		1.500	3,18		
2	0			0			
3	962	2,98		3.560	3,55		
3	0		4100	0			
3	82	1,91		220	2,34		
3	63	1,80		185	2,27		
4	250	2,40		0			
4	300	2,48		0			
4	0			0			
4	120	2,08		0			
4	0			3500	3,54		
5	0			365	2,56		
5	3.450	3,54		280	2,45		
5	0			0			
5	3.000	3,48		3350	3,53		
5	0			0			

Anexo III

Agar P

Peptona	10g
Extrato de levedura	5g
Cloridrato de sódio	5g
Glicose	1g
Agar	15g
Água destilada	1L

pH final 7,5 (antes de autoclavar)

Autoclavar a 121°C por 15 min.

Catálogo na Publicação
UFRGS/ICBS/Biblioteca Setorial

M922a	Mottin, Vanessa Daniele Avaliação microbiológica de apresuntados, fatiados e comercializados em supermercados de Porto Alegre, RS / Vanessa Daniele Mottin. – 2008.
em	
Mi-	Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Instituto de Ciências Básicas da Saúde. Programa de Pós-Graduação em microbiologia Agrícola e do Ambiente. Porto Alegre, BR-RS, 2008.
Apresun-	Orientação: Profa. Marisa Ribeiro de Itapema Cardoso 1. Microbiologia de alimentos. 2. Contaminação de alimentos. 3. tados. 4. Fiambres. 5. Higienização. 6. Supermercados. Porto Alegre (RS) I. Cardoso, Marisa Ribeiro de Itapema, orient. II. Título.
	CDU
579.68(043)	