



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - UNB
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

PRINCIPAIS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ALIMENTOS
(Uma revisão)

Isiane Souza Camargo
Orientador(a): Prof. Dra. Angela Patrícia Santana

BRASÍLIA - DF
NOVEMBRO/2018



ISIANE SOUZA CAMARGO

**PRINCIPAIS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ALIMENTOS
(Uma revisão)**

Trabalho de conclusão de curso de
graduação em Medicina Veterinária
apresentado junto à Faculdade de
Agronomia e Medicina Veterinária da
Universidade de Brasília.

Orientador(a): Prof. Dra. Ângela Patrícia Santana

BRASÍLIA - DF
NOVEMBRO/2018

Camargo, Isiane Souza

Principais Análises Microbiológicas de Alimentos / Isiane Souza Camargo;
orientadora Angela Patrícia Santana. – Brasília, 2018. 40p.

Monografia de Graduação (G) – Universidade de Brasília / Faculdade de Medicina
Veterinária, 2018.

1. Microbiologia alimentar 2. Segurança Alimentar 3. Doenças transmitidas por
alimentos 4. Análise de alimentos

Cessão de Direitos (obrigatória)

Nome do Autor: Isiane Souza Camargo

Título da Monografia de Conclusão de Curso: Principais Análises Microbiológicas de
Alimentos

Ano: 2018

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta monografia e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva-se a outros direitos de publicação e nenhuma parte desta monografia pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

ISIANE SOUZA CAMARGO

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome do Autor: CAMARGO, ISIANE SOUZA

Título: Principais Análises Microbiológicas de Alimentos

Monografia apresentada para a conclusão do Curso de Medicina Veterinária da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Profª Drª Ângela Patrícia Santana

Julgamento: _____

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: _____

Profª Margareti Medeiros

Julgamento: _____

Instituição:

Assinatura: _____

Profª Drª Simone Perecmanis

Julgamento: _____

Instituição: Universidade de Brasília

Assinatura: _____

“Nothing in life is to be feared, it is only to be understood. Now is the time to understand more, so that we may fear less”

Marie Curie

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer primeiramente aos meus pais, Inolávena e Maurício, por darem o suporte necessário durante toda minha educação. Sem medir esforços para que eu tenha um futuro brilhante.

Aos professores da FAV (Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária), por todo aprendizado compartilhado com nós alunos e todo empenho para termos uma educação de qualidade e sem lacunas.

À minha orientadora Ângela Patrícia, por ser tão dedicada e sempre estar disposta a ajudar os alunos e lhes dar oportunidades de aprendizado.

Aos meus colegas do LAMAL, Emília, Hayanna e Virgílio por serem sempre pacientes e me ajudarem durante o meu estágio obrigatório com todas dúvidas possíveis.

Ao Igor e a equipe da Betel/Makro por me proporcionarem a experiência de por em prática meu aprendizado também fora da universidade.

Aos meus amigos e ao João, por sempre acreditarem no meu potencial, por sempre me darem um ombro quando eu preciso e pela companhia em dias difíceis.

E aos meus animais de estimação: Marley, Beija, Tayla e Tiffany, por serem a inspiração para essa profissão tão linda.

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	1
2 – REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 – PRINCIPAIS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ALIMENTOS.....	3
2.2 – USO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS NO BRASIL.....	4
2.3 – MICRORGANISMOS DE INTERESSE EM ALIMENTOS DESTINADOS AO CONSUMO HUMANO	
2.3.1 <i>Bacillus cereus</i>	4
2.3.2 <i>Clostridium</i> sulfito redutores.....	7
2.3.3 Coliformes em alimentos.....	10
2.3.4 <i>Listeria monocytogenes</i> em alimentos.....	12
2.3.5 Aeróbios Mesófilos.....	14
2.3.6 <i>Salmonella spp.</i>	16
2.3.7 <i>Staphylococcus coagulase positiva</i>	19
3 – CONCLUSÃO	25
4 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26

RESUMO

Devido ao enorme número de bactérias causadoras de doenças transmitidas por alimentos é de suma importância a detecção e contagem das mesmas para garantir um alimento seguro ao público ou detectar causas de infecções alimentares. O presente trabalho faz uma revisão sobre o uso das análises microbiológicas de alimentos e os principais microrganismos de interesse em alimentos (indicadores e patogênicos), focando em suas características, e formas de diagnóstico.

Palavras chaves: Microbiologia alimentar, Segurança alimentar, Doenças transmitidas por alimentos, Análise de alimentos

ABSTRACT

Due to the huge number of bacteria that could cause foodborne illness, the count and detection of the foe is highly important in order to ensure that a food is safe for the general public to consume and to detect causes of food poisonings. This paper makes a literature review about the use of microbiological analysis of food and the main microorganisms of interest in food (indicators and pathogen), focusing in their characteristics and forms of diagnosis.

Key words: Food microbiology, Food safety, Foodborne illness, Food analysis

1 - INTRODUÇÃO

Várias organizações mundiais vêm se preocupando com a qualidade e sanidade alimentar há um longo período de tempo e isso pode ser percebido com a criação do CODEX ALIMENTARIUS INTERNACIONAL pela FAO (Food and Agriculture Organization) juntamente com a OMS (Organização Mundial de Saúde) no ano de 1963, precedido por outros códigos regionais como o Codex Alimentarius Europaeus estabelecido em 1958 (FAO, 2018).

Segundo a FAO (2018), um dos objetivos do Codex é preservar a saúde do consumidor, servindo inclusive como referência para auxiliar a legislação de vários países.

No Brasil o controle de segurança alimentar é regido pelo Ministério da Saúde, mais precisamente pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) e também pelo MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento), como fica claro no decreto lei número 986, de 21 de outubro de 1969, no 6437, de 20 de agosto de 1977, a lei 7889, de 23 de novembro de 1989.

O MAPA faz o controle da produção dos alimentos nas propriedades rurais e na indústria (BRASIL, 1989). É de sua competência e de suas secretarias a fiscalização de estabelecimentos industriais e propriedades rurais com matança de animais, preparo ou industrialização de produtos, entrepostos de produtos de origem animal, usinas de leite, fábrica de laticínios, de pescados e de derivados de origem animal, propriedades rurais (BRASIL, 1989). Já a ANVISA é um órgão que tem a função de proteger a saúde populacional por meio da promoção da vigilância sanitária de produtos, insumos, ambientes, processos e o controle de portos e aeroportos (ANVISA, 2018). Uma de suas competências é fiscalizar os produtos nos estabelecimentos atacadistas e varejistas (BRASIL, 1989).

Desta forma a competência de ambos os órgãos é prevenir e controlar as doenças transmitidas por alimentos, essas por sua vez podem ser causadas por uma diversidade de contaminantes químicos, biológicos e físicos (AFONSO, 2006; FORSYTHE, 2013).

O controle da qualidade microbiológica dos alimentos destinados ao consumo humano visa avaliar as condições de processamento, armazenamento e transporte do produto, sua vida útil e também os riscos à saúde da população, oferecendo segurança ao consumidor (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Segundo Franco e Landgraf (2005) nesse controle são realizadas análises microbiológicas que servem para realizar o monitoramento durante toda cadeia produtiva e no produto final, avaliando a presença de microrganismos patogênicos que podem ocorrer no armazenamento ou manuseio.

No Brasil os parâmetros microbiológicos das análises são definidos pela ANVISA (RDC 12, de 2 de janeiro 2001) e MAPA por meio de portarias, de instruções normativas diversas e programas, em diversos alimentos, (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2017), como os Programas nacionais de controle de patógenos. Os PNCP (Programas Nacionais de Controle de Patógenos) foram criados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, como por exemplo os que tratam de *Listeria monocytogenes* em produtos de origem animal prontos para consumo (Instrução Normativa No 9, 8 de abril de 2009), *Salmonella spp.* em frangos, galinhas e perus de corte e reprodução (Instrução Normativa No 20, 21 de outubro de 2016) e *Escherichia coli* e *Salmonella spp.* em carnes bovinas in natura (Norma Interna DIPOA No 1, 17 de julho de 2015), dentre outros.

Já os parâmetros microbiológicos de alimentos para o consumo humano, de acordo com a ANVISA, são estabelecidos pela RDC 12 de 2001, que determina os critérios para análise, que são: os microrganismos de interesse sanitário, a classificação dos alimentos segundo risco epidemiológico, métodos de detecção de microrganismos e planos de amostragem (Brasil,2001)

Esse trabalho visa realizar uma revisão a respeito das principais análises microbiológicas de alimentos destinados ao consumo humano e evidenciar as principais bactérias patogênicas transmitidas por esses alimentos e sua importância para a Saúde Pública.

2.1 PRINCIPAIS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DE ALIMENTOS

Segundo o CDC (Centro de Controle de Doenças e Prevenção) em 2018, existem mais de 250 doenças transmitidas por alimentos identificadas, a maioria causada por microrganismos (vírus, bactérias e parasitos), além disso estima que mundialmente, 48 milhões de pessoas ficam doentes devido a alimentos contaminados por ano (CDC, 2018).

Nos Estados Unidos, o ranking dos 5 agentes que mais causam doenças veiculadas por alimentos são: Norovírus, *Salmonella spp.*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter* e *Staphylococcus aureus*. E os mais causadores de internação hospitalar são: *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Vibrio* (CDC, 2018). Alguns alimentos já estão contaminadas anterior ao preparo e outras após o manuseio (CDC,2018).

Os tipos de microrganismos que devem ser pesquisados em alimentos, segundo Franco e Landgraf (2005) são:

- Deteriorantes, que causam danos aos alimentos, como fungos e aeróbicos mesófilos
- Indicadores, que causam riscos indiretos à saúde humana, indicam condições precárias higiênico-sanitária ou a presença de outros microrganismos potencialmente perigosos à saúde e que são difíceis de detectar;
- Patogênicos, os quais oferecem risco direto à saúde dos consumidores. Seja pela ação de suas suas toxinas ou pela ação da própria bactéria. Como, por exemplo, *Bacillus cereus*, *Salmonella spp.*, *Staphylococcus aureus*.

Franco e Landgraf (2005) também afirmam, que para as análises serem eficientes, devem ser seguidos parâmetros e normas presentes nas leis vigentes nos países e que essas usam como referência o CODEX ALIMENTARIUS e outros estudos notórios na área.

Esses métodos de análises para determinar os microrganismos, são divididos em convencionais e rápidos. Os convencionais são mais antigos e são empregados na maioria dos laboratórios como método oficial e seguem publicações consideradas como referência na área. Já os rápidos surgiram, posteriormente, baseados em estudos comprovados, para agilizar o processo e aumentar a produtividade laboratorial (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

2.2 USO DAS ANÁLISES MICROBIOLÓGICAS DOS ALIMENTOS NO BRASIL

O uso das análises microbiológicas alimentares no Brasil serve como um dos parâmetros para determinar a qualidade alimentar, à partir de avaliações que permitem saber a ausência ou presença de um microrganismo, contagem de microrganismos presentes e identificação (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Ainda segundo esses mesmos autores, a partir dessas informações, permite se saber sobre condições de processamento, depósito, transporte, tempo de prateleira, possíveis perigos à saúde do consumidor e também para saber se o alimento se encontra dentro dos parâmetros microbiológicos legais para o comércio nacional ou para exportação.

Uma das importâncias do seu uso é para identificação do alimento e dos microrganismos responsáveis por um surto de toxinfecção alimentar (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Por exemplo, identificando os principais agentes etiológicos em surtos alimentares ocorridos no Brasil entre 2007 e 2017 e esses foram: *Bacillus cereus*, *Clostridium* sulfitos redutores, coliformes termotolerantes, *Listeria monocytogenes*, mesófilos, *Staphylococcus* termotolerantes e *Salmonella spp*, sendo 95,9%, essas bactérias, segundo o Ministério da Saúde (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

No Brasil, os microrganismos a serem avaliados são definidos de acordo com a ANVISA e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Essas instituições levam em conta os microrganismos e toxinas de interesse sanitário, riscos epidemiológicos, referências de normas e padrões internacionais, outros critérios desde que tenham evidências científicas para justificar (BRASIL, 2001).

2.3 - Microrganismos de interesse em alimentos destinados ao consumo humano

2.3.1 - *Bacillus cereus*

Bacillus cereus é uma bactéria patogênica pertencente ao gênero *Bacillus*, que tem como característica ser anaeróbica facultativa, hemolítica, móvel,

gram positiva, ter forma de bastonete e produzir esporos e é comumente isolada em subprodutos de origem animal (STEWART E THOMSON, 2016).

Seus esporos são resistentes a altas temperaturas e alguns sanitizantes, permitindo que possa ser encontrado inclusive em alimentos cozidos (DE PAIVA et al., 2009). Estes autores também citam uma gama extensa de alimentos que podem estar contaminados com a bactéria ou os esporos, como arroz, creme pasteurizado, macarrão, purê de batata, carne moída, vegetais, leite, entre outros.

Para um alimento ser considerado impróprio para consumo deve ter uma quantidade maior que um número específico, descrito na RDC 12, e que varia conforme o alimento (BRASIL,2001).

O *B. cereus* causa um risco para saúde pública, podendo o infectado desenvolver síndrome emética ou diarreica (DIERICK, 2005). Os sintomas são diversos e dependem do tipo de infecção contraída, entre eles: náusea, dor abdominal, diarreia e vômito. No tipo emético, a toxina cereulide é produzida, essa é citotóxica, pode causar falência hepática e até óbitos (MAHLER et al., 1997 e DIERICK, 2005).

Para prevenção da infecção, o ideal é armazenar o alimento de forma adequada, deixando menos tempo possível fora do refrigerador e que esse esteja em temperatura adequada, evitando que ocorra um crescimento exagerado das bactérias e germinação dos esporos, pois a toxina pode não ser inativada em altas temperaturas (MAHLER et al.,1997).

O *Bacillus cereus* ocorre no mundo inteiro, entre esses relatos, Messelhäusser et al. (2014) fizeram um levantamento sobre *Bacillus cereus* causador de síndrome emética na Bavária (Alemanha), entre os anos de 2007 a 2013, fazendo análise alimentares, posterior aos sintomas de infecção com vômito e comprovando que o *B. cereus* pode ser encontrado em uma gama extensa de alimentos como: arroz ($2,8 \times 10^4$ UFC/g), carne de porco com batatas ($1,0 \times 10^2$ UFC/g), carne defumada ($1,0 \times 10^2$ UFC/g), macarrão ($3,8 \times 10^5$ UFC/g; $6,810^6$ UFC/g), cogumelos ($1,9 \times 10^7$ UFC/g), entre outros.

Schmid et al. (2013) descreveram três surtos alimentares causados pela espécie durante o ano na Áustria, os pacientes em todos os casos tiveram vômito ou diarreia, 24 horas ou mais após consumirem as refeições. No primeiro caso, 14 pessoas foram infectadas em um hotel, o provável alimento foi um purê de batatas, que após avaliado foi encontrada uma grande quantidade de *B. cereus* $2,1 \times 10^5$ e

$3,4 \times 10^5$ ufc/g. No segundo caso, 14 empregados de uma companhia sofreram o surto de intoxicação alimentar, todos alimentos testados (pó para sopa, cozido de porco, molho para saladas e salsa) possuíam apenas *B. cereus*, sendo no pó para sopa a maior quantidade, 10000 UFC/g, a perícia concluiu que a limpeza e o armazenamento eram inadequados, permitindo a multiplicação do patógeno. No terceiro caso, 106 pacientes de uma clínica manifestaram sintomas, as análises alimentares mostraram que o *Bacillus cereus* enterotoxigênico estava presente na salada de frutas, no guisado de cervo, no creme de espinafre, no leite de morango, as autoridades encontraram falhas no estoque de comidas cruas e cozidas.

Forero et al. (2018), fizeram um estudo sobre *Bacillus cereus* e sua toxina diarréica em arroz e alimentos prontos para consumo a base de farinha, féculas, cereais em restaurantes escolares na Colômbia. Em 17% dos estabelecimentos foi encontrado o patógeno, em um total de 9% das amostras, sendo que 91% dos positivos, possuíam a toxina diarréica.

No Brasil, inúmeros casos foram relatados, entre eles o de Passos et al. (2012) em que elucidaram um surto de toxinfecção alimentar, na região do Vale do Ribeira (SP), onde 9 pacientes apresentaram colite, dor abdominal, vômito e sudorese. Foi encontrado mais de um agente etiológico, sendo $2,0 \times 10^7$ UFC/g do microrganismo *Bacillus cereus*, em um prato composto por arroz branco e panquecas de frango.

Hashiya et al. (2015), determinaram a presença de *Bacillus cereus* em 20% de amostras de requeijão e especialidades lácteas analisadas de supermercados do município de Jaboticabal (SP), sendo a maior 4×10^1 UFC/g, dentro do parâmetros de acordo com legislação vigente, porém caso não fossem refrigeradas adequadamente durante o armazenamento, ofereceriam risco à saúde pública pela multiplicação das mesmas.

Nunes et al. (2017), descreveram um surto alimentar ocorrido em 2012 na região do ABC Paulista, pelo consumo principalmente de um bolo de coco, gerando na maioria dos infectados sintomas de diarréia, náusea, cólica, febre, além disso foi registrado também insuficiência renal, parada cardiorrespiratória e um óbito. Algumas pessoas com os sintomas não consumiram o bolo, indicando uma contaminação cruzada, visto que outros alimentos haviam sido preparados no mesmo ambiente. Entre as bactérias encontradas no alimento, estava presente o

Bacillus cereus $1,5 \times 10^5$ UFC/g, quantidade acima da permitida, apesar da cocção os esporos resistem às altas temperaturas.

2.2.2 – *Clostridium* sulfito redutores

O gênero *Clostridium* é caracterizado por possuir bactérias anaeróbicas, em formato de bastonete, gram positivos, que formam esporos e produzem toxinas (PRESCOT, 2016). Os clostrídios sulfito redutores são os que reduzem sulfito em sulfeto de hidrogênio a 46°C , tal qual o *Clostridium perfringens* (SILVA et al., 2007).

Segundo Cerezer et al. (2008) o *Clostridium botulinum* em alimentos causa o botulismo alimentar, devido a ingestão de sua toxina nos alimentos. Ele está associado, em adultos, ao consumo de conservas e embutidos caseiros, os quais podem não ter passado adequadamente por tratamento térmico. Já o botulismo em crianças menores que 2 anos, é associado ao consumo de mel contaminado com os esporos da bactéria que germinam e produzem toxinas no próprio intestino devido à falta de fauna bacteriana competitiva.

Além disso, o mesmo autor afirma que em 2008 o botulismo foi uma emergência médica caracterizada por manifestações neurológicas e que tem um elevado nível de mortalidade (30 a 65%). Suas toxinas agem nas junções neuromusculares, provocando paralisia motora, podendo paralisar os músculos respiratórios causando o óbito do paciente.

Existem diversas maneiras de prevenir o botulismo, na fabricação podem ser utilizados nitrito e nitrato como conservantes em produtos cárneos, microbiota competitivas, bacteriocinas e antibióticos, esses inibem o crescimento bacteriano e a germinação de esporos no alimento. Para destruição da neurotoxina, é recomendado a utilização de altas temperaturas, 80°C por 30 minutos ou 100°C por poucos minutos (FRANCO E LANDGRAF, 2005). O produto final deve ser preservado em temperatura de refrigeração e congelamento, e os alimentos enlatados estufados devem ser descartados (CERESER et al, 2008).

O *Clostridium perfringens* possui vários subtipos e todos produzem a toxina alfa que tem atividade hemolítica, e o subtipos A, C e D produzem enterotoxinas, sendo o A o mais encontrado em intoxicações alimentares. Ele tem alta atividade metabólica no alimento e tem capacidade de se multiplicar em altas temperaturas (máxima 51,7 °C) (FRANCO E LANDGRAF, 2005)

O *C. perfringens*, na natureza, está presente no solo, na água e no intestino humano e de animais, ele contamina alimentos devido a condições precárias de higiene. Os alimentos à base de carne são os mais envolvidos em toxinfecções alimentares causadas por esta bactéria, e a contaminação se dá no matadouro pelo próprio animal ou por manipulação inadequada (FORTUNATA E FRANCO, 2005).

Ainda segundo Fortunata e Franco (2005), os sintomas mais recorrentes do *Clostridium perfringens* são: diarreia e dor abdominal, porém o paciente pode apresentar: febre, vômito e náuseas.

Entre os relatos globais, Burker (2016), descreveu dois casos de botulismo causados por um pesto vendido na jarra na Califórnia (EUA), após duas mulheres serem hospitalizadas com sintomas neurológicos progressivos, ambas tinham dividido uma refeição que continha macarrão preparado com pesto. Após a hospitalização, foi feita a análise do alimento e detectado, pela técnica ELISA, a presença da toxina botulínica tipo B e a cultura detectou a presença de *Clostridium spp.* Uma investigação mais apurada descobriu que o pesto era vendido por uma empresa *online* e no *stand* da fazenda, e que nem a empresa, nem o fabricante possuíam permissão para o comércio do mesmo, além de haver uma prática que desconhecia questões de segurança alimentar, práticas inadequadas de acidificação e pressurização, e fatores críticos como: tempo, temperatura, pH não eram monitorados.

Chukwu et al. (2016) detectaram *C. perfringens* e *C. botulinum* em alimentos vendidos em Lagos (Nigéria), nos anos de 2014 a 2015, em que foram coletadas amostras de carne, produtos à base de leite, vegetais, enlatados e mel nos estabelecimentos comerciais da região. Segundo estes autores, 34% das amostras

de carne eram positivas para *Clostridium spp.*, sendo dessas positivas 64,7% *C. perfringens* e 5,9% *C. botulinum*. Os produtos à base de leite 4% eram positivos, sendo que desses 50% eram *C. perfringens* e 50% *C. botulinum*. Dos vegetais, 56% eram positivos para *Clostridium spp.* sendo que destes 50% eram *C. perfringens*. Do total de enlatados, 6% foram positivos para *Clostridium perfringens* e não foi encontrado *Clostridium spp.* no mel avaliado. Do total de 50 amostras positivas, 29 apresentaram *C. perfringens*, porém apenas, aproximadamente, 3,4% dos isolados investigados possuíam o gene que codifica a enterotoxina, capaz de tornar o alimento inapropriado para consumo.

Ameme et al. (2016) relataram um surto de infecção alimentar causado por *Clostridium perfringens* envolvendo 68 estudantes no sudeste de Gana que apresentavam dores abdominais, vômitos e diarreia. Todos envolvidos haviam comprado refeições no mesmo local e após as análises foi detectado contaminação na água com *C. perfringens*, sendo considerado o agente mais provável das infecções.

Já no Brasil, Ragazini et al. (2008) fizeram um estudo sobre o mel comercializado em 6 estados brasileiros (São Paulo, Mato Grosso, Minas Gerais, Goiás, Santa Catarina e Ceará), entre os anos de 2002 e 2003, e um total de 61% das amostras analisadas apresentavam bactérias esporuladas, dessas 11% eram clostrídios sulfito redutores, sendo o mais encontrado *Clostridium botulinum* (7%).

Rossi e Bampi (2015) avaliaram a qualidade de produtos de origem animal tais como leite, carne e ovos, comercializados no oeste de Santa Catarina. Das amostras de derivados de carne, 2,5% apresentavam o nível de clostrídios sulfito redutores superiores aos estabelecidos pela RDC número 12 de 2001 da Anvisa. Sendo 7 linguiças (limite de 3×10^3 UFC/g) e 1 salame (limite de 10^3 UFC/g).

Entre as bactérias encontradas no surto de toxinfecção alimentar ocorrido no Vale do Ribeira (SP), descrito por Passos et al. (2012), foi isolado *Clostridium perfringens* ($5,0 \times 10^4$ UFC/g) em panquecas de frango com arroz, além de outros microrganismos patogênicos acima do limite permitido. Segundo os autores, essa contaminação dos alimentos, por mais de um agente, é comum quando as condições higiênico-sanitárias são insatisfatórias e quando o alimento é manipulado por diversas pessoas.

2.2.3 – Coliformes em alimentos

O grupo coliformes é caracterizado pela presença de bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas, gram negativas, na forma de bastonetes, não esporuladas, capazes de fermentar lactose formando gás, no prazo de 24 a 48 horas, na temperatura de 35 °C a 37 °C, nos coliformes estão presente os gêneros: *Escherichia*, *Kleibstela*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, entre outros (BRASIL, 2004).

Dentro desse grupo, estão os coliformes termotolerantes que são caracterizados por fermentarem a lactose e produzirem gás em temperatura mais alta, 45 °C, esses incluem, principalmente, a *Escherichia coli*, bactéria que habita o intestino humano e de animais e algumas cepas de *Klebsiella* e *Enterobacter* (SILVA, CAVALLI e OLIVEIRA, 2006).

Os coliformes termotolerantes são muitas vezes utilizados como indicadores de condições higiênicas sanitárias do produto e indicação de possível presença de enteropatógenos (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Alguns microrganismos podem ser patogênicos, como por exemplo: *E. coli* enterohemorrágica, *E. coli* enteropatógena, *E. coli* enterotoxigênica, que são adquiridas pelo consumo de alimentos contaminados. Os principais alimentos implicados são: leite, carne, ovos mal cozidos e vegetais crus, sendo essa transmissão via fecal-oral, e veiculada por manipulação em más condições higiênicas sanitárias (ROSA et al, 2016).

Rosa et al. (2016), ainda abordaram sobre características de virulência da cepa de *E. coli* enterohemorrágica em que libera uma toxina que causa destruição das vilosidades intestinais com diminuição da absorção de líquidos, e pode agir nas células glomerulares do rim, podendo causar insuficiência renal aguda. Os autores ainda citam como forma de prevenção: promover a seleção e controle de matérias primas, nos abatedouros evitar contaminação cruzada e boas práticas de fabricação dos alimentos.

Entre os relatos globais de coliformes, Gil et al. (2014) avaliaram a presença de coliformes totais e *E. coli* em refeições infantis, utensílios de cozinha, mãos de cuidadoras e crianças, além de água para consumo a nível doméstico em comunidades rurais da província San Marcos, Peru. Neste estudo, foram colhidas

amostras em residências que possuíam crianças de 6 a 32 meses. Os coliformes totais foram encontrados em 65% das mãos das cuidadoras (sendo a variação encontrada: 10^1 - 10^5 UFC), 58% dos utensílios de cozinha (variação: 10^0 - 10^9 UFC) e em 19% das refeições (variação: 0 - 10^9 UFC/g), já a frequência de *E.coli* foi de 48% na água (variação: 10^0 - 10^2 UFC/100ml), 16% nos utensílios de cozinha (variação: 10^0 - 10^5 UFC), em 23% das mãos (variação: 10^1 - 10^4 UFC) e em 4% das refeições (variação: 0 - 10^7 UFC/g). Além disso de 108 amostras testadas com *E. coli*, 20% possuíam pelo menos 1 tipo de *E. coli* diarreio gênica. Os autores concluem que diante dos resultados, era necessário melhorar as práticas higiênicas domésticas.

Colello et al. (2016) pesquisaram *E. coli* produtora de toxina Shiga em toda cadeia produtiva da carne suína em duas produções de porcos na Argentina, de 734 amostras, 4,05% eram positivas na técnica PCR. Nas fazendas, um total de 2,86% das amostras eram positivas, no abate 4,08% das carcaças eram positivas e na sala de desossa 6% das amostras eram positivas. Já das carnes prontas para vendas no mercado um total 4,59% eram positivas. Os autores acreditam que a contaminação tenha origem nas fazendas, passando pelo abate até o produto final e que para controle é necessário implementar um sistema integrado de controle.

Yildirim et al. (2017) avaliaram a qualidade microbiológica do pastrami (carne não cozida, curada, desidratada e contendo carne de bovino e de búfalo), e utensílios utilizados no seu preparo em Kayseri na Turquia. Os autores encontraram em 5,3% das amostras quantidades acima da permitida, de bactérias da família *Enterobacteriaceae* (encontrado 3.26×10^4 UFC/g) e em 2,6% *E. coli* (encontrado 1.2×10^4 UFC/g); na tábua de cortar e na faca foram encontradas em 16% e 12%, respectivamente, membros da família *Enterobacteriaceae*; em 9,3% e 6,6%, coliformes totais acima do limite estabelecido de 2,5 UFC/cm² para superfície de contato e não foi encontrada *E. coli*. Apesar da inadequação de ambos, os pastramis estavam mais contaminados e possuíam *E. coli*, diferentemente das superfícies de contato. Segundo o autor, isso sugere que a contaminação não foi somente pelas superfícies de contato, mas também por manuseio e higiene de manipuladores inadequada.

No Brasil, Pinheiro et al. (2015) analisaram a presença de coliformes totais e termotolerantes no tabaqui comercializados no mercado municipal em Ariquemes (RO), e todos as bancas analisadas possuíam o alimento contaminado com

coliformes totais e em quatro pontos de venda a quantidade de coliformes termotolerantes eram maiores que os permitidos na legislação nacional, caso fossem ser consumidos crus em sushis ou sashimis, e as contagens médias foram: $4,5 \times 10^2$ UFC/g, $2,0 \times 10^2$ UFC/g, $1,0 \times 10^2$ UFG/g e $4,4 \times 10^2$ UFC/g, atestando o possível risco caso esses peixes analisados fossem ser consumidos crus.

Stein et al. (2016) analisaram para padrões microbiológicos de cachorros quentes comercializados em food trucks no Vale do Taquari (RS), e encontraram em 3 (20%) amostras Coliformes à 45°C, sendo as contagens: $1,2 \times 10^2$ UFC/g, $1,8 \times 10^2$ UFC/g e $1,1 \times 10^2$ UFC/g, todas acima do padrão recomendado pela RDC 12 de 2001 da ANVISA, que prevê uma contagem menor que 10^2 UFC/g.

Silva et al. (2016) avaliaram a presença de coliformes termotolerantes em derivados lácteos e sorvetes na região nordeste do estado de São Paulo, e em 3 das amostras de sorvete a contagem de coliformes termotolerantes estava acima da permitida na legislação utilizada como base, o número máximo encontrado foi 9×10^1 NMP/g. Segundo os autores, uma contagem alta de coliformes termotolerantes em sorvete indica, muitas vezes, processamento insatisfatório e é de suma importância o monitoramento do processo, visto que o alimento não passa por nenhum outro tratamento térmico após o fim do seu preparo.

2.2.4 - *Listeria monocytogenes* em alimentos

O gênero listeria é composto por bactérias com forma de bastonete, gram positivas, anaeróbicas facultativas, que crescem em temperatura ideal de 30 a 37°C (NAYARANAN, 2016). Esse é dividido em seis espécies: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* e *L. welshimeri* (VAZQUEZ-BOLAND, 2001) A espécie *Listeria monocytogenes* é considerada a mais importante do gênero por estar relacionada à inúmeras doenças em animais e humanos (QUINN et al., 2005).

Esse patógeno já foi identificado em uma grande variedade de alimentos tais como: queijos artesanais e industriais, sorvetes, achocolatados, carnes, aves, frutos do mar (KOZAK et al., 1996), dentre outros, sendo os principais alimentos envolvidos nos surtos, as carnes bovinas, de frangos, vegetais, superfícies de

processamento, leite e queijo (principalmente: alta e média umidade) (SILVA, et al., 2016).

A *Listeria monocytogenes* pode causar listeriose e essa ocorre, principalmente, em indivíduos com alguma deficiência imunológica, e os principais grupos de risco são: grávidas, recém nascidos, idosos, imunossuprimidos, pacientes com câncer, com diabetes, com doença renal ou cardíaca. Esse microrganismo pode causar bacteremia, e até infecção no sistema nervoso central, precedido por alguns sintomas que são mal estar, vômito, dor de cabeça, febre e que pode progredir para morte, em grávidas a listeriose pode causar abortos (FARBER E PETERKIN, 1991).

Para prevenção o ideal é um rigoroso controle de qualidade nas áreas de manipulação de alimentos, principalmente em produtos com muita umidade, como: presunto, carnes, frangos e leite (SILVA et al., 2016). Além de cozinhar bem alimentos de origem animal, higienizar vegetais crus, não consumir leite cru ou alimentos que o contêm, lavar superfícies e mãos após contato com alimentos crus (GONÇALVES et al., 2016).

A *Listeria monocytogenes* tem sido relatada em diversas partes do mundo como por exemplo Nayak et al. (2015), que a detectaram em alimentos de origem animal tais como leite, produtos com leite, carne e peixes, em Navsari na Índia. Neste estudo foram coletadas 50 amostras desses alimentos em um mercado local, totalizando 200 amostras, e desse total 9% foram positivas para o gênero *Listeria*, sendo que 3 amostras (2 amostras de leites de búfala e 1 amostra de leite bovino) foram positivas para *L. monocytogenes*, sendo desta forma um possível risco para consumidores.

Gonçalves et al. (2016) detectaram e a quantificaram em queijos de massa mole, na região a Sul do Tejo em Portugal. Foram avaliados 30 amostras de queijos, produzidos a partir de leite de vaca, ovelha ou cabra, sendo crus ou pasteurizados, em que 70% das amostras continham leite cru de ovelha. Dos 30 queijos analisados, 3 possuíam uma quantidade *L. monocytogenes* acima da permitida em Portugal (100 UFC/g), Os autores ressaltam que o consumo de queijos à partir de leite cru está associado ao aumento da probabilidade de ocorrência de listeriose.

Braga et al. (2017) avaliaram a prevalência de *Listeria monocytogenes* em alimentos obtidos em varejistas e indústrias alimentícias de Montevideu, Uruguai.

Foram analisados diversos alimentos (prontos para o consumo, resfriados, congelados e queijos) e em 11,2% (71/635) a bactéria foi isolada, sendo mais prevalente em alimentos congelados (38%), seguido de queijo (10%) e alimentos prontos para o consumo (9%).

No Brasil, Abrahão et al. (2008) verificaram a ocorrência de *Listeria monocytogenes* em queijos e sorvetes produzidos no Paraná, e foi detectado *Listeria sp.* em 12,20% e *L. monocytogenes* em 6,70% das amostras de queijo. No estudo não foi detectado *Listeria* nas amostras de sorvete. Os queijos de maior ocorrência do patógeno foram os de muita alta umidade. Os resultados do estudo de Abrahão et al (2008) mostraram a necessidade de melhorar as boas práticas higiênicas durante a coleta, o transporte da matéria-prima e do processamento do queijo nos locais analisados.

Lima et al. (2015) pesquisaram *Listeria monocytogenes* no queijo muçarela fatiado vendido em Goiânia (GO). Os autores encontraram a bactéria em 4 das 34 amostras analisadas, e segundo a legislação vigente (RDC 12, 02 de janeiro de 2001 - ANVISA), o patógeno deve ser ausente em queijos.

Além desses estudos em queijos, Fai et al. (2011) analisaram amostras de presuntos cozidos resfriados vendidos em supermercados em Fortaleza (CE), e encontrou em 42,50% *Listeria monocytogenes*, os autores também observaram os locais onde os produtos eram comercializados e atribuíram os resultados encontrados a falhas de boas práticas de manipulação tais como: produtos crus e cozidos na mesma vitrine, presença de resíduos em equipamentos, ausência de lavatório exclusivo para mãos, uso da mesma luva para diversas atividades (inclusive manipulação de alimentos crus e cozidos), além de falhas na temperatura de conservação.

2.2.5 - Aerobios Mesófilos

A contagem de microrganismos aeróbios mesófilos é utilizada como indicadora da qualidade sanitária dos alimentos, um elevado número dessas bactérias indica um alimento impróprio para consumo, mesmo que não tenha contaminação por patógenos (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Ainda segundo Franco e Landgraf (2005), o uso dessa contagem é justificado, pois elevado número em não perecíveis indica uso de matéria prima contaminada ou processamento com condições sanitárias insatisfatórias, e o elevado número em perecíveis indica alteração no tempo e temperatura durante o armazenamento, outra justificativa é que as bactérias patogênicas também são mesófilas, então tiveram boas condições de temperatura para se desenvolverem.

Uma quantidade elevada de aeróbios mesófilos pode causar deterioração, devido a alterações das propriedades organolépticas, esses valores são diferentes de acordo com o alimento e os números normalmente devem ser acima de 10^6 UFC/g (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Fernandes em 2015 avaliou a qualidade e boas práticas em indústria de queijaria na região da Mafra, Portugal. Durante a realização do trabalho, foram recolhidas amostras do leite cru de ovelhas, luvas dos trabalhadores, swabs de superfícies de trabalho, coalhada de queijo fresco e queijo curado, e ambos os queijos prontos e realizadas as análises. A contagem de aeróbios totais a 30 graus Celsius no leite de ovelha cru teve a média de $2,6 \times 10^7$ UFC/ml e o limite de média geométrica definido pelo parlamento europeu é de igual ou menor que $1,5 \times 10^6$ UFC/ml por um período de 6 meses, com pelo menos 2 colheitas mensais. Para diminuição dessa contagem a autora sugere melhora da higienização durante a ordenha e um intervalo mais curto entre a ordenha e a pasteurização. Na coalhada de queijo fresco, a média desses microrganismos foi de $1,05 \times 10^6$ UFC/g e no produto final $1,89 \times 10^7$ UFC/g, já na coalhada de queijo curado foi de $1,38 \times 10^8$ UFC/g e no queijo curado final $9,60 \times 10^8$ UFC/g, embora essa contagem não tenha limites legais e leve em conta também bactérias ácido-lácticas, que são comuns no produto, a pesquisadora afirma que altas quantidades são capazes de diminuir a vida útil do produto. As luvas higienizadas obtiveram uma variação grande de resultados. E os repartidores em uso obtiveram uma contagem média de mesófilos menor que a dos higienizados, tais resultados mostram que a higienização não foi adequada e isso pode resultar em um produto com qualidade higiênico-sanitária insatisfatória.

No Brasil, Montanari et al. (2015) analisaram microbiologicamente sashimis de salmão comercializados em restaurantes japoneses em JI-Paraná (RO). No estabelecimento 1, foi observado contagens de mesófilos entre o intervalo de de

$7,0 \times 10^3$ UFC/g e $1,1 \times 10^8$ UFC/g. No estabelecimento 2, as contagens de mesófilos observadas foram entre os intervalos $1,8 \times 10^3$ UFC/g e $9,9 \times 10^7$ UFC/g. E no estabelecimento 3 os intervalos foram de $7,4 \times 10^3$ UFC/g e $9,9 \times 10^6$ UFC/g. Os autores do texto citam que Forsythe (2002) e Jay (2005) relataram que quantidades acima de 10^6 UFC/g são capazes de causar doenças de origem alimentar, e essas foram encontradas nos 3 estabelecimentos.

Pinheiro et al. (2016) avaliaram a qualidade microbiológica de um abatedouro de bovinos em Campo Mourão (PR), durante semanas consecutivas e o valor de aeróbicos mesófilos mais alto encontrado nas carnes encontrava-se acima de $2,5 \times 10^6$ UFC/g. Os autores sugerem que para diminuição da carga microbiológica é necessário um cuidado maior durante as etapas de produção com Boas Práticas de Fabricação eficientes e monitorada, e criação de um sistema APPCC para avaliar os pontos críticos de controle.

Garcia et al. (2016) realizaram a contagem de aeróbios mesófilos em 18 amostras de queijos frescos artesanais comercializados em Montes Claros (MG). Os autores encontraram uma elevada quantidade desses microrganismos nos produtos, sendo que os maiores números encontrados eram acima de $5,0 \times 10^{10}$ UFC/g em 39% das amostras, segundo os autores as condições higiênicas sanitárias eram insatisfatórias, devido às altas contagens.

2.2.6 - *Salmonella spp.*

As Salmonelas são bacilos, gram negativos, anaeróbios facultativos, móveis e não formadoras de esporos (POPOF E LE MINOR, 2015). Segundo Franco e Landgraf (2005), essa bactéria é bem distribuída pela natureza, sendo o trato gastrointestinal do homem e dos outros animais seu reservatório mais importante. As aves desempenham um grande papel epidemiológico, por poderem ser portadoras assintomáticas, e assim eliminam a bactéria pelas fezes, causando contaminação cruzada muito importante em abatedouros de aves.

Ainda segundo Franco e Landgraf em 2005, *Salmonella spp.* é um dos agentes mais evidenciados em casos de doenças alimentares em muitos países,

inclusive no Brasil, sendo principalmente devido a carne de frango e outras, ovos e leite cru ou inadequadamente pasteurizado.

Segundo o manual técnico de diagnóstico laboratorial da *Salmonella spp.* (Ministério da Saúde, 2011), ela pode causar em humanos 4 síndromes clínicas: gastroenterite, febre entérica, septicemia com ou sem infecções localizadas.

No caso das infecções gastrointestinais as fezes podem variar de diarréicas aquosas a consistentes com sangue e muco, além da possibilidade de ocorrer sintomas como febres e cólicas abdominais (BRASIL, 2011).

A *Salmonella spp.* tem sido relatada mundialmente, como por exemplo Jones et al. (2016) em que descreveram um prolongado surto alimentar de *S. enterica* no norte da França associado ao consumo de hambúrgueres de carne congelados. A investigação do caso iniciou após cinco crianças apresentarem salmonelose no distrito de Somme, e com isso foram feitas avaliações epidemiológicas, microbiológicas e de rastreio alimentar, sendo identificada a fonte: hambúrgueres de carne congelados adquiridos em um mesmo banco de alimentos e originários de uma fábrica na Polônia, o lote suspeito foi recolhido. Posteriormente, um segundo surto alimentar foi notificado e depois das investigações, descobriu-se que o causador era o mesmo hambúrguer, após isso, com a suspeita de contaminação persistente, todos os lotes foram recolhidos. Ao investigarem o banco de alimentos, não foram identificados problemas de armazenamento ou distribuição. E não houve surtos em outras regiões da França ou em outros países pelo produto e nem falhas nas boas práticas de higiene na fábrica. Os autores citam hipóteses para só terem sido identificados surtos nessa pequena distribuição geográfica: um único hospital grande na área aumentando a quantidade de notificações, ocorrência do surto no inverno, fazendo com que os médicos suspeitassem de gastroenterite viral e pedissem menos exames de fezes, a grande vigilância de surtos alimentares na França e também o fato da contaminação não ser homogênea. Na conclusão, é destacada a importância da notificação de casos de surto alimentar e que o alto número de casos do mesmo laboratório ajudou a uma rápida resposta de saúde pública e rastreio do produto.

Tarabees et al. (2017) isolaram e caracterizaram *S. enterica* subespécie enteritidis e *S. enterica* subespécie typhimurium em carne de frango no Egito. Nas amostras positivas era feito PCR para identificar genes de virulência e teste de

sensibilidade à antibióticos (ampicilina, amoxicilina, penicilina, tetraciclina, neomicina, ofloxacina, doxiciclina, cloranfenicol, estreptomicina e eritromicina). Do total de 100 amostras, 2 foram positivas para *S. enterica* subespécie enteritidis e 3 para *S. enterica* subespécie typhimurium, sendo a *S. enterica* subespécie typhimurium sensível a tetraciclina, estreptomicina e eritromicina, já a *S. enterica* subespécie enteritidis era resistente a todos antibióticos testados. Dos 17 genes de virulência testados no PCR, 11 foram amplificados. Os autores afirmam que a resistência a antibióticos em Salmonelas não tifóides é um sério problema de saúde pública, pois dificulta o uso de antibióticos convencionais e que a crescente resistência a novos antibióticos é um agravante e que a contaminação por *Salmonella spp.* mesmo que em baixa incidência indica qualidade microbiológica insatisfatória, concluindo que é necessário cuidados de saúde pública e segurança alimentar para diminuir o risco de salmonelose para saúde humana.

Huusko et al. (2017) relataram um surto alimentar ocorrido na Finlândia de *Salmonella enterica* subespécie enteritidis associado a cubos de frango pré-cozidos congelados em 2012. Esses frangos estavam presentes em uma salada pré-pronta e também foi detectado um surto devido a um frango da mesma marca em *Wraps* na Estônia, o alimento foi rastreado e identificado como de uma fábrica na China, apesar de no momento do surto a empresa de saladas não possuir mais o frango, foi isolado o mesmo sorotipo de *S. enterica* subespécie enteritidis de pacientes finlandeses em cubos de frango da mesma fábrica na Inglaterra. E pelo estudo epidemiológico realizado após o surto, as chances de desenvolver a doença era 16 vezes maior em quem ingeriu a salada de frango. Segundo o artigo, os sintomas mais comuns foram: diarreia, fezes mucosas e febre. Na conclusão do artigo os autores afirmam que após o inquérito foi descoberto que a empresa recebeu uma queixa de suspeita de *Salmonella spp.* e que os funcionários suspeitavam que o frango estivesse cru, porém não foi realizado teste ou feito o descarte do produto, e foi continuado o uso, confiando apenas no certificado da fábrica. Nesse caso, segundo os autores, o ideal era avisar as autoridades locais de saúde, deixar de utilizar os produtos e mantê-los estocados para amostragem oficial.

No Brasil, a *Salmonella* já foi identificada em diversos alimentos, Tessari et al. (2008) pesquisaram a ocorrência de *Salmonella spp.* em amostras de carcaças de frango congelado e 2,5% das amostras foram positivas, sendo um *S. enterica* subespécie enteritidis, os autores afirmam que embora os números sejam pequenos comparados com outros trabalhos, a porcentagem ainda apresentava algum risco à saúde do público que consumisse na época.

Cavalin et al. (2016) pesquisaram *Salmonella spp.* em 46 amostras de linguiças suínas produzidas e comercializadas em Londrina (PR) e a isolaram em 28,3% dessas linguiças. Os autores sugerem que a contaminação pode estar ocorrendo na planta de processamento e/ou na carne utilizada como matéria prima.

Souza et al. (2017) avaliaram a qualidade microbiológica de queijo minas frescal comercializado na zona da mata mineira em um total de 50 amostras, sendo 43 de produção industrial e 7 de produção informal. Embora a legislação brasileira, RDC 12 de 2 de janeiro de 2001 da ANVISA, preveja que é necessário não conter *Salmonella spp.* em queijos, os pesquisadores a isolaram em 20% das amostras.

2.2.7 - *Staphylococcus coagulase positiva*

O gênero *Staphylococcus* é composto por bactérias gram positivas, maioria anaeróbica facultativa, que formam aglomerados irregulares de cocos e produzem a enzima catalase (SMELTZER e BEENKEN, 2016). A catalase é capaz de decompor o H_2O_2 e liberar O_2 (AEBI, 1974).

Smeltzer e Beenken (2016) ainda afirmam que existem muitas espécies de *Staphylococcus*, e que algumas estão presentes nos tecidos epiteliais humanos e de animais de sangue quente, porém uma grande diferenciação são as cepas coagulase positivas, capazes de ativar a protrombina e coagular o plasma, essas produzem toxinas. Um exemplo bem conhecido é a *Staphylococcus aureus*.

As enterotoxinas desse grupo são capazes de provocar a toxinfecção alimentar, sendo produzidas entre 10°C a 46°C no alimento, e os surtos alimentares ocorrem devido a refeições que permaneceram, por um tempo variado, nessa faixa de temperatura. Os alimentos onde essas enterotoxinas são mais encontradas: leite, cremes, tortas recheadas com cremes, saladas de batata, atum, frango e presunto (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Os mesmos autores ainda afirmam que os sintomas variam conforme a concentração dessas enterotoxinas, e a susceptibilidade do indivíduo, as manifestações mais comuns são náusea, vômitos, dores abdominais, diarreia e sudorese, normalmente não é fatal em indivíduos saudáveis, mas pode evoluir para desidratação e choque. Outro fator importante é que essas enterotoxinas produzidas são termoresistentes, então o tratamento térmico eliminará a bactéria, mas não as toxinas caso já estejam formadas (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Entre os relatos da presença de *Staphylococcus* coagulase positiva nos alimentos Schmid et al., 2009 fizeram uma investigação de um surto alimentar, ocorrido após o consumo de produtos lácteos em escolas na Áustria os quais perceberam que o consumo de determinada bebida láctea estava associado a um risco 37,8 vezes maior de adquirir a doença. Neste mesmo estudo ao analisarem os produtos embalados, foi encontrado enterotoxinas estafilocócicas A e D. Os pesquisadores também encontraram *S. aureus* no leite produzido pelo laticínio e concluíram que as vacas eram o provável reservatório da bactéria. Ainda no estudo foi presumido que a produção de enterotoxina ocorreu durante os 3 dias de armazenamento do leite pasteurizado antes da próxima pasteurização.

Fetsch et al. (2014) descreveram um surto alimentar causado por enterotoxinas de *Staphylococcus* em sorvete ocorrido em Friburgo, Alemanha. O mesmo tipo de *S. aureus* detectado nos pacientes foi detectado em alguns sorvetes que foram consumidos, sendo as maiores contagens encontradas superiores à 3.0×10^6 UFC/g.

Johler et al. (2015) relataram casos de infecção alimentar pelo consumo de queijo de leite cru em um colégio suíço, devido a enterotoxinas de *S. aureus* presentes no alimento. Os consumidores apresentaram vômito, febre e diarreia severa. Os pesquisadores detectaram a quantidade 10^7 UFC/g de *Staphylococcus* coagulase positiva no alimento e cepas diferentes de *Staphylococcus aureus* e uma delas produtora de enterotoxinas foi identificada como fonte do surto.

No Brasil, Chesca et al. (2014) avaliaram a qualidade microbiológica de sorvetes artesanais em Uberaba (MG). E 6 amostras encontravam-se com a quantidade de *Staphylococcus* coagulase positiva acima do parâmetro definido pela RDC 12 de 02 de janeiro de 2001 da ANVISA, que é de $5,0 \times 10^2$ UFC/g. Os autores citam vários trabalhos que justificam a má qualidade microbiológica do sorvete, e

que pode se dar por diversos fatores, tais como: manipulação inadequada no local, eficiência no armazenamento, utensílios contaminados e matérias primas (como leite e ovos crus). E concluem que considerando os resultados fora dos padrões observados no estudo, era necessário na época a implementação e/ou um melhor controle de boas práticas nas sorveterias analisadas.

Moreira et al. (2014) examinaram produtos cárneos fatiados, de supermercados do Rio de Janeiro. Os produtos eram analisados no dia do fatiamento e no último dia de validade. Na primeira análise, 62,5% das amostras estavam acima do limite estabelecido na RDC 12 de 2001 da ANVISA que é de até $5,0 \times 10^3$ UFC/g e após o armazenamento mais amostras encontravam-se impróprias 78,12%, mesmo que dentro do prazo de validade. Os autores concluem que tais resultados podem indicar más condições higiênico-sanitárias e manipulação inadequada durante o fatiamento, sendo necessária um aperfeiçoamento das boas práticas e do controle da qualidade.

Hipólito et al. (2014) analisaram a qualidade microbiológica de queijo minas artesanal (produzido à partir de leite cru) comercializados no Sul de Minas Gerais. Em relação aos *Staphylococcus* coagulase positivo, foi considerado o padrão recomendado na RDC 12 de 2001 da ANVISA, até 10^3 UFC/g. O primeiro lote encontrava-se todo dentro do padrão, o segundo lote e o terceiro lote possuíam amostras inaptas ao consumo. Os autores explicam que estafilococos fazem parte da microbiota humana e que a presença de altas quantidades desses levantam suspeita de higiene insatisfatória.

2.3 Outras análises microbiológicas de alimentos

Muitas outras bactérias podem causar doenças alimentares ou de indicar condições higiênico-sanitárias de produtos alimentícios, portanto embora outras análises não sejam previstas em legislação, podem ser necessárias em casos específicos, como em surtos, ou então não são muito utilizadas devido a limitações.

Entre as bactérias indicadoras um exemplo seriam os Enterococos, porém, segundo Franco e Landgraf (2005), esses apresentam uma restrição ao serem utilizados como indicadores de contaminação fecal, visto que habitam não só o trato intestinal. Porém sua presença em altos níveis indica más práticas sanitárias ou que

o alimento foi submetido a condições que permitiram multiplicação desses, exceto em alimentos fermentados por *Enterococcus*.

Outro exemplo, seria a contagem de bactérias psicotróficas que indicam deterioração de produtos alimentícios, e são capazes de crescer em temperaturas baixas de aproximadamente 7°C ou menos (WITTER, 1961). Suas enzimas proteases, lipases e fosfatases atuam hidrolisando proteínas e gorduras do alimento (ARCURI et al., 2008).

O *Campylobacter spp.* e suas principais espécies isoladas de caso de gastroenterite humana, *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* (FRANCO E LANDGRAF, 2005). Segundo o CDC (2017), a campilobacteriose ocorre principalmente devido ao consumo de carne de aves cruas ou mal cozidas, alimentos que tiveram contato com essa carne crua e leite não pasteurizado. Grandes surtos alimentares por *Campylobacter spp.* não são comuns e a maioria dos casos ocorre isoladamente ou em pequenos grupos, com a fonte microbiológica raramente identificada (JACOBS-REITSMA et al., 2008). De acordo com De Godoi e Gandra (2010) as baixas quantidades da bactéria, devido a sensibilidade à concentração de oxigênio no ar e ao não crescimento em temperaturas menores que 30° C, tornam difícil a detecção em alimentos.

Outro microrganismo patogênico transmitido por alimentos é a *Yersinia enterocolitica* que é adquirida pelo consumo de carne de porco crua ou mal cozida (CDC,2016). Em 2003, Fredriksson-Ahomaa e Korkeala, consideravam que apesar de ser um patógeno alimentar importante, a *Y. enterocolitica* era pouco detectada devido a pouca sensibilidade da cultura. Os mesmos autores ainda afirmam que testes de PCR e hibridação de DNA estão sendo utilizados para detecção com maior facilidade. Gupta et al. (2014) associam a dificuldade de detecção da *Y. enterocolitica* ao crescimento lento e dominância de outros microrganismos nas amostras, devido ao plasmídeo de virulência (pYV) que pode ser inativado durante a cultura a 37 ° C e a ausência de diferenciação de cepas patogênicas. Esses autores acreditam que técnicas moleculares e sorológicas são melhores que as convencionais para detecção, porém afirmam que essas também tem limitações, devido a similaridade genética de cepas virulentas e não virulentas, tudo isso faz com que casos de *Y. enterocolitica* sejam subestimados na população.

Shigella spp. causa diarreia, febre e dores abdominais (CDC, 2018), essa infecta diversos tipos de alimentos, por manipuladores com má higiene pessoal

(WAREN et al., 2007). Ainda segundo esses autores, os meios de detecção em alimentos da *Shigella spp.* incluem cultura tradicional, porém essa é problemática devido à ausência de meios seletivos específicos, métodos moleculares e imunológicos.

Vibrio parahaemolyticus ocorre devido ao consumo de frutos do mar crus ou mal cozidos e pode levar ao desenvolvimento de gastroenterite aguda, mais comuns em países asiáticos e o mais associado a ingestão de frutos do mar nos Estados Unidos (SU e LIU, 2007). No mesmo trabalho, é citado que esse pode ser identificado por meio de culturas, kit rápidos, PCR e técnicas de DNA.

Entre outras como: *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas spp.* que são microrganismos de habitat predominante hídrico e podem causar infecções, entéricas ou não, caso seja consumido água ou alimentos contaminados (PEREIRA et al., 2004). A *Aeromonas spp.* atinge principalmente pessoas debilitadas, e a *P. shigelloides* é um patógeno incomum com poucos relatos na literatura (JANDA et al., 2002).

2.4 Novas tecnologias de diagnóstico na microbiologia de alimentos

Atualmente novas técnicas de detecção de microrganismos patogênicos em alimentos foram sendo desenvolvidos e aprimorados, além do tradicional cultivo microbiológicos e dos testes bioquímicos, para auxiliar e facilitar a identificação de microrganismos em alimentos (FRANCO E LANDGRAF, 2005). Esses métodos vieram para agilizar o processo detecção, ou como alternativa com melhor sensibilidade de detecção.

Esses novos métodos podem ser separados em três grandes grupos: técnicas bioquímicas miniaturizadas, técnicas imunológicas e técnicas genéticas (FRANCO E LANDGRAF, 2005). Entre os meios de detecção rápida estão as placas Petrifilm® e o teste VITEK® da bioMérieux, esses permitem a identificação sensível de uma gama de bactérias específicas. Alguns desses testes podem ser lidos por equipamentos com softwares reduzindo o tempo de trabalho (BioMérieux, 2018).

As técnicas bioquímicas miniaturizadas, vendidas em *kits*, são testes prontos para o uso que servem para identificação de microrganismos específicos (FRANCO E LANDGRAF, 2005). Ainda segundo os mesmos autores, esses facilitam a

pesquisa de bactérias e passam por um rigoroso controle de qualidade, além de combinarem vários testes, permitindo resultados mais precisos. Como a gama de fitas API®, bioMérieux, essa é baseada em reações bioquímicas tradicionais presentes em vários poços, fazendo uma identificação precisa e permitindo uma padronização (BioMérieux, 2018).

As técnicas imunológicas são baseadas na identificação de antígenos de superfície em patógenos (QUINN et al., 2005). Primariamente, essas técnicas eram limitadas a testes de aglutinação, porém com o passar do tempo novos métodos mais específicos e sensíveis vêm sendo utilizados (FRANCO E LANDGRAF, 2006). Uma técnica imunológica bem conhecida é a de imunofluorescência, outras técnicas são a imunocaptura, técnicas imunoenzimáticas, técnica de imunoimobilização e a técnica de coaglutinação. Podemos citar como exemplo de imunoensaio os testes VIDAS® e o miniVIDAS® da bioMérieux, esses são imunoanalisadores automatizados baseados no teste fluorescente ligado a enzimas, e detectam vários patógenos alimentares, tais como: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp.*, *E. coli* O157 (BioMérieux, 2018).

Entre as técnicas moleculares, a mais conhecida é PCR (Reação em cadeia da Polimerase) uma técnica altamente sensível que se fundamenta na amplificação de sequências do DNA (GANDRA et al., 2008). Outra são os testes de hibridização de DNA, que utilizam sondas genéticas, essas reconhecem e formar híbridos com fitas de DNA alvo dos microrganismos (FRANCO E LANDGRAF, 2005).

Existem inúmeros relatos do uso de PCR em microbiologia alimentar, Tarabees et al. (2017) usaram a técnica para identificar genes de virulência em amostras de carne de frango positivas para *Salmonella* Enteritidis e *Salmonella* Typhimurium. Wei et al. (2018) detectaram *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella spp.* no leite através da técnica multiplex PCR. No Brasil, a técnica também é muito utilizada, Dos Santos et al. (2006) compararam o uso do PCR e as análises convencionais para pesquisa de *L. monocytogenes* em carne suína e concluíram que a técnica é eficiente. Freitas et al. (2009) usaram o PCR e detectaram genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus spp.* isoladas de queijo coalho. Fonseca et al. (2014) com o uso da técnica identificaram genes de virulência em *E. coli* isolada de linhas de processamento de queijo minas frescal.

3. CONCLUSÃO

Milhões de pessoas adoecem devido a microrganismos transmitidos por alimentos todos os anos (CDC, 2018), para diminuir esse número, é essencial um bom controle da qualidade microbiológica da produção e manipulação de alimentos.

As análises microbiológicas são um grande aliado nesse controle, visto que permitem além de avaliar presença de patógenos nos alimentos, descobrir sobre condições higiênico-sanitárias por meio dos microrganismos indicadores.

Portanto, essas são essenciais, visto que facilitam a identificação dos alimentos e bactérias que causaram os surtos alimentares e também descobrir se um alimento está apto ou não ao consumo, evitando risco de doenças.

A legislação de cada país prevê os microrganismos e quantidades a serem pesquisados em cada alimento, levando em conta risco epidemiológico, interesse sanitário, plano de amostragem, porém apesar de existirem essas legislações nacionais e internacionais visando a diminuição dos patógenos presentes nos alimentos e aumentando o controle da segurança alimentar, ainda é grande o número de surtos e isolamentos.

Os patógenos encontrados ocorreram por diversos motivos, tais como: falha na temperatura de armazenamento, manuseio inadequado, condições-higiênico sanitárias insatisfatórias, matéria-prima de má-qualidade, contaminação cruzada, defeito no processo de fabricação.

Portanto fica claro que é necessário um maior controle e preocupação com segurança alimentar, não só da indústria, como da população geral, visto que em alguns casos práticas de higiene e armazenamento adequado evitariam um surto alimentar, e que ratifica a importância da realização de análises microbiológicas que respaldam a qualidade higiênico sanitária dos mesmos à população.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHÃO, Wanda Moscalewski et al. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in cheese and ice cream produced in the State of Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, p. 289-296, 2008.

AEBI, Hugo. Catalase. In: **Methods of Enzymatic Analysis (Second Edition), Volume 2**. 1974. p. 673-684.

AFONSO, Anabela. Metodologia Haccp. **Segurança e Qualidade Alimentar**, v. 1, p. 12-15, 2006

AMEME, Donne K. et al. Outbreak of foodborne gastroenteritis in a senior high school in South-eastern Ghana: a retrospective cohort study. **BMC Public Health**, v. 16, n. 1, p. 564, 2016.

ARCURI, Edna F. et al. Contagem, isolamento e caracterização de bactérias psicrotróficas contaminantes de leite cru refrigerado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, 2008.

ANVISA. **Institucional**. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/institucional>
Acesso em: 22 nov. 2018

BIOMÉRIEUX. **Gamas de fitas API[®]**. Disponível em:
<https://www.biomerieux.com.br/produto/gama-de-fitas-apir> Acesso em: 22 nov. 2018

BIOMÉRIEUX. **mini VIDAS[®]**. Disponível em:
<https://www.biomerieux.com.br/produto/mini-vidasr> Acesso em: 22 nov. 2018

BIOMÉRIEUX. **VIDAS[®]**. Disponível em:
<https://www.biomerieux.com.br/produto/vidasr> Acesso em: 22 nov. 2018

BIOMÉRIEUX. **Vitek[®] MS**. Disponível em:
<https://www.biomerieux.com.br/produto/vitekr-ms> Acesso em: 22 nov. 2018

BRAGA, Valeria et al. Prevalence and serotype distribution of *Listeria monocytogenes* isolated from foods in Montevideo-Uruguay. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 4, p. 689-694, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N.º 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 10 jan. 2001

BRASIL. Leis etc. DECRETO-LEI Nº 986, DE 21 DE OUTUBRO DE 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 21 dez. 1969

BRASIL. Leis etc. Lei Nº 7.889, DE 23 DE NOVEMBRO DE 1989. Dispõe sobre inspeção sanitária e industrial dos produtos de origem animal, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, 24 nov. 1989

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 09, de 8 de abril de 2009. **Diário Oficial da União**. Brasília, 09 abril 2009

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. INSTRUÇÃO NORMATIVA nº 20, de 21 de outubro de 2016. **Diário Oficial da União**. Brasília, 25 out. 2016.

BURKE, Patrick. Outbreak of foodborne botulism associated with improperly jarred pesto—Ohio and California, 2014. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 65, 2016.

CAVALIN, Paola Bianca Barbosa et al. Detection of *Salmonella spp.* and diarrheagenic *Escherichia coli* in fresh pork sausages. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 4, p. 1533-1546, 2018.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. FOOD SAFETY. **Campylobacter**. 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/campylobacter/index.html> Acesso em: 22 nov. 2018.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. FOOD SAFETY. **Foodborne Illnesses and Germs**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html> Acesso em: 22 nov. 2018.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. FOOD SAFETY. **Shigella**. 2018. Disponível em: <https://www.cdc.gov/shigella/index.html> Acesso em: 22 nov. 2018.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. FOOD SAFETY. **Yersinia enterocolitica**. 2016 Disponível em: <https://www.cdc.gov/yersinia/index.html> Acesso em: 22 nov. 2018.

CERESER, Natacha Deboni et al. Botulismo de origem alimentar. **Ciência Rural**, v.38, n.1, p. 280-287, 2008.

CHESCA, Ana Claudia et al. Contaminação microbiológica em sorvetes artesanais. **Higiene Alimentar**, v.28, p. 147-152, 2014.

CHUKWU, Emelda E. et al. Detection of toxigenic *Clostridium perfringens* and *Clostridium botulinum* from food sold in Lagos, Nigeria. **Anaerobe**, v. 42, p. 176-181, 2016.

COLELLO, Rocío et al. From farm to table: follow-up of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* throughout the pork production chain in Argentina. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 93, 2016.

DE GODOI, Huana da Silva; GANDRA, Tatiane Kuka Valente; GANDRA, Eliezer Avila. *Campylobacter spp.* em alimentos. Uma revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 13, n. 1, p. 37-41, 2010.

DE PAIVA, Emmanuela Prado et al. *Bacillus cereus* e suas toxinas em alimentos. **Higiene Alimentar**, v. 23, n. 170/171, p. 87, 2009.

DE SOUZA, Iury Antônio et al. Qualidade microbiológica de queijo minas frescal comercializado na zona da mata mineira. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 72, n. 3, p. 152-162, 2017.

DIERICK, Katelijne et al. Fatal family outbreak of *Bacillus cereus*-associated food poisoning. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 8, p. 4277-4279, 2005.

DOS SANTOS, Loreane de Ana Guimarães et al. Pesquisa molecular e convencional de *Listeria monocytogenes* para o controle de qualidade da qualidade da carne suína. **Revista Ceres**, v. 53, n. 308, p. 481-486, 2006.

FAI, Ana Elizabeth Cavalcante et al. *Salmonella sp* e *Listeria monocytogenes* em presunto suíno comercializado em supermercados de Fortaleza (CE, Brasil): fator de risco para a saúde pública. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, p. 657-662, 2011.

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

FERNANDES, A.C.M. (2015). **Boas práticas em indústrias queijeiras em Portugal**. Dissertação de mestrado. Universidade de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa.

FETSCH, Alexandra et al. *Staphylococcus aureus* food-poisoning outbreak associated with the consumption of ice-cream. **International journal of food microbiology**, v. 187, p. 1-6, 2014.

FONSECA, Carolina Rodrigues et al. Ocorrência de *Escherichia Coli* potencialmente causadoras de toxi-infecções alimentares em linhas de processamento de queijo minas frescal. **Blucher Food Science Proceedings**, v. 1, n. 1, p. 175-176, 2014.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. CODEX ALIMENTARIUS. **History**. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/history/jp/> Acesso em: 22 nov. 2018

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. CODEX ALIMENTARIUS. **About codex**. Disponível em: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/about-codex/jp/> Acesso em: 22 nov. 2018

FORERO, Ana Yibby et al. Aislamiento de *Bacillus cereus* en restaurantes escolares de Colombia. **Biomédica**, v. 38, n. 3, p. 338-344, 2018.

FORSYTHE, Stephen J. **Microbiologia da Segurança dos Alimentos**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013

FORTUNA, Jorge Luiz; FRANCO, Robson Maia. Uma revisão epidemiológica sobre o *Clostridium perfringens* como agente etiológico de doenças transmitidas por alimentos (DTA). **Higiene alimentar**, p. 48-53, 2005.

FRANCO, Bernadette Dora Gombossy de Melo; LANDGRAF, Mariza. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2005. 182 p.

FREDRIKSSON-AHOMAA, Maria; KORKEALA, Hannu. Low occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in clinical, food, and environmental samples: a methodological problem. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 16, n. 2, p. 220-229, 2003.

FREITAS, Manuela Figueroa Lyra et al. Detecção de genes toxigênicos em amostras de *Staphylococcus spp.* isoladas de queijos de coalho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 2, p.375 -379, 2009.

GARCIA, Jéssica Karoline Santos et al. Qualidade microbiológica de queijos frescos artesanais comercializados na região do norte de Minas Gerais. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 8, n. 2, p. 58-65, 2016.

GIL, Ana I. et al. Fecal contamination of food, water, hands, and kitchen utensils at the household level in rural areas of Peru. **Journal of environmental health**, v. 76, n. 6, p. 102-107, 2014.

GONÇALVES, Magda et al. Presença de *Listeria monocytogenes* em Queijos de Pasta Mole da Região a Sul do Tejo. **Portuguese Journal of Public Health**, v. 35, n. 1, p. 37-43, 2017.

GUPTA, V. et al. Detection of *Yersinia enterocolitica* in food: an overview. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 34, n. 4, p. 641-650, 2015.

HACHIYA, Jamile de Oliveira et al. Ocorrência de *Bacillus cereus* em requeijão e especialidade láctea. **Ars Veterinaria**, v. 31, n. 2, p. 78, 2015.

HIPÓLITO, Taciane Máira Magalhães et al. Qualidade higiênico sanitária do queijo minas artesanal do cerrado. **Hig. aliment**, v. 28, n. 238/239, p. 158-162, 2014.

HUUSKO, S. et al. Outbreak of *Salmonella enteritidis* phage type 1B associated with frozen pre-cooked chicken cubes, Finland 2012. **Epidemiology & Infection**, v. 145, n. 13, p. 2727-2734, 2017.

JACOBS-REITSMA, Wilma; LYHS, Ulrike; WAGENAAR, Jaap. Campylobacter in the food supply. **Campylobacter, Third Edition**. American Society of Microbiology, p. 627-644, 2008.

JANDA, J. Michael. Aeromonas and Plesiomonas. **Molecular Medical Microbiology**. p. 1237-1270, 2002.

JAY, James M. Microbiologia de Alimentos. 6^o edição. Porto Alegre: Artmed, 2005.

JOHLER, Sophia et al. Outbreak of staphylococcal food poisoning among children and staff at a Swiss boarding school due to soft cheese made from raw milk. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 5, p. 2944-2948, 2015.

JONES, Gabrielle et al. Outbreak of *Salmonella enteritidis* linked to the consumption of frozen beefburgers received from a food bank and originating from Poland: northern France, December 2014 to April 2015. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 40, 2016.

KOZAK, J. et al. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in foods: incidence in dairy products. **Food Control**, v. 7, n. 4-5, p. 215-221, 1996.

LIMA, Ana Clara Melo et al. Pesquisa de *Listeria monocytogenes* em queijo muçarela fatiado comercializado em estabelecimentos varejistas na cidade de Goiânia, GO. **Eletronic Journal of Pharmacy**, vol. XII, n. 4, p. 87-92, 2015

MAHLER, Hellmut et al. Fulminant liver failure in association with the emetic toxin of *Bacillus cereus*. **New England Journal of Medicine**, v. 336, n. 16, p. 1142-1148, 1997.

MESSELHÄUSSER, Ute et al. Emetic *Bacillus cereus* are more volatile than thought: recent foodborne outbreaks and prevalence studies in Bavaria (2007–2013). **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Programa Nacional de Controle de Patógenos**. 2017. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/inspecao/produtos-animal/control-de-patogenos> Acesso em: 22 nov. 2018

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. NORMA INTERNA DIPOA/SDA nº 01, de 17 de julho de 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Surtos de Doenças Transmitidos por Alimentos no Brasil**. Maio de 2017. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/maio/29/Apresentacao-Surtos-DTA-2017> Acesso em: 22 nov. 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Técnico de Diagnóstico Laboratorial de *Salmonella spp.*** 2011.

MONTANARI, Adriana Silva et al. Avaliação da qualidade microbiológica de sashimis de salmão, preparados e comercializados em restaurantes japoneses no município de Ji-Paraná–RO. **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 2, n. 1, 2015.

MOREIRA, Patrícia Baldino et al. Produtos cárneos fatiados em supermercados: um risco à Saúde Pública. **Hig. aliment**, v. 28, n. 238/239, p. 169-174, 2014.

NARAYANAN, Sajeev. *Listeria*. in: MCVEY, Scott; KENNEDY, Melissa; CHENGAPPA, M.M. **Microbiologia Veterinária**. Guanabara Koogan. 3ª Ed. 2016.

NAYAK, Deepti N. et al. Isolation, identification, and characterization of *Listeria spp.* from various animal origin foods. **Veterinary world**, v. 8, n. 6, p. 695, 2015.

NUNES, Silene Maria et al. Surto de doença transmitida por alimentos nos municípios de Mauá e Ribeirão Pires-SP. **Higiene Alimentar**, v. 31, n. 264/265, 2017.

PASSOS, Estevão de Camargo et al. Isolation of *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* in a food-borne disease outbreak in Vale do Ribeira region. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71, n. 4, p. 713-717, 2012.

PEREIRA, Christiane Soares et al. Aeromonas spp. e Plesiomonas shigelloides isoladas a partir de mexilhões (Perna perna) in natura e pré-cozidos no Rio de Janeiro, RJ. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, v. 24, n. 4, p. 562-566, 2004.

PINHEIRO, V. S.; BISCONSIN-JUNIOR, A.; CARVALHO, A. L. Coliformes totais e termotolerantes em tambaqui comercializado no mercado municipal de Ariquemes-RO. **Anais do 5º simpósio de Segurança Alimentar, Alimentação e Saúde**, p. 26-29, 2015.

PINHEIRO, Natã; RIBEIRO, Alessandra; SARTORI, Giliani. Controle de qualidade microbiológico na cadeia de abate de bovinos. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 11, n. 1, p. 1-11, 2016.

POPOFF, M. Y.; LE MINOR, L. E.. *Salmonella*. **Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria** (eds W. B. Whitman, F. Rainey, P. Kämpfer, M. Trujillo, J. Chun, P. DeVos, B. Hedlund and S. Dedysh). 2015.

PRESCOTT, John F. *Clostridium* in: MCVEY, Scott; KENNEDY, Melissa; CHENGAPPA, M.M. **Microbiologia Veterinária**. Guanabara Koogan. 3ª Ed. 2016.

QUINN, P. J. et al. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Artmed Editora, 2005.

RAGAZANI, Adriana Valim Ferreira et al. Esporos de *Clostridium botulinum* em mel comercializado no Estado de São Paulo e em outros Estados brasileiros. **Ciência Rural**, p. 396-399, 2008.

ROSA, Joice Lara Rosa Lara et al. Características da *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO**, v. 2, n. 1, p. 66-78, 2016.

ROSSI, Paula; BAMPI, Gabriel Bonetto. Qualidade microbiológica de produtos de origem animal produzidos e comercializados no Oeste Catarinense. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 22, n. 2, p. 748-757, 2015.

SCHMID, Daniela et al. Elucidation of enterotoxigenic *Bacillus cereus* outbreaks in Austria by complementary epidemiological and microbiological investigations, 2013. **International journal of food microbiology**, v. 232, p. 80-86, 2016.

SCHMID, Daniela et al. Outbreak of staphylococcal food intoxication after consumption of pasteurized milk products, June 2007, Austria. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 121, n. 3-4, p. 125-131, 2009.

SILVA, Hérica Ribeiro et al. Listeriose: uma doença de origem alimentar pouco conhecida no Brasil. **Hig. aliment**, v. 30, n. 262/263, p. 17-20, 2016.

SILVA, M. P.; CAVALLI, D. R.; OLIVEIRA, T. C. R. M. Avaliação do padrão coliformes a 45°C e comparação da eficiência das técnicas dos tubos múltiplos e Petrifilm EC na detecção de coliformes totais e *Escherichia coli* em alimentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 352-359, 2006.

SMELTEZER, Mark S.; BEENKEN, Karen E. *Bacillus* in: MCVEY, Scott; KENNEDY, Melissa; CHENGAPPA, M.M. **Microbiologia Veterinária**. Guanabara Koogan. 3ª Ed. 2016.

STEIN, Gabriela et al. Análise microbiológica de cachorros-quentes comercializados por food trucks. **Revista Caderno Pedagógico**, v. 14, n. 1, p. 193 – 202, 2017.

STEWART, George C.; Thomson, Brian M. *Bacillus* in: MCVEY, Scott; KENNEDY, Melissa; CHENGAPPA, M.M. **Microbiologia Veterinária**. Guanabara Koogan. 3ª Ed. 2016.

SU, Yi-Cheng; LIU, Chengchu. *Vibrio parahaemolyticus*: a concern of seafood safety. **Food microbiology**, v. 24, n. 6, p. 549-558, 2007.

TARABEES, Reda et al. Isolation and characterization of *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* from chicken meat in Egypt. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 11, n. 04, p. 314-319, 2017.

TESSARI, Eliana Neire Castiglioni et al. Ocorrência de *Salmonella spp.* em carcaças de frangos industrialmente processadas, procedentes de explorações industriais do Estado de São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v. 38, n. 9, p.2557-2560, 2008.

VÁZQUEZ-BOLAND, José A. et al. Listeria pathogenesis and molecular virulence determinants. **Clinical microbiology reviews**, v. 14, n. 3, p. 584-640, 2001.

WARREN, B. R.; PARISH, M. E.; SCHNEIDER, K. R. *Shigella* as a foodborne pathogen and current methods for detection in food. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 46, n. 7, p. 551-567, 2006.

WEI, Caijiao et al. Simultaneous detection of *Escherichia coli* O157: H7, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* by multiplex PCR in milk. **3 Biotech**, v. 8, n. 1, p. 76, 2018.

WITTER, Lloyd D. Psychrophilic bacteria—a review. **Journal of Dairy Science**, v. 44, n. 6, p. 983-1015, 1961.

YILDIRIM, Y. et al. Microbiological quality of pastrami and associated surfaces at the point of sale in Kayseri, Turkey. **Public health**, v. 146, p. 152-158, 2017.