

Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária

Isaura Maria Ferreira

**RISCOS RELACIONADOS À CONTAMINAÇÃO
MICROBIANA DE CARNE MOÍDA BOVINA**

Uberlândia
Minas Gerais - Brasil
2008

Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária

RISCOS RELACIONADOS À CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE CARNE MOÍDA BOVINA

Isaura Maria Ferreira

Orientadora Dra. Daise Aparecida Rossi

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia como parte das exigências do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias (Produção animal) para a obtenção do título de Mestre

Uberlândia - MG
Maio – 2008

Universidade Federal de Uberlândia
Faculdade de Medicina Veterinária

Isaura Maria Ferreira

**RISCOS RELACIONADOS À CONTAMINAÇÃO MICROBIANA DE CARNE MOÍDA
BOVINA**

Aprovada em: 30/05/2008

Orientadora Dra. Daise Aparecida Rossi

Prof^a. Dra. Débora Santesso Bonnas

Prof. Dr. Geraldo Sadoyama Leal

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Oswaldo e Olga, pois sem vocês eu nada seria. Pelo amor incondicional, pelo colo sempre a me esperar, pelas palavras amigas. Obrigada, por se importarem comigo, isso ilumina o meu viver.

À minha irmã e madrinha Marinêlida a quem me curvo e agradeço por me incentivar, apoiar e me agüentar nos momentos mais difíceis e alegres da minha vida.

A minha irmã Nêlida por seu espírito de cooperação, pelo esforço em atingir seus objetivos. Muito obrigada pelo carinho e dedicação.

A minha família, irmãos, sobrinhos, cunhados, D. Valma e em especial a minha afilhada Vitória.

Em particular ao Rubens Sérgio pelo amor, amizade, carinho, que soube entender minhas dificuldades, pela paciência e crença na minha capacidade de realização e por ter tornado minha vida mais doce.

A todos meus amigos, pois se eles me fugirem, muito infeliz serei, porque de mim fugirão todos os tesouros. (Malba Tahan)

AGRADECIMENTOS

A Deus inteligência suprema do universo causa primária de todas as coisas pela possibilidade de aprendizagem intelectual e espiritual, sem Ele nada seria concretizado.

A Dra. Daise Rossi minha orientadora pelo incentivo, confiança, sem dúvida alguma, elemento importante na elaboração deste trabalho e na realização de um sonho. Meus sinceros e eternos agradecimentos.

As amigas, “anjas” e colaboradoras do LABIO Francesca Dutra e Liliâne Pinheiro que me ensinaram e me auxiliaram nas infindáveis análises. Pelos abraços “energéticos” e aquela forcinha em todas as horas.

Ao Dr. Carlos Prudêncio, Washington Carvalho, Sérgio Lemos pela ajuda nas análises moleculares.

A doutoranda Belchiolina Beatriz Fonseca pelo apoio nas análises de *Campylobacter*.

Aos estagiários do LABIO que desfrutei da adorável companhia e que me deram suporte à pesquisa.

Aos funcionários da Faculdade de Medicina Veterinária que colaboraram nos bastidores durante o mestrado.

Aos meus “ombros amigos” e irmãos de coração, Dirce Helena, Lucileide, Eleusa Marta, Ivone e Madalena.

Em particular ao Héberly F. Braga que não mediu esforços, abdicando de suas folgas, feriados para dar sua contribuição neste trabalho. Que esta parceria ainda nos dê bons frutos. Obrigada por sua amizade e dedicação.

“[...] diz que mesmo antes de um rio cair no oceano, ele treme de medo. Olha para trás, para toda a jornada, os cumes, as montanhas, o longo caminho sinuoso através das florestas, através dos povoados e vê a sua frente um oceano vasto que entrar nele nada mais é que desaparecer para sempre. Mas não há outra maneira. O rio não pode voltar. Ninguém pode voltar. Voltar é impossível para existência. Você pode apenas ir em frente. O rio precisa se arriscar e entrar no oceano. E somente quando ele entra no oceano é que o medo desaparece. Porque, apenas então, o rio, saberá que não se trata de desaparecer no oceano. Mas tornar - se oceano. Por um lado é desaparecimento e por outro lado é renascimento”.

(Osho)

Riscos relacionados à contaminação microbiana de carne moída bovina

Resumo: O objetivo deste estudo foi verificar a qualidade microbiológica, o perigo potencial do consumo da carne moída e determinar os principais fatores de riscos relacionados ao local de sua comercialização. Amostras de carne moída bovina dos cinco setores geográficos do município de Uberlândia-MG foram analisadas. Coliformes totais, *Escherichia coli* e *Staphylococcus* sp foram quantificados; e realizadas análises qualitativas de *Salmonella*, *Listeria* sp, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp. Adicionalmente, pH e temperatura foram mensurados imediatamente após a aquisição. Os moedores foram avaliados pela quantificação de C. total, *E. coli* e mesófilas. Um *check-list* foi realizado para a classificação dos estabelecimentos. Utilizou-se o teste rápido Compact dry® para a pesquisa dos bioindicadores, e a metodologia tradicional para as demais análises. A confirmação da identificação de *Listeria* sp e *Listeria monocytogenes* foi obtida utilizando-se as técnicas de RT-PCR e PCR, respectivamente. As contagens de coliformes totais e *E. coli* evidenciaram que 57,5% e 45%, respectivamente, encontravam-se entre 10^3 UFC.g⁻¹ a 10^5 UFC.g⁻¹ e 10^2 a 10^4 UFC.g⁻¹. *Staphylococcus* sp foi determinado em 100% das amostras, com contagens variando de 10^3 UFC.g⁻¹ a 10^5 UFC.g⁻¹. As altas contagens de bactérias mesófilas nos equipamentos indicam uma deficiente higienização, bem como as altas contagens encontradas de coliformes totais e *E. coli* evidencia o perigo de contaminação cruzada. Higiene, conservação de equipamentos e utensílios, e apresentação pessoal foram os itens avaliados que mais evidenciavam não conformidades. A presença de patógenos como a *Campylobacter* e *Listeria monocytogenes* é preocupante, pois 38,5% e 15,5% das carnes, respectivamente, apresentaram presença destes patógenos. O uso do RT-PCR e PCR demonstraram eficiência e rapidez para a identificação de *Listeria* sp e *L. monocytogenes*, e podem ser utilizados na rotina para diminuir o tempo de análise. A falta de padrões microbiológicos para patógenos alimentares como *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* dificulta as tomadas de decisões em relação ao destino dos produtos contaminados, que são um risco à saúde do consumidor.

Palavras-chave: carne moída, fatores de risco, patógenos, *Listeria*, higiene.

Risks related to microbial contamination of ground beef

Abstract: This study aimed to check the microbiological quality and the potential danger of consumption of ground beef, and determine the main risk factors related to the place of their marketing. Samples of ground beef cattle from the five geographic sectors of the city of Uberlandia-MG were analyzed. Total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus* sp were quantified and qualitative analysis of *Salmonella*, *Listeria* sp, *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter* spp. Additionally, pH and temperature were measured immediately after the acquisition. The grinders of meat were evaluated by the quantification of bioindicators. A check-list was made for the classification of establishments. It was used rapid test for the Compact dry ® search of bioindicators, and the traditional methodology for the other analyses. The confirmation of the identification of *Listeria* sp and *Listeria monocytogenes* was obtained using the techniques of PCR and RT-PCR, respectively. The counts of total coliform and *E. coli* showed that 57.5% and 45% respectively, were between 103CFU.g-1 to 105 CFU.g-1 and 102 to 104 CFU.g-1. *Staphylococcus* sp was determined in 100% of the samples, with counts ranging from 103 CFU.g-1 to 105 CFU.g-1. High counts of bacteria in mesophilic equipment indicate poor hygiene. The inadequate hygiene was confirmed by high counts of total coliform and *E. coli* in equipment, and highlights the danger of cross-contamination. Hygiene, maintenance of equipment and utensils, presentation and personal items were valued more evidence that non-conformities

The presence of pathogens such as *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* is worrying, because 38.5% and 15.5% of meat, respectively, showed presence of these pathogens. The use of PCR and RT-PCR demonstrated efficiency and speed for the identification of *Listeria* sp and *L.monocytogenes*, and can be used in routine to reduce the time for analysis. The lack of standards for microbiological food pathogens such as *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter* complicates the decision-making regarding the fate of contaminated products, which are a risk to the health of consumers.

Keywords: ground beef, risk factors, pathogens, *Listeria*, hygiene

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1. Objetivo Geral	3
2.2. Objetivos Específicos	4
3. REFERÊNCIAL TEÓRICO	4
3.1. Principais Microrganismos Envolvidos em Toxinfecções veiculadas por Carne Moída Bovina	5
3.1.1. Grupo Coliforme e <i>Escherichia coli</i>	5
3.1.2. <i>Salmonella</i> sp	6
3.1.3. <i>Campylobacter</i> spp	7
3.1.4. <i>Listeria monocytogenes</i>	9
3.1.5. Fatores de riscos e medidas de controle	13
4. MATERIAL E MÉTODOS	15
4.1. Avaliação das Condições Físicas e Higiênico-Sanitárias dos Estabelecimentos	16
4.2. Análises	16
4.2.1. Análise físico-química	17
4.2.2. Análises microbiológicas	17
4.2.2.1 Quantificação de Coliformes Totais e <i>Escherichia coli</i>	17
4.2.2.2 <i>Staphylococcus</i> sp	18
4.2.2.3. Contagem de bactérias mesófilas	18
4.2.2.4. <i>Salmonella</i> sp	19
4.2.2.5. <i>Campylobacter</i> spp	19
4.2.2.6. <i>Listeria monocytogenes</i>	19
4.3 Teste de sensibilidade aos antimicrobianos	20
4.4. Técnica de PCR para identificação de <i>L. monocytogenes</i>	20
5.13. Técnica de RT-PCR para identificação de <i>Listeria</i> sp	21
6. RESULTADO E DISCUSSÃO	22
7. CONCLUSÃO	35
REFERÊNCIAS	36
ANEXO A	52
APÊNDICE	53

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da carne e seus derivados é preocupação mundial. A carne moída é um dos produtos cárneos mais comercializados devido à diversidade de uso, ao menor custo comparado a outros cortes bovinos e à facilidade de preparo. Esta preocupação torna-se ainda maior quando a carne é previamente fracionada, por diferentes utensílios como facas e moedores, e manipulada em adversas condições de higiene e ambiente.

Apesar de fornecer aminoácidos essenciais, vitaminas do complexo B, zinco, e ferro disponível, a carne torna-se potencialmente perigosa quando se trata de doenças veiculadas por alimentos, desde as chamadas zoonoses às toxinfecções alimentares. As características intrínsecas da carne, particularmente sua composição química, elevada atividade de água (Aw) e pH próximo à neutralidade, são fatores que favorecem o desenvolvimento de uma microbiota extremamente variada (CONTRERAS; BROMBERG; MIYAGUSKU, 2002). De acordo com Faustino et al. (2003) a qualidade da carne depende da tecnologia empregada na produção dos animais e do abate, do processamento, armazenamento, transporte e condições de comercialização.

A carne pode ser contaminada por bactérias como a *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *Listeria*, leveduras e mofos (FRAZIER; WESTHOFF, 1993; SILVA, 2000; PARDI et al., 2001). Muitos destes microrganismos podem causar doenças e problemas à saúde pública, acarretando desde um simples desconforto intestinal até mesmo a morte (GERMANO; GERMANO, 2003). No caso da contaminação por bactérias saprófitas há diminuição da vida útil do produto, gerando perdas econômicas.

Entre os vários parâmetros que determinam a qualidade de um alimento, os mais importantes são, sem dúvida, aqueles que definem as suas características microbiológicas (FRANCO; LANDGRAF, 2003).

Os microrganismos que contaminam os produtos cárneos são amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados em uma diversidade de ambientes (JO et al., 2004; FATTORI et al., 2005; JAY, 2005). Devido à dificuldade de avaliação de todos os tipos bacterianos que podem estar presentes, e causar

prejuízos econômicos e à saúde, os microrganismos bioindicadores são utilizados para estimar as condições sanitárias e de higiene. A presença e o número destes microrganismos fornecem informações sobre deterioração potencial, contaminação fecal, presença de patógenos e das condições sanitárias no processamento, armazenamento ou manipulação.

Os bioindicadores das condições de higiene mais usuais são os representantes do grupo coliforme e querendo-se avaliar a contaminação fecal, a *E. coli* é o microrganismo mais utilizado. Quando é necessária a avaliação da manipulação direta, geralmente os *Staphylococcus* são os escolhidos. Estes, além de bioindicadores, são também agentes etiológicos de toxinfecções alimentares (SILVA et al., 2007).

Entre as bactérias patogênicas veiculadas por carne moída destaca-se a *Listeria monocytogenes*, a qual tem a capacidade de resistir aos efeitos do congelamento, desidratação e calor (ROBERTS; BAIRD-PARKER, 1996). Além de ser capaz de se multiplicar em ambientes com baixas tensões de oxigênio, e permanecer viável em temperaturas abaixo de 3°C (ALVES et al., 2006). De acordo com Lemarc et al. (2002) é ainda tolerante ao estresse causado por baixo pH e altas concentrações de sal.

O ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) classifica a *Salmonella* na categoria de microrganismos que oferecem risco direto e grave ao produtor e consumidor de alimentos. É considerado um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos (BERSOT, 2006; FOODNET, 2006). No Brasil, a RDC 12/2001 (BRASIL, 2001) preconiza que este microrganismo deve estar ausente em 25g de amostra analisada. O gênero é conhecido pela tolerância ao congelamento, e a conservação da carne em baixas temperaturas pode permitir sua sobrevivência (BARREL, 1988; ARCHER, 2004).

Outra importante doença que pode ser veiculada pela carne e seus derivados é a campilobacteriose intestinal, zoonose de distribuição mundial. O agente etiológico dessa doença está difundido na natureza, comportando-se como agente patogênico ou como microbiota normal do trato digestório de animais domésticos e selvagens (CDC, 2005; TORTORA; FUNKE; CASE 2002).

Apesar da importância do *Campylobacter* como agente etiológico de toxinfecções alimentares e na sanidade animal, poucos estudos tem sido realizados no Brasil para verificar sua sobrevivência nos alimentos e formas de prevenção da

sua presença. Conforme Germano e Germano (2003) e Forsythe (2002) os principais veículos de transmissão de *Campylobacter* são animais portadores, água e alimentos contaminados.

Na profilaxia de patógenos em alimentos várias ferramentas vêm sendo adotadas, com parcerias entre governo, indústrias, comércio e instituições de ensino e pesquisa. Os principais programas de melhoria da qualidade seguidos pela indústria de alimentos são: o Programa Alimentos Seguros (PAS), as BPF's e BPA's (Boas Práticas de Fabricação e Boas Práticas Agropecuárias) e as Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC). Porém, muitas vezes, a natureza dos alimentos e a tecnologia de fabricação empregada dificultam os controles e, assim, o risco de cada perigo deve ser conhecido, para que medidas preventivas adicionais possam ser adotadas.

Casas de carnes são estabelecimentos de pequeno porte, e programas visando à qualidade dos alimentos, como os utilizados nas indústrias, apesar de necessários, possuem implantação mais complexa, devido à falta de recursos, conhecimento sanitário e envolvimento dos proprietários. Assim, uma análise adequada do impacto de cada fator de risco, pode sugerir educação sanitária com qualidade e eficiência.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Verificar a qualidade microbiológica e o perigo potencial do consumo da carne moída e determinar os principais fatores de risco relacionados ao local de sua produção e comercialização.

2.2. Objetivos Específicos

- Avaliar a qualidade higiênico-sanitária da carne moída bovina comercializada em todos os setores da cidade de Uberlândia-MG por meio da quantificação dos bioindicadores.
- Determinar o perigo potencial da carne moída como veículo de transmissão de doenças mediante detecção de patógenos como *Salmonella* spp, *Staphylococcus* coagulase positiva, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp;
- Utilizar a técnica de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase) como ferramenta de análise rápida para identificação de *Listeria monocytogenes*;
- Estabelecer um perfil higiênico-sanitário dos estabelecimentos produtores por meio de aplicação de uma lista de verificação de Boas Práticas de Fabricação, paralelamente à verificação das condições higiênicas dos moedores pela contagem dos bioindicadores;

3. REFERÊNCIAL TEÓRICO

A carne e os produtos cárneos são alimentos ricos em nutrientes constituindo-se em excelentes meios de cultura para uma diversidade de microrganismos. Assim, o consumo deste alimento quando contaminado é motivo de constante preocupação devido à associação a doenças (TAVARES; SERAFINI, 2006). A capacidade de sobrevivência ou de multiplicação dos microrganismos na carne bovina depende de uma série de fatores, os relacionados com o próprio alimento, chamados fatores intrínsecos, e os relacionados com as características do ambiente em que estes alimentos se encontram os fatores extrínsecos (GERMER; MOURA, 1995; FRANCO; LANDGRAF, 2003; JAY, 2005).

De acordo com Feitosa (1999) e Silva et al. (2004), as carnes e seus derivados constituem veículo potencial de contaminantes de natureza biológica, física e/ou química nas diversas fases de seu processamento, desde sua produção primária até as fases de transformação, armazenagem, transporte e distribuição para o consumo.

3.1 Principais microrganismos envolvidos em toxinfecções veiculadas por Carne Moída Bovina.

3.1.1. Grupo Coliforme e *Escherichia coli*

Os microrganismos que contaminam os produtos cárneos são amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados na água, no ar, no solo, no trato intestinal do homem e de animais, na pele, nas mãos e no trato respiratório dos manipuladores de alimentos. Também são encontrados na pele, nas carcaças de bovinos, nos utensílios e equipamentos de abatedouros e de cozinhas (JO et al., 2004; FATTORI et al., 2005; JAY, 2005).

É impossível em uma análise laboratorial identificar todos os microrganismos presentes na carne bovina moída. Dessa forma, microrganismos bioindicadores de contaminação são utilizados rotineiramente para verificar o perigo potencial que a ingestão deste alimento pode representar ao consumidor. A presença e o número destes bioindicadores fornecem informações sobre deterioração potencial, contaminação fecal, possível presença de patógenos, ou sobre condições sanitárias inadequadas no processamento, armazenamento e/ou manipulação (MOSSEL; GARCIA, 1975; JAY, 2005).

Eisel, Linton e Muriana (1997) e Jay (2005) afirmam que a qualidade e a segurança dos produtos cárneos podem ser estimadas por meio do número de bioindicadores presentes na sua microbiota. Altos níveis de bactérias mesófilas são correlacionados com a baixa qualidade e diminuição da vida útil dos produtos. Coliformes podem ser relacionados com a qualidade da matéria prima e higiene na produção, e os números de *E. coli* indicam contaminação fecal, e possível associação com patógenos entéricos como a *Samonella*.

Stopforth et al. (2006) analisaram carnes frescas, 1022 amostras provenientes de duas plantas de processamento do meio oeste americano e verificaram que as contagens de coliformes totais variaram de 1,1 a 1,8 logUFC.g⁻¹ (12,5 a 63,3UFC.g⁻¹), e as de *E. coli* de 0,8 a 1 logUFC.g⁻¹ (6,3 a 1,1 UFC.g⁻¹). Análises realizadas no estado do Paraná, em materiais colhidos na superfície de equipamentos e utensílios de abatedouros, e também em açougues, revelaram um alto nível de contaminação em moedores, embutidores e caixas plásticas. Foram verificadas contagens na

ordem de 5,38 logUFC/cm² ($2,4 \times 10^5$ UFC/cm²) para bactérias mesófilas, 3,28 log UFC/cm² ($2,0 \times 10^3$ UFC/cm²) para coliforme totais, e 2,59 log UFC/cm² ($3,8 \times 10^2$ UFC/cm²) para E. coli. Quando carnes moídas coletadas nos mesmos estabelecimentos foram analisadas, as médias de contagens foram: 4,68 logUFC/cm² ($4,8 \times 10^4$ UFC/cm²) para bactérias mesófilas, 2,55 logUFC/cm² ($3,54 \times 10^2$ UFC/cm²) para coliformes totais e 1,80 logUFC/cm² ($6,3 \times 10^2$ UFC/cm²) para E.coli (BARROS et al., 2007a).

3.1.2. *Salmonella* sp

Segundo *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, o gênero *Samonella* pertence à família Enterobacteriaceae, é um bastonete Gram negativo, não esporogênico e anaeróbio facultativo (POPOFF; LE MINOR, 2005).

De acordo com Bersot (2006), a *Salmonella* é um dos mais importantes patógenos veiculados por alimentos por estar amplamente distribuído na natureza, possuir um grande número de reservatórios, apresentarem sorotipos inespecíficos quanto ao hospedeiro, e cepas multiresistentes aos antimicrobianos. Apesar de inúmeras políticas de controle, a *Salmonella* sp continua a ser um dos principais agentes etiológicos das enfermidades transmitidas por alimentos (FOODNET, 2006).

O gênero *Salmonella* é conhecido pela tolerância ao congelamento, assim, a conservação da carne por baixas temperaturas pode permitir sua sobrevivência (ARCHER, 2004). Isso foi também comprovado por Barrel (1988) em pesquisa realizada em carne moída cozida, mistura para lingüiça, e em caldo contendo triptona de soja e extrato de levedura, artificialmente contaminados com a bactéria. O autor demonstrou a sobrevivência das cepas por mais de 10 semanas nas amostras conservadas em temperaturas que variavam entre -18°C e -20°C.

Surtos alimentares causados por *Salmonella* acontecem em todo o mundo. Noël et al. (2006) pesquisaram episódios de gastroenterite ocorridos na França, e constataram que os alimentos incriminados foram carnes suínas e bovinas. O estudo epidemiológico demonstrou que o agente etiológico foi a *Salmonella manhattan*, isolada tanto nas carnes como no abatedouro.

Conforme Eduardo et al. (2004) apesar de no Brasil não haver política pública organizada para a notificação e estudo de surtos relacionados ao consumo de

alimentos, alguns estudos são realizados neste sentido. Pesquisas do Centro de Vigilância Epidemiológica do estado de São Paulo constatou 325 surtos diarreicos ocasionados por bactérias no período de 1999 a 2003. Destes, 140 (43,1%) foram causados por *Salmonella*, sendo que, dos 74 surtos com sorotipos identificados, 68 (89,2%) foram devido à *S. enteritidis*. Levantamento realizado no Rio Grande Sul sobre a etiologia de surtos ocasionados por ingestão de alimentos contaminados apontou que 2,5% foram causados por *Salmonella* (NADVORNY; FIGUEIREDO; SCHMIDT, 2000).

Os resultados obtidos em pesquisas no Brasil, quanto à presença de *Salmonella* sp em produtos cárneos são bastante variados. Sousa e Joelle (2000) avaliaram a qualidade microbiológica de 30 amostras de carne bovina moída *in natura* no município de Macapá-AP, e não detectaram a presença da bactéria. Por outro lado, na avaliação de 50 amostras de produtos cárneos comercializados no município de Cuiabá, MT, houve isolamento de *Salmonella* sp em 26,0% (REIS; KRUGER; MACIEL, 1995). Em trabalho semelhante, Magnani et al. (2000) analisaram um total de 50 amostras de carne suína e 50 de salame colonial em Chapecó-SC determinando a presença de *Salmonella* sp em 6,0% das mesmas.

3.1.3. *Campylobacter* spp

Conforme Pelczar, Chan e Krieg (1996), *Campylobacter* é uma bactéria Gram negativa microaerófila, em forma de bacilo, curvado, fino e mótil por meio de um único flagelo polar. Necessita de baixos teores de oxigênio (5%) e elevada concentração de dióxido de carbono (SHANE, 2002). Apesar de relativamente frágil e sensível no meio ambiente, tem sido reconhecido como um importante patógeno entérico, despontando em vários países, e em especial nos Estados Unidos, como uma das principais causas de doença diarreica bacteriana, com mais episódios diarreicos que a *Shigella* sp e *Salmonella* sp juntas (CDC, 2005).

As cepas de *Campylobacter* são amplamente distribuídas em animais endotérmicos, domésticos e/ou silvestres. São prevalentes em frangos, bovinos, suínos, ovinos, e em animais de estimação, incluindo cães e gatos. A principal rota de transmissão é o consumo de alimentos contaminados, principalmente a carne de frango. A carne e os produtos cárneos podem fazer parte da cadeia epidemiológica,

e as vacas, mesmo sem evidência da doença, podem excretar o microrganismo no leite. A água contaminada não tratada também é uma fonte reconhecida de infecção (TORTORA; FUNK; CASE 2002).

A campilobacteriose é considerada uma zoonose, sendo que nos animais, *Campylobacter* raramente provoca doenças e em humanos pode atingir indivíduos de qualquer idade. Porém, as crianças menores de cinco anos e adultos entre 15 e 29 anos são mais afetados (SILVA et al., 2007; EUZÉBY, 2004).

O gênero *Campylobacter* vem se destacando como um microrganismo emergente de origem alimentar em diversas partes do mundo (AQUINO; FRANCO; TIBANA, 1995; SKIRROW, 1977; CCE, 2001). As três espécies termofílicas de *Campylobacter* de importância para a saúde humana são: *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* e *Campylobacter lari*.

Inglis, Kalischuk e Busz (2003) analisaram 380 amostras de fezes provenientes de bovinos confinados e observaram que 49% apresentavam uma nova espécie ligada aos animais hospedeiros, o *Campylobacter lanienae*. Neste mesmo estudo, 37% das amostras foram positivas para *C. jejuni*, 8% para *C. hyointestinalis* e 0,5% para *C. coli*. Os autores consideram que a contaminação pelas fezes no ambiente e a multiplicidade de espécies são responsáveis pela alta prevalência de campilobacteriose em humanos.

No Brasil Machado, Tosin e Leitão (1994) afirmam que *Campylobacter coli* é mais prevalente que *Campylobacter jejuni* em frangos. Porém, em investigação no estado do Rio de Janeiro, foi observada maior frequência de *Campylobacter jejuni* em relação à *Campylobacter coli* em frangos (AQUINO et al., 2002) Não há estudos no Brasil sobre a prevalência e espécie envolvida na contaminação de carne bovina.

Nos Estados Unidos são notificados anualmente mais de dois milhões e quinhentos mil casos de enterite por *Campylobacter jejuni*, índice que já superou os casos de salmoneloses e shigeloses (FITZGERALD et al., 2001). Provavelmente, a alta incidência é consequência da baixa dose infectante, de somente 500 células/g (FDA/USDA, 2005). Esses índices demonstram a emergência desse microrganismo como agente de toxinfecções alimentares e sua importância zoonótica.

Nos últimos anos, estudos demonstraram associação entre a prévia infecção por *Campylobacter jejuni* e o desencadeamento de duas doenças neurológicas: síndrome de Guillain-Barré (GBS) e a síndrome paralítica chinesa, também

denominada de neuropatia axonal motora, que causam degeneração dos nervos periféricos (DUIM et al., 2001).

Apesar de poucos estudos, no Brasil, tem sido relatada a presença de *Campylobacter* spp em casos de diarreia aguda ou crônica, especialmente em crianças, assim como em portadores assintomáticos (SCARCELLI et al., 2001).

Pesquisa realizada em manipuladores de alimentos de cozinha hospitalar e institucional na cidade de Florianópolis-SC, determinou positividade para *Campylobacter* sp em 2,2% e 10,5% dos manipuladores amostrados, respectivamente. Os indivíduos positivos eram assintomáticos, e os autores creditaram esta contaminação, possivelmente, ao contato com alimentos como carne de ave, suína e bovina, pois as mesmas são freqüentemente contaminadas por esse microrganismo (TOSIN; MACHADO, 1995).

Pizzolitto, Pizzolitto e Simões (2007) analisaram casos de diarreias em turistas, também conhecida como diarreia dos viajantes, na cidade de Ribeirão Preto-SP, no período de 2002 a 2005, e verificou que em 0,46% dos casos, o agente etiológico isolado foi o *Campylobacter* sp, e em 12% dos casos, os alimentos envolvidos eram carnes vermelhas.

3.1.4 *Listeria monocytogenes*

Características Gerais

Listeria monocytogenes é um microrganismo ubíquo, com capacidade de se desenvolver em condições inóspitas para outros microrganismos patogênicos podendo iniciar multiplicação em temperaturas que variam de 0 a 45°C (SKOVGAARD; NORUNG, 1989; SWAMINATHAN, 2001).

A bactéria é classificada como bastonete regular, Gram positiva, não formadora de esporos (TORTORA; FUNKE; CASE 2002). É um microrganismo anaeróbio facultativo, produtor de β -hemólise em ágar sangue de carneiro, cresce bem a uma temperatura de 35°C a 37°C e lentamente a temperaturas abaixo de 4°C. Quando crescidos a 22°C são móveis com flagelos peritríquios, exibindo movimentos “em cambalhota”, característica que é utilizada em alguns protocolos de

identificação. A maioria das cepas cresce bem entre as faixas de pH 5,6-9,6 preferindo pH alcalinos ou próximos a neutralidade (LABACVET, 2007).

Segundo Jay (2005) *L. monocytogenes* está representada por 13 sorovares, alguns dos quais são compartilhados por *L. innocua* e por *L. seeligeri*. Embora *L. innocua* esteja representada somente por três sorovares, muitas vezes esta é considerada uma variante não patogênica de *L. monocytogenes*.

O genoma foi seqüenciado e possui um cromossomo circular de 2.944.528 pb com uma média de 39 de G+C. Foram identificados 2.853 genes, no entanto 35,3% não se conhecem a função. Classificação baseado no antígeno somático (O) e flagelar (H), determinou até o momento 16 sorotipos, sendo os tipos 1/2a, 1/2b e 4b responsáveis por cerca de 30,0% dos casos da doença nos Estados Unidos.

A virulência dos espécimes está ligada à produção da listeriolisina O (FARBER; PETERKIN, 1991), uma hemolisina cuja produção é estimulada pela fagocitose. A listeriolisina O se liga ao colesterol da membrana celular promovendo a sua ruptura. Com isto, o microrganismo escapa dos fagolisossomos, persistindo e multiplicando-se dentro dos monócitos ou macrófagos não imunes (DATTA; WENTZ; RUSSEL, 1990).

A infecção por *L. monocytogenes* pode ser inaparente ou apresentar as formas clínicas de meningite e encefalite, aborto ou natimortos e septicemia. Os recém-nascidos, idosos, imunodeprimidos, mulheres grávidas, portadores de neoplasias malignas, diabéticos, doentes renais e os que utilizam glicocorticosteróides são os mais suscetíveis (CDC, 2005; FARBER; PETERKIN, 1991; THOMAS; OBEIRNE, 2000).

A listeriose é uma zoonose com grande impacto econômico e social. Os graves surtos que têm ocorrido nas últimas décadas, associados ao consumo de alimentos contaminados, atestam à importância sanitária de *L. monocytogenes* como um dos agentes bacterianos mais estudados nos últimos vinte anos. Nos Estados Unidos, estima-se que 2.500 pessoas tornam-se gravemente doentes a cada ano e, destas, 20% morrem (CDC, 2005).

São poucos os relatos de casos de listeriose humana no nosso país e nunca foram relacionados com alimentos, sendo a doença subdiagnosticada e subnotificada (DESTRO 2006). Infecções assintomáticas provavelmente ocorram em todas as idades, embora sejam de importância apenas na gravidez (SÃO PAULO, 2003). Koch e Stark (2006) relatam que na Alemanha a listeriose é uma doença de

notificação obrigatória desde 2001 e na França a partir de 1999 (GOULET et al., 2006).

L. monocytogenes em alimentos

Casos de listeriose têm sido associados ao consumo de alimentos como leite cru ou inadequadamente pasteurizado, queijos, sorvetes, vegetais crus, embutidos de carne, frango cru e cozido, carne crua e peixes crus ou defumados (VAILLANT et al., 2001; THAM et al., 2001). Norrung et al. (1999) relataram à habilidade que a *Listeria* tem de se desenvolver em temperaturas baixas (3°C), a qual permite sua multiplicação em alimentos refrigerados.

A ampla distribuição de *L. monocytogenes* se deve a capacidade de sobreviver durante períodos de tempo prolongados em diferentes meios. Por conseguinte os alimentos podem se contaminar em qualquer etapa da cadeia produtiva e no armazenamento a frio (TORRES, 2005). Os grupos de alimentos considerados de maior risco em casos esporádicos e surtos de listeriose são os produtos prontos para consumo, estocados à temperatura de refrigeração e com vida de prateleira longa (THAM et al., 2001). A concentração do microrganismo ($>1,0 \times 10^2$ UFC.g⁻¹ ou mL⁻¹) também parece ser um fator importante para a manifestação da doença (ROCOURT; COSSART, 1997).

A contaminação por *L. monocytogenes* pode ocorrer durante o fatiamento ou embalagem a vácuo de mortadela, manipulação de carne fresca e seus produtos o que propicia a sua multiplicação durante a estocagem sob refrigeração, estes estudos foram realizados por Bersot (2001) e Johnson et al. (1990), respectivamente. Em salames, a ocorrência de *L. monocytogenes* decorre da matéria prima contaminada e sobrevivência ao processo tecnológico (LATHI et al., 2001) ou devida à contaminação cruzada. Pesquisa realizada em produtos de carnes de peru, presunto e “blanquet” inteiros e fatiados verificou ausência dessa bactéria nos produtos inteiros e a alta presença desta nos fatiados, sugerindo uma manipulação inadequada dos produtos no momento do fatiamento e estocagem (ARAÚJO, 2002).

De acordo com Faber e Peterkin (1991) a *Listeria* sp pode ser isolada de carcaças em etapas de abate na medida em que os animais sadios e infectados

entram em contato. Além dos intestinos dos animais infectados serem um reservatório do microrganismo, soma-se a este fato, que o congelamento, a desidratação superficial e o resfriamento, não afetam a sobrevivência da *Listeria*.

Pesquisa realizada em abatedouro de suínos quanto à presença de *L. monocytogenes* em quatro etapas do abate com o objetivo de subsidiar a implantação do sistema APPCC, este patógeno foi detectado após as operações de evisceração e resfriamento. Isso indica que as carcaças podem ter sido contaminadas com fezes de animais sadios ou doentes durante ao abate, ou do próprio ambiente contaminado. Os autores observaram que as temperaturas de refrigeração não foram suficientes para evitar o crescimento da *L. monocytogenes* (SANTOS et al., 2005).

Silva et al. (2004) afirmam que além da patogenicidade, a *L. monocytogenes* possui capacidade de formar biofilmes. Estes microrganismos apresentam alta capacidade de colonização na superfície de utensílios e equipamentos, estabelecendo-se dentro das plantas de processamento, e com isto, há aumento da probabilidade de contaminação cruzada e ambiental (JEONG; FANK, 1994). Como a dose infectante deste microrganismo é ainda desconhecida, alguns países como os EUA (GILBERT, 1995) e o Brasil (NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2000) adotaram a ausência de *L. monocytogenes* como padrão de tolerância em alguns alimentos prontos para consumo. Segundo Jay (2005), a ICMSF parece ter concluído que, se esse microrganismo não exceder 100 UFC/g de alimento, este pode ser considerado aceitável para indivíduos que não estão sob risco (diabéticos, grávidas e etc).

Thayer (2003) realizou estudos com carnes de peru contaminadas com $3,6 \times 10^3$ UFC.g⁻¹ de *L. monocytogenes* ATCC 7644, ATCC 15313, ATCC 43256, e ATCC 49594, armazenadas a 7°C por 21 dias e submetidas à irradiação com 2kGy (quilograys). O estudo demonstrou que a bactéria não foi capaz de sobreviver em carne crua, mas desenvolveu-se em carne cozida, que mesmo irradiada, aparentemente proporcionou condições ou nutrientes para a recuperação da bactéria. Pesquisa com presunto Ibérico e Serrano artificialmente inoculado com *L. monocytogenes* e submetidos a 450 MPa (milipascal) de pressão na embalagem por 10 minutos reduziu significativamente a contaminação, sem alterações nas características sensoriais (MORALES, 2006).

Vários tipos de sanificantes e concentrações de gases foram testados contra *L. monocytogenes* por Porto e Uboldi Eiroa (2006) em alfaces. Eles concluíram que

o dicloro-isocianurato foi o que apresentou o melhor efeito de redução com 2,4 ciclos logaritmos. A concentração de gás e as temperaturas de 4°C e 15°C utilizadas não foram suficientes para eliminar o microrganismo. Para a higienização, sanitização de equipamentos, utensílios e instalações, vários produtos alcalinos são utilizados. Giotis, Blair e McDowell (2007) estudando a resistência à exposição ao stress alcalino com *L. monocytogenes* e um derivado mutante σB (sigma Beta) observou mudança em sua estrutura, efeitos estes importantes quanto à resistência.

Identificação de *L. monocytogenes* por meio da técnica de PCR

Os surtos de listeriose têm enfatizado a necessidade urgente de métodos de detecção rápida e confiável, especialmente nos alimentos o que foi evidenciado por Furrer et al. (1991) em salsichas cozidas e em leite. Eles concluíram que o sistema de amplificação do gene “haemolysin” é muito rápido e confiável em detrimento dos métodos convencionais. Além disso, os resultados podem sair em dois dias após a data de amostragem, controlando a *Listeria* nos alimentos e locais de produção, prevenção e controle da infecção humana (NORTON, 2002).

Conforme Guedes et al. (2005) a metodologia convencional utilizada no diagnóstico da *L. monocytogenes* presente nos alimentos é longa, trabalhosa e não muito sensível. A Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) é um método de elevada sensibilidade e especificidade que permite a identificação pela amplificação *in vitro* de segmentos do DNA da bactéria. Esta técnica utilizando o *primer* da sequência do gene da listeriolisina (*hlyA*) comprovou ser sensível e específica (PIATTI et al., 2004). Baldassi et al. (2005) corroboram esse fato ao demonstrarem a prevalência de *Listeria* spp. em amostras de carne de frango obtidas em abatedouros.

3.1.5. Fatores de Riscos e Medidas de Controle

A segurança alimentar é considerada tema importante para a saúde pública, e atualmente é uma prioridade da agenda política de muitos países. As razões são múltiplas, havendo uma forte sensibilização por parte dos consumidores para

exigências quanto à qualidade sensorial e segurança alimentar. Na garantia da qualidade a análise dos riscos na cadeia produtiva de alimentos é composta por três elementos: a avaliação, a gestão e a comunicação (CAHILL, 2001).

Para minimizar os riscos referentes aos possíveis perigos relacionados à qualidade dos alimentos, vários setores governamentais de âmbito internacional e nacional têm implementado legislações referentes ao assunto, tais como o *Codex Alimentarius*; o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA) e suas portarias complementares. As Portarias 326/97 do Ministério da Saúde e a 368/2000 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento que dispõe sobre as condições higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para estabelecimentos produtores e industrializadores de alimentos. O decreto 40056 de 16 de novembro de 1998 do Instituto Mineiro de Agropecuária e o Decreto 6.490/94 do Serviço de Inspeção Municipal de Uberlândia regulamentam sobre a inspeção e as condições sanitárias e higiênicas dos estabelecimentos e produtos de origem animal, em suas respectivas esferas.

Segundo a Lei 8080 (BRASIL, 1990) várias ações devem ser realizadas para diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços. Abrangendo os bens de consumo, compreendendo todas as etapas e processos que vai da produção ao consumo e a prestação de serviços que direta ou indiretamente se relacionam com a saúde. Para tal a preocupação com os alimentos de origem animal começa na produção.

No caso dos bovinos a contaminação durante o processamento promove alterações no valor nutricional e nas características sensoriais (cor, odor, sabor e textura). Além disso, etapas como sangria, esfolamento, evisceração, corte e desossa favorecem a colonização dos tecidos por microrganismos deteriorantes e patogênicos (SENAI, 2000; FRANCO; LANDGRAF, 2003). De acordo com Riedel (1992); Mendonça e Granada (1999) o índice de contaminação pode ser reduzido quando estas etapas são realizadas em condições higiênicas, de refrigeração e armazenamento adequados, com freqüente limpeza e desinfecção das instalações, equipamentos e utensílios. Uma redução do movimento do pessoal, práticas de higiene corporal, tratamento e fornecimento de água também contribuem para diminuir o índice.

Apesar de fatores como climatização no preparo das carnes e higiene dos manipuladores serem conhecidos como riscos microbiológicos aos alimentos, não é conhecido o quanto cada procedimento ou característica particular possa impactar na qualidade. O conhecimento permite o gerenciamento dos riscos de forma mais racional, assim como, na eficiente implementação de medidas de controle.

4. MATERIAL E MÉTODOS

As amostras foram adquiridas em açougues e supermercados em uma cidade de médio porte, da região sudeste do Brasil, que possui serviços de inspeção municipal e vigilância sanitária. A cidade de Uberlândia-MG possui mais de 600.000 habitantes (PMU, 2008)

As áreas de coleta foram determinadas com o auxílio do mapa da cidade e da divisão setorial, utilizada pela Secretaria Municipal de Planejamento e Meio Ambiente (SMPMA). Nos cinco setores (norte, sul, leste, oeste e centro), foram amostrados randomicamente oito bairros, e em cada um listados os estabelecimentos que comercializavam carne bovina. Dos estabelecimentos comerciais, um foi sorteado para aquisição da amostra de carne moída a ser analisada.

Adicionalmente à coleta foram listados fatores relacionados às condições higiênicas e considerados como possíveis fatores de risco para a contaminação da carne. Os dados da observação foram tabulados em um formulário padronizado (Apêndice A).

A abordagem ao comerciante para aquisição das amostras era realizada na condição de consumidor, sempre no período da manhã, entre as oito e dez horas. Era solicitada a compra de 200g de “músculo dianteiro” bovino, que é a amostragem mínima recomendada na RDC 12/01 (BRASIL, 2001). Na carne acondicionada na embalagem original era mensurada a temperatura, de acordo com procedimentos assépticos, com um termômetro a laser Instrutherm modelo TI 870. Após acondicionamento da amostra em caixa com gelo era solicitado ao comerciante, autorização para realizar um *swab* na máquina de moer.

O local escolhido para o *swab* no moedor foi a parte interna da peça de metal, que geralmente acumula resíduos e é de difícil acesso para limpeza. Para coleta, um

swab estéril, previamente umedecido em água peptonada 0,1% estéril (AP) e atritado em toda a superfície interna da peça por duas vezes, no sentido da esquerda para direita, posteriormente a moagem da carne. Após a coleta, era mergulhado em 9mL de água peptonada, e imediatamente transportado ao laboratório, onde eram efetuadas as análises.

4.1. Avaliação das Condições Físicas e Higiênico-Sanitárias dos Estabelecimentos

A avaliação de cada estabelecimento amostrado foi realizada com auxílio de um *check-list* no momento da compra. Foram avaliados 14 fatores considerados de risco na contaminação microbiana do alimento na área externa e interna do estabelecimento, na forma de armazenamento da carne (balcões frigoríficos), e apresentação e hábitos higiênicos dos manipuladores.

Cada fator foi avaliado como “satisfatório” ou “insatisfatório” e a esta última categoria, foi imputado valores de 1 a 3, de acordo com a menor ou maior importância do risco que representavam. O número 1 correspondeu a itens de menor importância e o número 3 aos fatores considerados de maior importância. A somatória dos valores designados aos fatores “insatisfatórios” foi realizada e o estabelecimento então classificado dentro de seis conceitos: excelente, ótimo, muito bom, bom, regular e ruim.

A partir dos números obtidos foram montadas tabelas de distribuição de frequências para a comparação dos resultados (BRAGA, 2007).

4.2. Análises

As 40 amostras de carne moída bovina foram analisadas quantitativamente para *Staphylococcus* coagulase positiva, coliformes totais, *Escherichia coli*, e qualitativamente, para presença/ausência de *Salmonella* spp, *Listeria* sp, *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp em 25 gramas da amostra.

Nos *swabs* realizados na máquina de moer foram quantificadas bactérias heterotróficas mesófilas, coliformes totais e *Escherichia coli*. A área delimitada foi o diâmetro interno do moedor.

4.2.1. Análise físico-química

O pH de todas as amostras foi mensurado imediatamente após a retirada da alíquota para análise microbiológica. A mensuração foi realizada em pH-metro (Digimed CD-20) previamente aferido, após homogeneização de 10g da amostra em água destilada (1:10 p/v), por meio da introdução do potenciômetro na mistura carne/água e leitura direta após cinco minutos no visor do aparelho (TERRA; BRUM, 1988).

4.2.2. Análises microbiológicas

No laboratório, as amostras foram higienizadas externamente com álcool etílico a 70% e levadas ao fluxo laminar para análise.

4.2.2.1. Quantificação de Coliformes Totais e *Escherichia coli*

Para a quantificação, procedeu-se à diluição inicial das amostras 1:10, adicionando assepticamente 25g da carne moída em 225mL de água peptonada (marca Biotrace International) 0,1% estéril (APT). A partir desta foram realizadas diluições decimais seriadas em 9mL de APT.

Foram selecionadas para plaqueamento em duplicata, as diluições 10^{-2} , 10^{-3} para a carne moída bovina e as diluições de 10^{-2} , 10^{-3} e 10^{-4} para os *swabs*. Foi utilizado para análise, o método enzimático cromogênico, o sistema Compact dry®. As análises e interpretação dos resultados foram realizadas conforme recomendação do fabricante, com incubação a 35°C por 18 a 24 horas (A.O.A.C., 2004).

Foram contadas as colônias azuis (*E. coli*) e vermelhas (coliformes totais). Após multiplicação pela recíproca da diluição, as colônias azuis foram registradas

como UFC.g⁻¹ ou UFC.mL⁻¹ (unidades formadoras de colônias por grama ou mililitro) de *E. coli*, e a soma das colônias azuis e vermelhas registradas como UFC.g⁻¹ ou UFC.mL⁻¹ de coliformes totais.

4.2.2.2. *Staphylococcus* sp

O mesmo procedimento da diluição anterior foi realizado até a diluição 10⁻³, sendo escolhidas como diluições de trabalho a de 10⁻¹ e 10⁻². De cada uma, foi pipetado 0,1mL (correspondente às diluições 10⁻² e 10⁻³, respectivamente), e inoculado em placas de Petri estéreis com Agar Baird-Parker (BP), marca DifcoTM, suplementado com emulsão de gema de ovo e telurito de potássio. As placas foram incubadas a 35°C por 48 horas (SILVA et al., 2007).

De cada placa que apresentou crescimento, foram selecionadas colônias típicas e atípicas (mínimo de três colônias para cada tipo) de SCP para identificação (BRASIL, 2003). As colônias suspeitas foram submetidas às provas de catalase, coagulase e coloração de Gram, e consideradas SCP as que apresentaram reação positiva nos três testes. Os resultados obtidos foram expressos em UFC.g⁻¹.

4.2.2.3. Contagem de bactérias mesófilas

Os *swabs* estéreis foram transportados em tubos contendo 9mL de APT (água peptonada) 0,1% estéril. Desta diluição inicial obtiveram-se as diluições de trabalho 10⁻², 10⁻³ e 10⁻⁴. De cada diluição semeou-se 1mL em placas de Petri estéreis e posteriormente adicionou-se 15mL de Agar Plate Count (PCA), marca Biotrance International, fundido e resfriado a 45°C, após a homogeneização e solidificação, as mesmas foram incubadas invertidas por 48h a 36°C (SILVA et al. 2007). Após a incubação as colônias foram contadas e o número encontrado foi multiplicado pela recíproca da diluição utilizada. Os resultados foram expressos em UFC/ moedor.

4.2.2.4. *Salmonella* sp

Para a detecção de *Salmonella* sp utilizou-se o *Salmonella* Test Kit da DupPont™ Lateral Flow Sistem™, seguindo o protocolo de 48 horas recomendado pelo fabricante. Para tal diluiu-se 25g da amostra em 225mL de água peptonada tamponada, a qual foi incubada a 36°C/24h. Após este período transferiu-se 1,0mL da cultura para 10mL do caldo TT Rajna, o qual foi incubado a 42°C/24h. Em seguida foi transferido 1,0mL da cultura do TT Rajna para um tubo e mergulhou-se a fita teste, deixando-a em repouso por 10 minutos, período após o qual foi realizada a leitura do resultado. O resultado foi considerado positivo quando foi observado o desenvolvimento de duas linhas avermelhadas na fita teste.

4.2.2.5. *Campylobacter* sp

O protocolo recomendado pela ISO 10272-1(2006) foi utilizado para a detecção de *Campylobacter* sp. O enriquecimento primário foi realizado em Caldo Bolton (Oxóide) adicionando-se 25g de carne bovina moída em 225mL do caldo. Este foi incubado a 37° ±1°C / 4-6h em microaerofilia e transferido para 42°C ± 4h. Posteriormente a cultura foi semeada em Ágar Charcoal Cefoperazona Desoxilato (CCDA), com suplemento da mesma marca (Oxóide) e incubada a 42°C/24-48h em microaerofilia. As colônias presentes foram submetidas à confirmação por meio da técnica de coloração de Gram, morfologia e motilidade ao microscópio.

4.2.2.6. *Listeria monocytogenes*

A determinação para ausência ou presença foi realizada de acordo com a ISO 11290-1 (Anônimo 1997). Para o enriquecimento primário utilizou-se 25g de carne em 225mL Caldo Demi-Fraser (Difco™) com 50% de suplemento(Difco™) e incubado por 24 horas/30°C, posteriormente para o enriquecimento secundário transferiu-se 0,1mL da amostra para 10mL de Caldo Demi-Fraser adicionado de 100% de suplemento e incubado por 48h/35°C ± 2h. Seguidamente com o auxílio da alça de platina a cultura foi semeada em ágar ALOA (Ágar *Listeria* Otaviani e

Agostini), marca BioCen do Brasil e mantidas em ágar PCA (Ágar Plat Count), marca Bio Premium e incubada de 24-48h/30°C.

As colônias suspeitas foram submetidas à análise de PCR para confirmação.

4.3. Teste de sensibilidade aos antimicrobianos

O teste de sensibilidade foi realizado de acordo com a técnica de difusão de disco proposta por KIRBY-BAUER, recomendada pelo National Commitee for Clinical Laboratory Standards. Uma suspensão das bactérias em estudo foi ajustada em solução estéril salina e comparada com o padrão de turbidez da escala nefélométrica 0,5 de Mc Farland (CLSI, 2003), o que corresponde a $1,5 \times 10^8$ bactérias/mL. Logo em seguida semeou-se em placas de cultivo contendo Ágar Müller Hinton Oxoide com pH 7,2-7,4 utilizando-se para isto um *swab*. Com uma pinça estéril aplicou-se os discos Polisensidisc DME especial impregnados contendo: penicilina 10U, tetraciclina 30mg, oxacilina 1mg, amicanina 30µg ciprofloxacina 5µg, clindamicina 2µg e sulfazotrim 25µg. Após incubação das placas a 37°C por 18 a 20h, cada halo de inibição foi lido com régua milimetrada e as bactérias testadas foram consideradas resistentes, para halos menores que 10 mm para oxacilina, ≤14mm para tetraciclina, amicacina, e clindamicina, ≤ 12 mm para sulfazotrim, ≤15mm para ciprofloxacina e ≤19mm para penicilina.

4.4. Técnica do PCR para identificação de *L. monocytogenes*

Para a obtenção do DNA genômico, de *Listeria Monocytogenes* foi realizado o seguinte procedimento: foram retiradas de uma a três colônias individualizadas de cada placa contendo o meio PCA (Plate Count Agar) e diluída(s) em 200µL de água mili-Q,. Em seguida a solução (bactéria+água) foi submetida à temperatura de 100°C por 10 minutos para lise da parede da bactéria para ser utilizada posteriormente na reação de PCR.

A reação de PCR foi otimizada para um volume final de 20µL, contendo 5µL de DNA (bactéria+água, descrito anteriormente), PCR buffer 10X; 50mM MgCl₂, 10mM de dNTPs, 1U da enzima Taq DNA polimerase, 10pmol de *primers* (senso e

anti-senso) e água estéril para completar o volume da reação. As seqüências dos *primers* utilizados são: senso (5' CAT TAG TGC AAA GAT GGA ATG 3') e anti-senso (5' GTA TCC TCC AGA GTC GA 3') que amplificam um fragmento de 730 pb do gene da listeriolisina (*hlyA*), descritos por Blais, Phillippe et al. (1995).

A amplificação das amostras foi realizada em termociclador PTC-100 da MJ Research, Inc. de acordo com o programa: um passo inicial a 80°C por 10 minutos, seguido de outro a 94°C por três e 34 ciclos a 94°C por um minuto, 55°C por um minuto e 72°C por dois minutos; um último passo para garantir a extensão a 72°C por dois minutos. Como controle negativo foi utilizado água sem a presença do alvo (DNA).

A detecção dos *amplicons* foi realizada por eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio (5mg/mL) em tampão TBE 0,5X (tris; ácido bórico e EDTA 0,5M pH 8,0), utilizou-se o marcador molecular de 100pb DNA ladder e visualizado por sistema de video documentação ImageMaster VDS, Pharmacia Biotech.

4.5. Técnica do RT- PCR para identificação de *Listeria sp*

A colônias suspeitas de pertencerem ao gênero *Listeria* foram identificadas no sistema de PCR automatizado BAX® System da DuPont. A técnica utilizada foi o RT-PCR (transcriptase reversa), e o protocolo realizado conforme recomendação do fabricante. A colônia suspeita foi repicada em caldo BHI (infusão de cérebro de coração), e incubada a 30°C por 24 horas. Após, foi diluída (1:10) em água peptonada, e desta solução, 0,1mL foi adicionado aos tubos com meio de recuperação que acompanha o kit, e incubado a 30°C±1°C por 4 horas. Em paralelo, 0,1mL desta solução foi estriada em ágar nutriente para comprovar a viabilidade da cepa.

Para análise no BAX System, 1mL da cultura foi adicionada a 50µL do agente I, e adicionado 20µL do agente II. A mistura foi homogeneizada em vortex e incubada a 37°C±1°C por 35 minutos. Após incubação, 10µL foi pipetada em 200µL do tampão, e após homogeneização em vortex, 30µL foi transferido para os tubos de PCR, tampados com as tampas ópticas e levados ao termociclador. O DNA amplificado gera um sinal fluorescente que é interpretado pelo sistema e os resultados como

símbolos positivos ou negativos e na forma de gráficos são visualizados na tela do computador ao final de até 3 horas. No gráfico as curvas de fusão de controle interno são representadas por um primeiro pico na faixa 78°C - 80°C e a positividade das amostras é evidenciada por uma segunda curva de fusão em 80°C - 85°C (USER'S GUID,2000).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Práticas de higiene inadequadas na obtenção da matéria prima, no transporte, armazenamento, comercialização e manipulação dos alimentos, assim como, a presença de manipuladores portadores assintomáticos de bactérias como *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *E. coli* podem resultar em sérios problemas para a saúde pública (SILVA, 2000, GERMANO; GERMANO, 2003).

A estocagem e a manipulação dos produtos cárneos nos estabelecimentos varejistas podem apresentar situações que possibilitam a introdução ou o aumento de perigos nos alimentos, em especial os de origem biológica. São comuns toxinfecções alimentares que tiveram origem nestas etapas, especialmente devido à manipulação incorreta e a deficiência na temperatura de armazenamento dos produtos (SIGARINI, 2004).

Neste estudo, a avaliação do *check list* sobre as condições de risco observadas nos estabelecimentos varejistas de carnes amostrados, demonstrou que 100% mantinham as carnes sob refrigeração em balcões frigoríficos. Entretanto, foi verificado um excesso de produtos distribuídos no interior dos mesmos, fator que pode favorecer a contaminação cruzada. A aferição das temperaturas das amostras indicou em somente 2,5% (1/40), temperatura inferior a 4°C, que é a recomendada pela (BRASIL, 2003; BRASIL, 2004). Esses resultados são similares aos obtidos por Porter (2002) o qual avaliou 80 amostras em açougues do sul do Rio de Janeiro constatando que 66,53% também se apresentavam superiores à estabelecida pela portaria 304 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1996), na qual dispõe que a temperatura máxima de recepção da carne bovina no comércio varejista é 7°C. As temperaturas mensuradas no momento da coleta, das amostras dos diferentes estabelecimentos podem ser observadas na Tabela 1.

A análise de variância mostrou que há diferença significativa entre os setores. O teste de médias (teste de Tukey) mostra que estatisticamente não há diferença significativa entre centro, leste e sul e também entre norte e oeste, mas há diferença entre os dois grupos formados. A maior diferença ($P<0,01$) verificada foi entre as temperaturas médias das carnes coletadas nos setores Oeste e Centro (8,62), sendo que o primeiro apresentou as maiores temperaturas por amostra.

Tabela 1 - Temperatura das amostras de carne moída bovina no momento da coleta, em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

Amostra Setor	TEMPERATURAS (°C)				
	Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro
1	15,8	16,5	12	21,5	15,4
2	20	10,5	18,1	23,2	3,9
3	19,1	12,2	11,5	17,3	11,8
4	22,7	9,6	17,2	17,7	11,8
5	15,8	12,8	10,5	24	18,8
6	14,3	17,1	10,8	20,2	12,1
7	17,8	16,2	10,5	23	15,8
8	24,3	14,3	15,8	22,6	13,6
MÉDIA	18,7±3,61^B	13,6±2,91^A	13,3±3,31^A	19,9±2,69^B	12,9±4,43^A
MÍNIMA	14,3	9,6	10,5	17,3	3,9
MÁXIMA	24,3	17,1	18,1	23,2	18,8

Médias de temperaturas seguidas de mesma letra A não diferem entre si pelo teste de tukey.

Elevadas temperaturas nas carnes armazenadas podem indicar ineficiência de funcionamento dos equipamentos (MÜRMANN, 2005), ou excesso de produtos no interior dos balcões, fato que foi observado neste estudo. Isso dificulta uma circulação de ar homogênea, e conseqüentemente, resulta em deficiência na distribuição do frio. A temperatura inadequada na manutenção da carne pode acontecer em toda cadeia de frio, desde o resfriamento das carcaças logo após o abate, continuando no transporte e manipulação, refletindo na temperatura de exposição dos cortes para a venda (ROÇA, 2000). O autor recomenda que o armazenamento de carnes em temperatura adequada seja indispensável para garantir uma maior vida de prateleira. Mesmo após inspeção de acordo com as técnicas mais modernas, quando a temperatura é elevada pode haver perdas significativas na qualidade dos cortes em razão da estocagem.

O pH medido nas amostras de carnes mostrou variação de 5,5 a 6,6. Estes extremos foram determinados em amostras coletadas em estabelecimentos localizados nos setores Oeste e Leste respectivamente. O pH no músculo do animal vivo é de aproximadamente 7,0. Na carne fresca, segundo diferentes autores há variações aceitáveis: PRICE; SCHWIGERT (1975) citam valores entre 5,3 e 6,5; FORREST et al. (1979) entre 5,3 e 5,6 e LUCHIARI (2000) indica valores entre 5,6 e 5,8. Neste estudo 97,7% das amostras apresentavam pH dentro das faixas recomendadas por esses autores. Os valores de pH mensurados por setor amostrado estão dispostos na Figura 1.

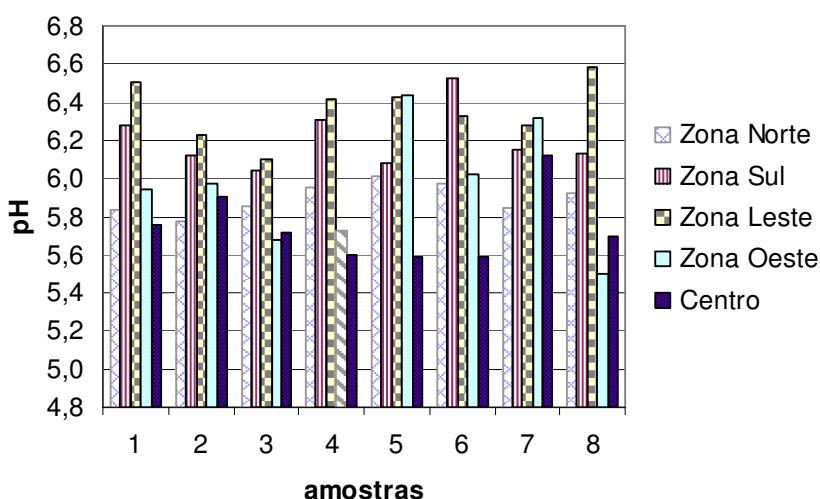


Figura 1 - pH da carne moída bovina, em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

Os coliformes totais e termotolerantes são os microrganismos mais utilizados como bioindicadores em alimentos. A *Escherichia coli* é considerada a espécie mais adequada para avaliar a contaminação fecal, enquanto que a presença e número de coliformes totais indicam as condições higiênicas (SILVA et al., 2007). A legislação brasileira para alimentos comercializados (RDC n° 12/2001), não preconiza parâmetros para contagens destes microrganismos em carne bovina *in natura* (BRASIL, 2001), entretanto optou-se neste estudo pela verificação dos mesmos objetivando avaliar as condições higiênico-sanitárias do produto, dos equipamentos e da manipulação.

Todas as amostras analisadas apresentaram contagens para coliformes totais. Destas, 57,5% variaram entre 10^3 a 10^5 UFC.g⁻¹, sendo a maior incidência

proveniente do setor central, o qual apresentou todas as amostras nesta faixa. Somente uma amostra teve contagem maior que 10^5 UFC.g⁻¹, sendo está advinda do setor leste (Tabela 2). Segundo Oliveira, Nascimento e Fiorini (2002) as altas contagens de coliformes podem causar problemas ao consumidor. Os resultados encontrados neste estudo foram maiores (70%) para contagens até 10^4 UFC.g⁻¹, e menores (2,5%) para contagens acima de 10^5 UFC.g⁻¹, em comparação aos valores obtidos por Pigatto e Barros (2003), que encontraram 13,3% abaixo de 10^4 e 86,6% acima de 10^5 UFC.g⁻¹ analisando 60 amostras de carne moída de açougues em Curitiba PR. Os referidos autores sugerem que tais contagens são conseqüentes de má manipulação.

Alta contagem de coliformes totais não é necessariamente indicativa de perigo para a saúde. Porém, sinaliza para inadequação quanto aos processos de manipulação, higienização ou quebra na cadeia de frio e o possível encontro de patógenos (ROÇA, 2000; GERMANO; GERMANO, 2001). Isso está em acordo com o observado no setor Oeste, que apresentou uma distribuição de *E. coli* muito semelhante à contagem de coliformes totais.

Tabela 2 - Frequência de distribuição por intervalo de contagem (UFC.g⁻¹) de coliformes totais em carne moída coletada em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

UFC.g ⁻¹ Setor	COLIFORMES TOTAIS					
	Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro	Total (%)
10^2 ┤ 10^3	3	5	3	5	0	16 (40,0)
10^3 ┤ 10^4	3	1	4	1	3	12 (30,0)
10^4 ┤ 10^5	2	2	0	2	5	11 (27,5)
10^5 ┤ 10^6	0	0	1	0	0	1 (2,5)
Total	8	8	8	8	8	40 (100)

Todas as amostras apresentaram contagem para *E. coli*, resultados similares foram obtidos Silva, Sousa e Sousa (2004) na cidade de João Pessoa – PB em carne moída comercializada em supermercados, açougues e feiras livres. A distribuição entre os diferentes setores para contagem de *E. coli* foram semelhantes entre o intervalo de $<10^2$ a 10^4 UFC.g⁻¹. Somente duas amostras, uma proveniente do setor norte e outra do sul apresentaram contagens superiores a 10^4 UFC.g⁻¹ (Tabela 3).

Tabela 3 - Frequência de distribuição por intervalo de contagem (UFC.g⁻¹) de *E. coli* em carne moída coletada em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

UFC.g ⁻¹	<i>Escherichia coli</i>					
Setor	Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro	Total (%)
< 10 ²	2	3	6	3	6	20 (50,0)
10 ² 10 ³	3	2	2	3	1	11(27,5)
10 ³ 10 ⁴	2	2	0	2	1	7 (17,5)
10 ⁴ 10 ⁵	1	1	0	0	0	2 (5,0)
Total	8	8	8	8	8	40 (100)

Petri, Antunes e Saridakis (1989) avaliando 193 amostras de carne moída e quibe cru encontraram 93,78% de *E. coli*, sendo que 8,84% apresentaram algum sorogrupo de EPEC (*E.coli* enteropatogênica). Das amostras de carne moída em 7,2% foram evidenciados os sorogrupos O26, O19 e O125. A presença de *E. coli* em alimentos indica que houve contato recente com material fecal, e pode estar associada à presença de diferentes microrganismos patogênicos que oferecem riscos, como a *Shigella*, *Vibrio* e *Salmonella* (JAY, 2005).

A maioria das pesquisas realizadas para determinação de bioindicadores utiliza-se de metodologias tradicionais, entretanto, devido à necessidade por resultados mais rápidos, métodos alternativos vem sendo utilizados. Casarotti, Paula e Rossi (2008) comparando a metodologia tradicional com o sistema Compact dry® em carne moída bovina, demonstraram que os métodos são equivalentes. Por serem mais simples e práticos podem ser usados como alternativas viáveis sem comprometer a confiabilidade e a sensibilidade.

Apesar da *Salmonella* sp ser um dos microrganismos mais incriminados na contaminação da carne bovina, segundo Jay (2005) esta não representa a principal fonte de disseminação deste microrganismo, e sim, os produtos de origem avícola e suínica. Concordando com esta afirmativa em nenhuma das amostras analisadas foi detectada sua presença, portanto, foram consideradas satisfatórias segundo a RDC 12/2001 (BRASIL, 2001).

No presente estudo, somente uma amostra (2,5%) acusou a presença de *Staphylococcus* coagulase positiva, com contagem de 3,1x10⁴ UFC.g⁻¹, sendo esta procedente do setor Leste. Porém, 97,5% (39/40) apresentaram contagens para *Staphylococcus* coagulase negativa - SCN, com contagens variando de 10² UFC.g⁻¹

a 10^4 UFC.g⁻¹. O setor norte foi a região que apresentou maior número de amostras com altas contagens (Tabela 4).

Tabela 4 - Frequência de distribuição por intervalo de contagem (UFC.g⁻¹) de *Staphylococcus* sp. em carne moída coletada em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

UFC.g ⁻¹	<i>Staphylococcus</i> sp.					
	Setor	Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro
10^2 - 10^3		0	5	0	4	1
10^3 - 10^4		3	3	7	4	4
10^4 - 10^5		2	0	1	0	3
10^5 - 10^6		3	0	0	0	0
Total		8	8	8	8	8
						40 (100)

Kloos e Schleifer (1975) afirmam que espécimes de SCP são produtoras de uma série de enzimas e toxinas freqüentemente implicadas na etiologia de intoxicações alimentares no homem. A maioria dessas é produzida no alimento em quantidades suficientes para causar toxinfecção, quando as contagens do microrganismo são maiores ou iguais a 10^5 a 10^6 UFC.mL⁻¹ (SU; WONG, 1997); 10^4 a 10^8 UFC.g⁻¹ (CARMO; BERGDOLL, 1990); ou até 10^3 UFC.g⁻¹ (CARMO et al., 2002). O número mínimo de microrganismos é dependente do espécime envolvido, das condições intrínsecas do alimento, e das relacionadas ao ambiente. Considerando que o crescimento e produção de toxinas estafilocócicas encontram-se na faixa de pH de 4,2 e 9,3 e atividade de água mínima de 0,85 (SILVA et al., 2007), a amostra proveniente do setor Leste pode causar risco ao consumidor.

Não existe padrão na legislação brasileira para contagens de *Staphylococcus* sp em carne moída. Apesar de usualmente, SCN não constituírem objeto de importância na epidemiologia das intoxicações estafilocócicas, pesquisas alertam sobre a necessidade de averiguação sobre a patogenia de espécies não produtoras de coagulase (PEREIRA; CARMO; PEREIRA, 2001). Xavier e Joel (2003) avaliaram carne bovina e confirmaram que 100% das amostras foram confirmadas para *Staphylococcus* sp. Altas contagens de SCN também foram observadas por Braga (2007) ao se avaliar massas cruas de quibe, que contém a carne moída bovina como ingrediente. O autor encontrou contagens variando de 10^4 a 10^6 UFC.g⁻¹, porém em um maior número de amostras (71%), que as observadas neste estudo (22,5%).

Estudos têm demonstrado que alguns espécimes de SCN também possuem a capacidade de produzir enterotoxina em meio de cultivo laboratorial (NANU; NARAYAN, 1992; VERNZOY-ROZAND et al., 1996; LI, CHENG, 1997). Dessa forma, a presença de SCN em altas contagens, como as determinadas em algumas amostras deste estudo, pode representar risco de ingestão de enterotoxinas.

A contagem de bactérias mesófilas é utilizada como indicador geral de populações bacterianas em alimentos e superfícies, avaliando a qualidade do produto, práticas de manufatura, das matérias primas, condições de processamento, manipulação e vida de prateleira (SILVA et al., 2007). Os resultados das contagens de mesófilos realizadas nos moedores evidenciaram que 35% (14/40) dos equipamentos amostrados apresentaram contagens maiores que 10^7 UFC (Tabela 5). Desses, 100% foram provenientes do setor Norte, evidenciando deficiência na higienização dos mesmos.

Tabela 5 - Frequência de distribuição por intervalo de contagem (UFC/moedor) para mesófilos em máquina de moer carne em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

UFC/moedor Setor	MESÓFILOS					Total (%)
	Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro	
10^4 - 10^5	0	0	0	0	2	2 (5)
10^5 - 10^6	0	0	2	4	1	7 (17,5)
10^6 - 10^7	0	5	4	3	5	17 (42,5)
$> 10^7$	8	3	2	1	0	14 (35)
Total	8	8	8	8	8	40 (100)

As contagens de coliformes totais realizadas nos equipamentos demonstraram que 37,5% das máquinas apresentaram contagens acima de 10^6 UFC (Tabela 6). O setor norte apresentou 100% das coletas com estas contagens, coincidindo com os resultados das contagens de mesófilos.

Tabela 6 - Frequência de distribuição por intervalo de contagem (UFC/moedor) de coliformes totais em máquina de moer em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

UFC/moedor	Setor	COLIFORMES TOTAIS					Total (%)
		Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro	
10^2 - 10^3		0	0	0	3	1	4 (10)
10^3 - 10^4		0	0	0	0	1	1 (2,5)
10^4 - 10^5		0	1	4	5	2	12 (30)
10^5 - 10^6		0	4	2	0	2	8 (20)
$> 10^6$		8	3	2	0	2	15 (37,5)
Total		8	8	8	8	8	40 (100)

As condições higiênicas dos açougues nem sempre são satisfatórias, podendo apresentar contaminação por coliformes, proveniente dos operadores no manuseio, matéria-prima contaminada, ou por limpeza deficiente dos equipamentos (MENDONÇA; GRANADA, 1999).

Todas as amostras provenientes dos equipamentos foram positivas para *E. coli*, sendo 50% (20/40) com contagens acima de 10^4 UFC/moedor (Tabela 7). Parte da carga microbiana possivelmente foi transferida para a carne no momento da moagem, influenciando nas contagens obtidas.

Tabela 7 - Frequência de distribuição por intervalo de contagem (UFC/moedor) de *E. coli* em máquina de moer em estabelecimentos varejistas de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

UFC/moedor	Setor	<i>E. coli</i>				Total (%)
		Norte	Sul	Leste	Oeste	
$<10^2$		0	1	0	0	6 (17,5)
10^2 - 10^3		0	0	5	0	6 (15,0)
10^3 - 10^4		4	1	1	0	7 (17,5)
10^4 - 10^5		0	4	2	4	10 (25,0)
10^5 - 10^6		4	2	0	4	10 (25,0)
Total		8	8	8	8	40 (100)

Em relação à área interna dos estabelecimentos visitados, todos apresentaram boas condições de infra-estrutura de acordo com o *chek-list* aplicado (Apêndice 1). Porém, a conservação de equipamentos e utensílios foi considerada insatisfatória em 60% e 65% dos estabelecimentos, respectivamente (Figura 2).

Considerando o item “apresentação pessoal” do fator manipuladores, em 72,5% dos estabelecimentos foram encontradas irregularidades quanto ao uso de adornos, presença de barba, unhas cortadas e esmaltadas, e uniformes incompletos

e sujos. Desses, cinco açougues, situados no setor Oeste, apresentaram-se em conformidade para tal atributo avaliado.

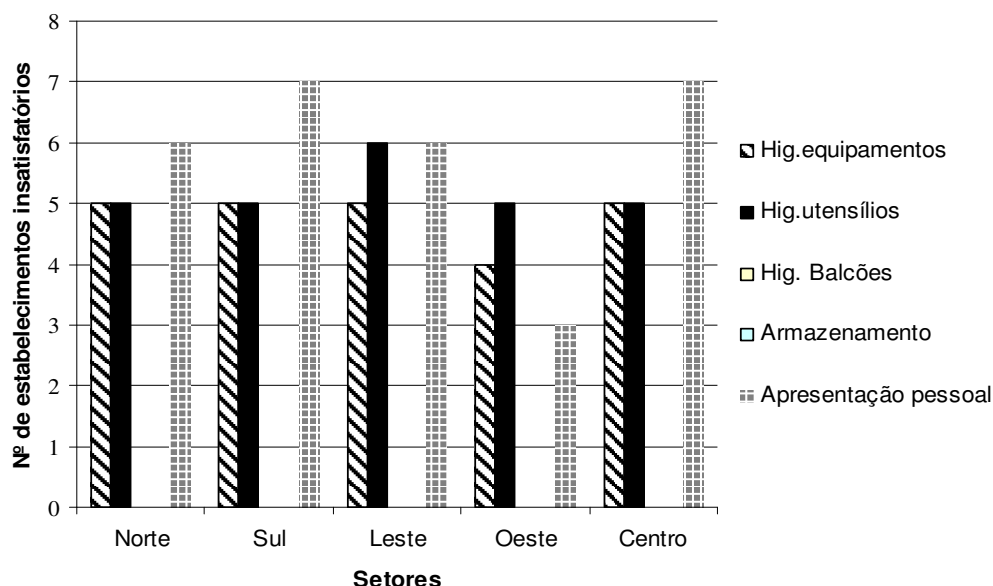


Figura 2 – Número de estabelecimentos por setores, considerados insatisfatórios para fatores de maior importância de risco (I=3) para contaminação de carne moída bovina comercializada no período de janeiro a março de 2008 na cidade de Uberlândia-MG.

Os setores norte e sul apresentaram condições insatisfatórias quanto ao item manipuladores em 75,0% e 87,5% dos estabelecimentos, respectivamente. Também tiveram contagens de bactérias mesófilas nos equipamentos superiores a 10^6 UFC, e maior número de amostras com altas contagens de coliformes totais. Provavelmente, estas altas contagens são conseqüentes do desacordo observado, já que as características avaliadas propiciam ambientes favoráveis à colonização e multiplicação de microrganismos, e sua posterior transferência à carne.

Os conceitos atribuídos aos estabelecimentos amostrados conforme o *check list* realizado podem ser visualizados na Tabela 8. Dos 40 avaliados, 2,5% (1/40) foi classificado como: “excelente”, 15% (6/40), “Ótimo”, 27,5% (11/40), “Muito bom”, 42,5% (17/40), “Bom” e 10% (4/40) como “Regular”. Nenhum estabelecimento foi considerado como “Ruim”. Estes conceitos são semelhantes aos obtidos por Braga (2007), que utilizou a mesma classificação para avaliar estabelecimentos que comercializavam massa de quibe, na mesma cidade.

Tabela 8 Conceitos obtidos, quanto às condições higiênico-sanitárias, pelos estabelecimentos que comercializam carne moída em de diferentes setores geográficos da cidade de Uberlândia-MG, durante os meses de janeiro a março de 2008.

Conceitos Setor	Norte	Sul	Leste	Oeste	Centro	Total N/(%)
Excelente	1	0	0	0	0	1 (2,5)
Ótimo	1	1	0	2	2	6 (15,0)
Muito Bom	0	3	3	3	2	11 (27,5)
Bom	5	3	4	1	4	17 (42,5)
Regular	1	1	1	2	0	5 (12,5)
Ruim	0	0	0	0	0	0
Total (N)	8	8	8	8	8	40 (100)

O setor Norte apresentou o único estabelecimento classificado como excelente. Este estabelecimento funciona como açougue e distribuidor, possui responsável técnico, e está registrado no Serviço de Inspeção Municipal. Porém, os resultados das análises realizadas neste estabelecimento, não demonstraram melhor qualidade microbiológica, quando foram comparadas às realizadas nos estabelecimentos que receberam menor conceito.

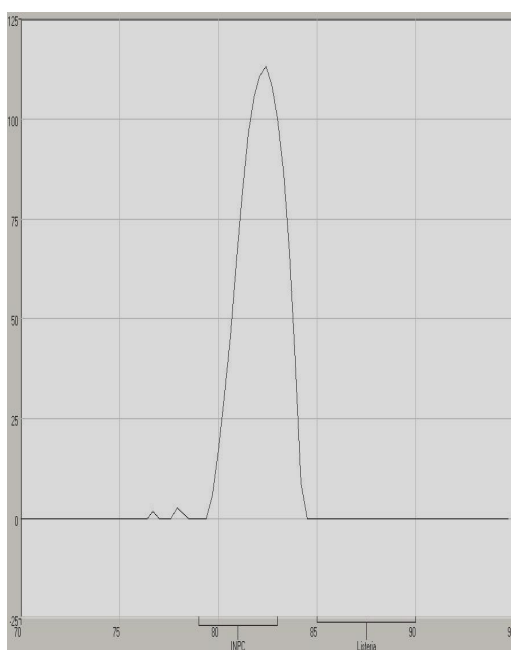
As pesquisas publicadas sobre incidência ou prevalência de *Campylobacter* em alimentos são em sua maioria, realizadas em alimentos de origem Láctea e avícola. Kramer et al. (2000) pesquisaram a prevalência de *Campylobacter jejuni* e *C. coli* em carne fresca bovina e de frango, fígado suíno, e em isolados de humanos, e detectaram que 73,2% das 489 amostras examinadas estavam contaminadas. A carne de frango exibiu a mais elevada taxa de contaminação (83,3%), seguida da carne ovina (72,9%), suína (71,7%) e bovina (54,2%). *C. jejuni* predominou em carne de frango (77,3%), ovina (75%) e em fígado bovino (49%). Dos isolados humanos, 89,3% foram identificados como *C. jejuni* e 10,7% de *C. coli*.

Nas carnes moídas bovinas analisadas neste estudo, a presença de *Campylobacter sp* foi detectada em 32,5% (13/40) das amostras, porcentagem ligeiramente inferior à incidência determinada em carne bovina fresca por Kramer et al. (2000). Tosin e Machado (1995) atribuem a contaminação de alimentos por *Campylobacter* à matéria prima e/ou manipuladores assintomáticos. Provavelmente, esta é também, a causa da contaminação das carnes moídas analisadas.

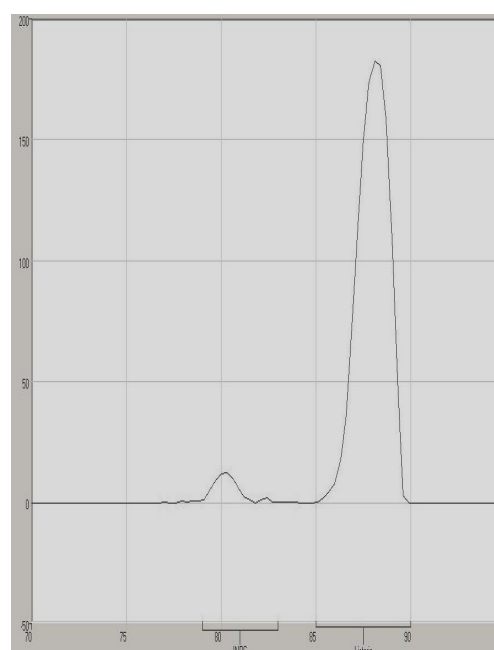
Segundo Eifert et al. (2000) o crescimento de *Campylobacter* não é observado em pH inferior a 5,1, além disso, Germano e Germano (2003) citam que o mesmo sobrevive melhor em alimentos refrigerados do que nos congelados e em

atividade de água maiores do que 0,97 (SENAI, 2000), condições estas observadas neste estudo. Esses mesmos autores mencionam que as ingestões de 500 a 800 células bacterianas são suficientes para causar doença. Entretanto a prevenção da possível patologia pode ser realizada por meio de aquecimento a temperaturas acima de 50°C (FORSYTHE, 2002; GERMANO; GERMANO, 2003; SENAI, 2000).

O ágar de cultivo diferencial Otaviani e Agostini (ALOA) utilizado para o isolamento de *Listeria monocytogenes* mostrou-se adequado para identificação do gênero, porém não da espécie. Colônias típicas, azul-esverdeadas rodeadas por um halo de lipólise não foram confirmadas como *L. monocytogenes* na análise de PCR. Porém, foram identificadas pelo RT-PCR (transcriptase reversa) como pertencentes ao gênero *Listeria* em 95% (38/40) dos casos. A Figura 3b esta demonstrando a amplificação do DNA na temperatura de anelamento característica do gênero, portanto positiva e a figura 3a de uma amostra negativa. Das amostras identificadas como do gênero *Listeria* pelo RT-PCR, 15,8% (6/38) foram confirmadas como *L. monocytogenes* pela técnica do PCR (Figura 4).



3a - Negativo



3b - Positivo para *Listeria* sp (85-90°C)

Figura 3 a- b Temperatura de anelamento característico do gênero *Listeria* utilizando a técnica RT-PCR

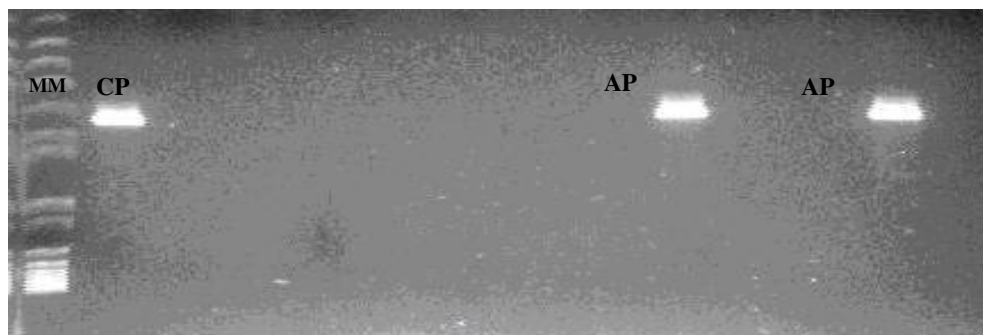


Figura 4 - Reação de PCR. MM - Marcador molecular; CP - Controle positivo; AP - amostra positiva.

Os resultados obtidos são parecidos com os encontrados por Sireli e Erol (1999) em amostras de carne moída bovina na qual a incidência de *Listeria* spp, foi de 97% e de *L. monocytogenes* 28%. Yucel et al. (2005) também evidenciaram uma alta ocorrência de *Listeria* spp. em carne moída crua (86,4%) e Mantilla et al. (2007) detectou que 50% (15/30) apresentaram contaminação por *Listeria* spp sendo duas (6,7%) positivas para *L. monocytogenes*.

Apesar de não ter sido realizado neste trabalho a pesquisa de *Listeria* sp em equipamentos, estudos demonstram a capacidade deste microrganismo de se aderir e multiplicar em várias superfícies, formando biofilmes resistentes a agentes de desinfecção (BARROS et al. 2007b). Considerando as altas inadequações observadas quanto à higiene e conservação dos equipamentos e utensílios, pode-se sugerir possível formação de biofilme proporcionando a contaminação cruzada da carne moída analisada.

Partindo-se da relevância da listeriose em saúde pública e da gravidade da manifestação clínica, fazem-se necessário uso adequado de agentes antimicrobianos, a fim de se combater afecções causadas por tal agente. Entretanto, é importante se considerar a resistência das bactérias aos agentes antimicrobianos, de modo que se possa utilizar um antibiótico adequado. Dessa forma, esta representada na Tabela 10 o teste de sensibilidade antimicrobiana realizado para *Listeria* sp e *L. monocytogenes*.

Tabela 10 - Perfil de sensibilidade aos antimicrobianos determinados para espécimes de *Listeria* sp e *Listeria monocytogenes* isolados de carne moída bovina coletada em estabelecimentos comerciais de Uberlândia-MG, entre janeiro a março de 2008.

Antimicrobianos	<i>Listeria</i> sp			<i>Listeria monocytogenes</i>		
	*R (%)	*I (%)	*S (%)	*R (%)	*I (%)	*S (%)
Oxacilina	29 (90,6)	0	3 (9,37)	5 (83,33)	0	1 (16,66)
Tetraciclina	6 (18,75)	1 (3,12)	25 (78,12)	1 (16,66)	0	5 (83,33)
Penicilina	12 (37,5)	0	20 (62,5)	0	0	6 (100,00)
Amicacina	7 (21,87)	0	22 (68,75)	1 (16,66)	0	5 (83,33)
Ciprofloxacina	1 (3,12)	4 (12,5)	28 (87,5)	0	0	6 (100,00)
Clindamicina	28 (87,5)	2 (6,24)	2 (6,24)	3 (50)	2 (33,33)	1 (16,66)
Sulfazotrim	10 (31,2)	1 (3,12)	21 (65,62)	0	0	6 (100,00)

* R – Resistente; I – Intermediária; S – Sensível.

Segundo Roberts et al (1996) o gênero *Listeria* apresenta susceptibilidade uniforme aos antimicrobianos utilizados contra bactérias Gram positivas. Alguns autores citam que *Listeria* pode ser refratária aos mecanismos bactericidas de muitos antimicrobianos, por ser intracelular e usar esse mecanismo para multiplicar-se e proteger-se (CRESPO, 2003).

O resultado do antibiograma realizado apresentou que 90,6% de *Listeria* sp eram resistentes à oxacilina, 87,5% à clindamicina e 37,5% à penicilina. Os antimicrobianos mais efetivos quanto à inibição do crescimento foram ciprofloxacina (87,5%) e tetraciclina (78,12%). Dos seis espécimes encontrados de *L.monocytogenes*, 83,3% apresentaram resistência à oxacilina, 50% à clindamicina, e 100% mostrou-se sensível à penicilina, ciprofloxacina e sulfazotrim. Este resultado é inferior ao encontrado por Kasnowski (2004) em carne bovina (alcatra) inteira e moída, a qual encontrou 81,25% de resistência à clindamicina e 100% à oxacilina e penicilina.

Considerando a alta incidência de *Listeria* sp encontrada nessa pesquisa, sugere-se estudos mais aprofundados sobre a possível inclusão de tal microrganismo na legislação brasileira vigente referente a padrões de qualidade microbiológica de alimentos, com o objetivo de se ter um maior controle e monitoramento dos produtos.

6. CONCLUSÃO

- A carne moída comercializada na cidade de Uberlândia oferece risco ao consumidor por apresentar elevadas contagens de bioindicadores, e presença de patógenos causadores de doenças alimentares. Independente do setor geográfico.
- As contagens dos bioindicadores coliformes totais e *E. coli* estavam elevadas em todas as amostras de carne e nos moedores, indicando condições higiênicas insatisfatórias. A presença de *Listeria* sp em 95% das amostras confirma o problema sanitário.
- Embora os estabelecimentos avaliados de acordo com a lista de verificação tenham sido avaliados em 85% entre ótimo, muito bom e bom, as altas contagens de bioindicadores reforçam a necessidade de melhoria nas práticas higiênicas dos estabelecimentos e seus manipuladores.
- A utilização das técnicas moleculares, RT-PCR e PCR mostraram-se eficientes e rápidas para a identificação de *Listeria* sp e *L. monocytogenes*. A rapidez e confiabilidade dos testes diminuem etapas realizadas nos métodos tradicionais, e permite o emprego de medidas preventivas e corretivas de forma mais eficientes.
- Não há padrões microbiológicos na RDC 12 de 02/01/2001 para patógenos alimentares como a *Listeria monocytogenes* e *Campylobacter* sp na carne moída. Isto dificulta conhecer o real perigo que estes alimentos representam aos consumidores, já que de forma geral, somente os microrganismos para os quais existem padrões são regularmente analisados. Adicionalmente, sem padrões, há dificuldade para decidir o destino dos produtos em que a contaminação é comprovada. Assim, consideramos que é necessária uma revisão da legislação vigente.

REFERÊNCIAS

ALVES, V. F.; MARTINEZ, R. C. R.; LAVRADOR, M. A. S.; DE MARTINIS, E. C. P. Antilisterial activity of lactic bacteria inoculated on cooked ham. **Meat Science**, v.76, p.623-627, 2006.

ANÔNIMO Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs - Horizontal Method for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. Part1. **Detection Method. International Standard ISO 11290-1**. Geneva: International Organization for Standardization, 1997.

AQUINO, M. H. C., FRANCO, R. M., TIBANA, A. *Campylobacter jejuni* na avicultura: importância e método de controle. **Higiene Alimentar**. v. 9, n. 36, p. 17-19, 1995.

AQUINO, M. H. C. et al. Frequency of Isolation and Identification of Thermophilic *Campylobacters* from Animals in Brazil. **The Veterinary Journal**, v.164, n.2, p.159-161, 2002. Disponível em: <<http://www.idealibrary.com>>. Acesso em: 25 set. 2007.

ARAÚJO, P. C. C.; FRANCO, R. M.; OLIVEIRA, L. A. T.; CARVALHO, J. C. A.P. Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em produtos de carne de Peru comercializados na cidade de Niterói-Rj - Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.30, n.1, p.19- 25, 2002.

ARCHER, D. L. Freezing: underutilized food safety technology? **International Food of Microbiology**, v.9, p.127-129, 2004.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS. **Official methods of analysis of the Association of Office Analytical Chemists**. 15.ed., Washington, 1015 p., 1995.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS. **Research Institute hereby certifies that the performance of the test kit designated as: Compact Dry**. December, 2004.

ATASSANOVA, V.; MEINDL, A.; RING, C. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and staphylococcal enterotoxin raw pork and uncooked smoked ham – a comparison of

classical culturing detection and RFLP – PCR. **International Journal of Food Microbiology**, v.68, p.105-113, 2001.

BALDASSI, L.; PIATTI, R. M.; ROJAS M. V. R.; CALIL, E. M. B. Prevalência de *Listeria* spp em abatedouros do estado de São Paulo. **Higiene Alimentar**, v.19, n. 130, p.81-84, 2005.

BARREL, R. A. E The survival and recovery of *Salmonella thyphimurium* phage type U 285 in frozen meats and tryptone soya yeast extract broth. **International Journal of Food Microbiology**, v.6, p.309-316, 1988.

BARROS, M. A. F.; NERO, L. A.; MONTEIRO, A. A.; BELOT, V. Identification of main contamination points by hygiene indicator microorganisms in beef processing plants. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n.4, p.856-862, 2007a.

BARROS, M. A. F. et al. *Listeria monocytogenes*: Occurrence in beef and identification of the main contamination points in processing plants. **Meat Science**, v.76, n.4, p. 591-596, aug. 2007b.

BERSOT, M.; LANDGRAF, M.; FRANCO, B. D. G. M.; DESTRO, M. T. Production of mortadella: behavior of *Listeria monocytogenes* during processing and storage conditions. **Meat Science**, v.57, n.1, p.13-17, jan., 2001.

BLAIS, W.; PHILLIPPE, L.M.; BURZYNSKI, M.; BIELECKI, J. Applicability of the PCR technique in the food testing laboratory: Identification of *Listeria monocytogenes*. **Journal Biotechnology Technique**, n.9, Sep, 1995.

BLAIS, W.; PHILLIPE, M. M.; PAGOTTO, F.; CORNEU, N. Identification of presumptive positive *Listeria monocytogenes* from food and environmental samples by polymerase chain reaction (PCR). **Health Products and Food Branch, Ottawa, 2002**. Disponível em <<http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment>>. Acesso em 12 dez. 2007.

BORGES, M.F.; SIQUEIRA, R.S.; BITTENCOURT, A. M.; VANETTI, M. C. D.; GOMIDE, L. A. M. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Salami. **Revista de Microbiologia**, v.30, p. 362-364, 1999.

BRAGA, H. F. **Fatores de Risco Relacionados à Contaminação Microbiana de Massas Cruas de Quibe Comercializadas em Uberlândia**. 2007. 18p. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Uberlândia. 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência nacional de vigilância sanitária. Lei nº. 8080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. D.O.U. - **Diário Oficial da União**; BRASÍLIA, DF, 1990. Disponível em <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/home.php>. Acesso em 01 de maio de 2008.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria n. 304, de 22 de abril de 1996. Distribuição e Comercialização de Carne Bovina, Suína e Bubalina. Brasília: **Diário Oficial da União**, BRASÍLIA, DF, 1996. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do?operacao=visualizar&id=1278>>

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC nº. 12, de 2 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 30 de abril de 2008.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Instrução Normativa nº. 62, de 26 de agosto de 2003. Métodos analíticos oficiais para análises microbiológicas para controle de produtos de origem animal e água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br.do>>. Acesso em: 13 de março de 2008.

_____. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Defesa Agropecuária, Instrução Normativa nº. 83, de 21 de novembro de 2003. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Carne Moída de Bovino. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2003. Disponível em: <<http://extranet.agricultura.gov.br/sislegisconsulta/consultarLegislacao.do>> Acesso em 26 de março de 2003.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC nº., 216 de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. D. O. U. – **Diário Oficial da União**, Brasília, DF.

BRESSAN, M. C; PEREZ, J.R.O. **Tecnologia de carnes e pescados**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2000, 225p.

CAMPANINI M.; PEDRAZZONI I.; BARBUTI S.; BALDINI P. Behavior of *Listeria monocytogenes* during the maturation of naturally and artificially contaminated salami: effect of lactic-acid bacteria starter cultures **International Journal of Food Microbiology**, v.20, n, 3, p. 169-175, November, 1993.

CAHILL, S. **Risk assessment of microbiological hazards in foods: an international approach**. Food, Nutrition and Agriculture/FAO, 2001 Disponível em:<<http://www.fao.org/docrep/003/x8576m/x8576m04.htm#TopOfPage>> . Acesso em: 10 maio 2008.

CARMO, L.S.; BERGDOLL, M. S. Staphylococcal food poisoning in Belo Horizonte (Brazil). **Revista de Microbiologia**. v. 21, n.4, p.320-303, 1990.

CARMO, L.S.; et al. Food poisoning due to enterotoxigenic strains of Staphylococcus present in Minas Cheese and raw milk in Brasil. **Food Microbiology**, v.19, p.9-14, 2002.

CASAROTTI, S. N.; PAULA, A.T.; ROSSI, D. A. Correlação entre métodos cromogênicos em carne moída. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 33, p.278-286, 2007.

CENTER FOR DESEASES CONTROL AND PREVENTION. **Division of Bacterial and Mycotic Diseases-Listeriosis**, 2008. Disponível em: <http://www.cdc.gov/nczved/dfbmd/disease_listing/listeriosis_gi.html#greatrisk>. Acesso em: 20 jan.2008.

CENTER FOR DESEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Preliminary FoodNet Data on the Incidence of Infection with Pathogens Transmitted Commonly Through Food – 10. States, 2006. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v.56, n.14, p.336-339, apr, 2007. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5614a4.htm?s_cid=mm5614a4_e>. Acesso em: 15 fev. 2008.

CENTER FOR DESEASES CONTROL AND PREVENTION **Campylobacter Infections**. Division of Bacterial and Mycotic Diseases, 2005 Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/campylobacter_g.htm> Acesso em: 03 maio 2008.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE CLSI Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; (Approved Standard – eight edition M2-A8), Wayne, Pennsylvania, 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/reblas/reblas_public_disco_difusao.pdf>. Acesso em 10 de abril de 2008.

COMISSÃO DAS COMUNIDADES EUROPÉIAS (CCE). **Relatório ao Parlamento Europeu e ao Conselho sobre as medidas a aplicar para o controle e a prevenção de zoonoses**. Bruxelas, ago. 2001. Disponível em: <<http://www.europarl.eu.int/meetdocs/committees>>. Acesso em: 25 mar 2008.

CONTRERAS, C. C.; BROMBERG, R.; MIYAGUSKU, L. **Higiene e sanitização na indústria de carnes e derivados**. São Paulo, Varela, 2002, 181 p.

CUNHA NETO, A.; SILVA, C. G. M.; STAMFORD, T. L. M. *Staphylococcus enterotoxigênicos em alimentos in natura processados no estado de Pernambuco, Brasil*. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 22, v. 3, p.263-271, 2000.

CRESPO, M. P et al Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en un hospital de tercer nivel **Colombia Médica**. v. 30, p 89-98, 1999. Disponível em: <<http://colombiamedica.univalle.edu.co/VOL30NO2/listeria.html> > Acesso em: 20 mai 2008.

DATTA, A. R., WENTZ, B. A.; RUSSEL, J. Cloning of listeriolysin O gene probes for *Listeria monocytogenes*. **Applied Environmental Microbiology**, v.56, p.3874-3677, 1990.

DELLA TORRE, J. C. M.; BERAQUET, N. J. NJ. Composição centesimal e teor de colágeno em carne bovina moída. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n.2, p. 223-231, 2005.

DENGENHART, R.; SANTA'ANNA, S.E Pesquisa de *Listeria Sp* em embutidos cárneos fermentados produzidos na região meio-oeste de Santa Catarina, Brasil **Boletim Centro de Pesquisa e Processamento de alimentos**, Curitiba, v. 25, n. 1, p. 133-140, 2007.

DESTRO, M. T. ***Listeria monocytogenes* na cadeia produtiva de alimentos: da produção primária ao consumidor final**. Tese para concurso de livre docência junto ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2006.

EDUARDO, M., B. P., KATSUYA, E. M., BASSIT, N. P., MELLO, M. L. R. *Salmonella enteritidis* - Uma importante causa de surtos bacterianos veiculados por alimentos e a necessidade de uma nova regulamentação sanitária para os alimentos Implicados, São Paulo, Brasil, 1999-2003. **Boletim Epidemiológico Paulista**, n.8, 2004. Disponível em: < http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa8_salmo9903.htm >. Acesso em: 08 maio 2008.

DUIM, B.; WIN ANG, C.; VAN BELLKUM, A.; RIGTER, A., VAN LEEUWEN, N. W. J .A. Amplified fragment length polymorphism analysis of *Campylobacter jejuni* strains isolated from chickens and patients with gastroenteritis or Guillain-Barré or miller Fisher syndrome. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, p.3917-3923, 2000.

EIFERT, J. D. et al. **Efficacy selected chemicals on the attachment and survival of *Campylobacter jejuni* on chicken breast skin**. Virginia, EUA, 2000. Dissertação de mestrado do Instituto Politécnico de Virgínia, EUA, 2000.

EISEL, W. G.; LINTON, R. H.; MUTIANA, P. M. A survey of microbial levels for incoming raw, environmental sources, and ground beef in a processing plant. **Food Microbiology**, v. 14, n.3, p.273-282, 1997.

EUZÉBY, J. P. *Campylobacter*. In: **Dictionaire de bacteriologie Veterinaire**. 2004. Disponível em: <[http:// www.bacterio.cict.fr/cc/ campylobacter.html](http://www.bacterio.cict.fr/cc/campylobacter.html)>. Acesso em: 01 abr. 2004.

FARBER, J. M; SANDERS, G.W; JOHNSTON, M.A. A survey of various foods for the presence of *Listeria* species. **Journal Food Protection**, v.52, p. 456-4588, 1989.

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

FATTORI, F. F. A.; SOUZA, L. C.; BRAOIOS, A.; RAMOS, A. P. D.; TASHIMA, N. T.; NEVES, T. R. M ; BARBOSA, R.L. Aspectos sanitários em “trailers” de lanche no município de Presidente Prudente, SP. **Higiene Alimentar**, v. 19, p.54-62, 2005.

FAUSTINO, M. A G.; LIMA, M. M.; ALVES, L. C.; SANTOS, A. L. G.; SANTANAM, V. L. A. Causas da condenação à inspeção sanitária de bovinos da cidade de Valença, Rio de Janeiro. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 17, n.108, p.32-35, 2003.

FDA - U.S.A. Food and Drug Administration – **Bacteriological Analitical Manual**. 8. ed., cap. 7, rev., p.701-703, 1998.

FEITOSA, T. **Contaminação, Conservação e Alteração da Carne**. Fortaleza: Embrapa – CNPAT. Documentos 34, 1999.

FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: 45 Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. UFSCar, São Carlos, Anais, São Carlos: UFSCar, 2000, p. 255-258.

FITZGERALD, C. et al. Evaluation of methods for sub typing *Campylobacter jejuni* during an outbreak involving a food handler. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 9, n.7, p. 2386-2390, 2001.

FOODNET data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 sites, United States, 2004. **MMWR Morbidity and Mortality and Weekly**, rep., v.52, n.14, p.352-356, 2005.

FORREST, J. C., ABERLE, E. D., HEDRICK, H. B., JUDGE, M. D., MERKEL, R. A. **Fundamentos de ciencia de la carne**. Zaragoza: Acribia, 1979. 363p.

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, 2003, 182p.

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

FURRER, B.; CANDRIAN, U.; HOEFELEIN, C.; LUETHY, J. Detection and identification of *Listeria monocytogenes* in cooked sausage products and in milk by *in vitro* amplification of haemolysin gene fragments. **Journal of Applied Microbiology**. v. 70, n. 5, p.372-379, May, 1991.

GERMANO, P. M. L; GERMANO, M. I. S. **Higiene e Vigilância Sanitária de Alimentos**. São Paulo: Varela, 2003, 655p.

GERMER, S. P. M; MOURA, S. C. S. R. **Princípios de esterilização de alimentos**. Manual técnico n° 10. Campinas: ITAL, 1995. 123p.

GILBERT, R. J. **Zero tolerance for Listeria monocytogenes in foods** - Is it necessary or realistic? In: XII International Symposium on Problems of Listeriosis. p. 351-356. Perth Western. Austrália, 1995.

GIOTIS, S. E.; BLAIS, S. I.; MCDOWELL, D. A. Morphological changes in *Listeria monocytogenes* subjected to sublethal alkaline stress. **International Journal of Food Microbiology**. v.120, n.3, p. 250-258, dec., 2007.

GOULET, V. et al. Significant increase of listeriosis in Germany--epidemiological patterns 2001-2005. **Euro Surveillance**, v.11, n.6, p.85-88, 2006.

GUEDES, R. L et al. Avaliação da presença de *listeria monocytogenes* em alimentos manipulados e armazenados sob refrigeração. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.72, n.2, p.1-64, 2005.

INGLIS, G. D.; KALISCHUK, L. D.; BUSZ, H. A survey of *Campylobacter* species shed in faeces of beef cattle using polymerase chain reaction. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 49, n.11, p.655-661, 2003.

ISO 10272-1 Microbiology of food and animal feeding stuffs - **Horizontal method for the detection and enumeration of Campylobacter** – Part. 1: Detection Method, 1^a. ed. The International Organization for Standardization, 2006.

JARRAUD, S.; PEYTRAT, M.A.; LIM, A. et al. A highly prevalence operon of enterotoxin gene, forms putative nursery of super antigens in *Staphylococcus aureus*. **Journal. Immunology**, v.166, p.669-677, 2001.

JOHNSON, J. L.; DOYLE, M. P; CASSENS, R. G. *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* spp. in meat and meat products. **Journal of Food Protection**, v.53, p. 81-89, 1990.

JEONG, D. K.; FRANK, J. F. Growth of *Listeria monocytogenes* at 10°C in biofilms with microorganisms isolated from meat and dairy processing environments. **Journal of Food Protection**, v.57, p.576-586, 1994.

JAY, J. M. Prevalence of *Listeria* spp in meat and poultry products. **Food Control**, v.7, n.4-5, p.209-214, 1996.

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

JO, M. Y.; KIM, J. H.; LIM, J. H; KANG, M.Y.; KOH, H. B.; PARK, Y. H.; YOON, D. Y.; CHAE, J. S.; EO, S. K.; LEE, J. H. Prevalence and characteristics of *Escherichia coli* O157:H7 from major food animals in Korea. **International Journal Food Microbiology**, v. 95, p.41-49, 2004.

KASNOWSKI, M. C. ***Listeria* spp; *Escherichia coli*: isolamento, Identificação, estudo sorológico e antimicrobiano em corte de carne bovina (alcatra) inteira e moída**. Dissertação de (Mestrado de Medicina Veterinária). Universidade Federal Fluminense. Niterói, 2002.

KINSMAN, D.M.; KOTULA, A. W.; BREIDENSTEIN, B. C. **Muscle foods: Meat, Poultry and Seafood Technology**, Chapman & Hill, New York, 1994, 573p.

KLOOS W.E.; SCHLEIFER, K .H Simplified scheme for routine of human *Staphylococcus* species, **Journal of Clinical Microbiology**. v.1. p.82-88, 1975.

KOCH, J.; STARK, K . Significant increase of listeriosis in Germany - epidemiological patterns 2001-2005. **Euro Surveill**, v.11, n.6, p.885-8, 2006.

KRAMER, J. M.; FROST, J. A.; BOLTON, F. J.; WAREING, D. A. Campylobacter contamination of raw meat and poultry at retails sale identification of multiple types and comparison with isolates from human infection, **Journal Food Protection**, v. 63, n.12, p.1654-1659, 2000.

LABACVET **Microbiologia Clínica**, 2007. Disponível em:
<www.ufrs.br/labacvet/pdf/listeria.pdf>. Acesso em: 19 jan.2008.

LAHTI, E. et al. Survival and detection of Escherichia coli O157: H7 and Listeria monocytogenes during the manufacture of dry sausage using two different starter cultures. **Food Microbiology**, v.18, p.75-85, 2001.

LE MARC, Y.; HUCKET, V.; BOURFEOIS, C. M.; GUYONNET, J. P.; MAFART, P. Modeling the growth kinetics of *Listeria* as function of temperature, pH and organic acid concentration. **International Journal of Food Microbiology**, v.73, p. 219-237, 2002.

LI, F. C.; CHENG, C. C. Growth and enterotoxins production by coagulase-negative *Staphylococcus* strains. *Staphylococcus warneri* CCRC 12929 and *S.haemolyticus* CCRC 12923 in cow milk and goat milk. **Food-Science**, v.24, n.1, p.120-128,1997.

LUCHIARI FILHO, A **Pecuária da carne de corte bovina**. 1 ed. São Paulo, 2000, 134p
MACHADO, R. A., TOSIN, I., LEITÃO, M. F. F. Occurrence of Salmonella spp and Campylobacter sp in chickens during industrial processing. **Revista de Microbiologia**, v.25, n.4, p. 39-244, 1994.

MAGNANI, A. L.; GIOMBELLI, A.; SCHUCK, M. S.; BUSATO, M. A.; SILVA, N. L.; Incidência de *Salmonella* e *Escherichia coli* em carne suína in natura e salame colonial, consumidos pela população de Chapecó - SC. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 73, p. 44-47; 2000.

MANTILLA, S. P. S.; FRANCO, R. M. F.; OLIVEIRA, L. A.T. O.; SANTOS, É. B. GOUVEIA, R Ocorrência de *Listeria* spp. em amostras de carne bovina moída comercializadas no município de Niterói, RJ, Brasil. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1225-1230, 2007

MARTH, E.H. Disease characteristic of *Listeria monocytogenes*. **Food Technology**, v.42, n.41, p. 165-168, 1988.

McCLAIN, D. ; LEE, W. H. Development of USDA-FSIS Method for Isolation of *Listeria monocytogenes* from raw meat and poultry. **Journal of the Association of official Analytical Chemists**, v.71, p.366-369, 1998.

MENDONÇA, C. R.; GRANADA, G. G. Coliformes em açougues de pelotas-RS. **Revista Brasileira de AGROCIÊNCIA**, v.5, n.1, p. 75-76, 1999.

MORALES, P.; CALZADA, J.; NUÑEZ, M. Effect of High-Pressure Treatment on the Survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in Sliced Vacuum-Packaged Iberian and Serrano Cured Hams. **Journal of Food Protection**, v.69, n.10, p.2539-2543, 2006.

MOSSEL, D. A. A.; GARCIA, M. B. **Microbiologia de los Alimentos. Fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de los alimentos**. Zaragoza: Acribia, 1975. 375p.

MÜRMANN, L.; MALLMANN, C. A.; DILKIN, Temperaturas de armazenamento de alimentos em estabelecimentos comerciais na cidade de Santa Maria, RS **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 33, nº3, p. 309-313, 2005.

NADVORNY, A.; FIGUEIREDO, 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**. v.32, v.1, p. 47- 51, 2004.

NANU, E.; NARAYAN, K. G. Enterotoxin Production by staphylococci isolated from pork kabab, salami and other sources by ELISA. **Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 4, p. 383-384, 1992.

NASCIMENTO, M. G. F. do; NASCIMENTO, E. R. **Importância da avaliação microbiológica na qualidade e segurança dos alimentos**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, dez. 2000. 11p. (Embrapa-CNPAB. Documentos, 120).

NATARO, J. P.; KAPER, J. B Diarrheagenic *Escherichia coli*. **Clinical Microbiology Reviews** v.11, p.142-201, 1998.

NÖEL, H; et al. Outbreak on *Salmonella* Entérica serotype *manhattan* infection associated with meat products, France, 2005. **Eurosurveillance**, v.11, n.11, 2006.

NORRUNG, B.; ANDERSEN, J. K.; SCHLUNDT, J. Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in foods in Denmark. **International Journal of Food Microbiology**, v.5, p. 195-203, 1999.

NORTON, D. M. Polymerase chain reaction-based methods for detection of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v.85, n.2, p.505-515, 2002.

OLIVEIRA, L. Exame Bacteriológico de Superfícies de Utensílios e Equipamentos e Contaminação Ambiental na Indústria “Pomar Casa Verde”.. (**Relatório Disciplina de Higiene Agro - Industrial e Controle de Efluentes** - FAEM /UFPEL) Pelotas, 1990, 27p

OLIVEIRA, N. M. S.; NASCIMENTO, L. C.; FIORINI, J. E. Isolamento e identificação de bactérias facultativas mesofílicas em carnes frescas bovinas e suínas. **Higiene Alimentar**, v.16, n.94, p.68-74, 2002.

ORWIN, P. M.; LEUNG, D. Y. M.; DONAHUE, H. L; NOVICK , R. P.; CHLIEVERT, P. M. S. Biochemical and biological properties of Staphylococcal enterotoxin K. **Infection And Immunity** , v.69,p.360-366, 2001.

PARDI, M. C.; SANTOS, I. F; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S.; **Ciência Higiene e Tecnologia da Carne**. 2. ed. Goiânia: Editora UFG, 2001. 623p.

PELCZAR, M. J.; CHAN, E. C. S.; KRIEG, N. R. **Microbiologia: conceitos e aplicações**. 2. ed. São Paulo: Makron Books, 1996. 524 p.

PEREIRA, M. L.; CARMO, L.S.; PEREIRA, J. L. comportamento de estafilococos coagulase negativos pauciprodutores de enterotoxinas em alimentos experimentalmente inoculados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.2, p.171-175, 2001.

PETRI, C. M; ANTUNES, L. A.F.; SARIDAKIS, H. O. Escherichia coli em produtos cárneos comercializados em Londrina-Paraná I: frequência de Escherichia coli enteropatogênica clássica (EPEC) / Escherichia coli in meat products commercialized in Londrina-Paraná I: frequency of classical enteropathogenic Escherichia coli (EPEC). **Revista de microbiologia**. v. 20, n.4, p.421-6, out.-dez., 1989.

PIATTI, R. M.; ROJAS M.V. R.; OTUKI A. K., BALDASS, L. Presença de *Listeria Monocytogenes* em amostras de caprinos com sintomatologia nervosa. **Arquivo Instituto Biológico**, São Paulo, v.71, (supl.), p.1-749, 2004.

PIGATTO, C. P.; BARROS, A. R. Qualidade da carne moída bovina resfriada, comercializada em açougues da região de Curitiba. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v.17, n.108, p.53-57, maio 2003.

PIZZOLITTO, N.; PIZZOLITTO, E. L.; SIMÕES, M. J. S. Espectro de agentes etiológicos associados a surtos de doenças transmitidas por alimentos em núcleos receptores turísticos de três regiões geográficas do Estado de São Paulo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.28, n.3, p.301-310, 2007.

PORTER, A. et al. Monitoramento de Carnes e Derivados Refrigerados Expostos à Venda em Supermercados Sulfluminenses. **Saúde em Revista**, v.5, n.9, p. 39-46, 2002.

POPOFF, M.; MINOR, L.E., 2005. genus XXXIII *Salmonella*. In: Brenner, D. J., KRIEG, N. R.; STALEY, J. T. (Eds) *Bergey's Manual of systematic Bacteriology*, 2 ed., v. 2, New York: Springer Science+Business Media Inc. p.764-799.

PORTO, E.; UBOLDI EIRO, A, M. N Avaliação da Eficiência de Sanificantes e do Uso de Atmosferas Modificadas sobre *Listeria monocytogenes* Inoculada em Alfaces. (*Lactuca sativa*). **Brazilian Journal Food Technology**. v.9, n.3, p. 177-183, 2006.

PREFEITURA MUNICIPAL DE UBERLÂNDIA (PMU), 2008. Disponível em: <www.uberlândia.mg.gov.br>. Acesso em: 01 maio 2008.

PRICE, J. F.; SCHWEIRGERT, B. S. **Ciencia de la carne y de los productos cárnicos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, 1994. 581 p.

RANGEL, et al. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 Outbreaks, United States, 1982–2002. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 4, p.604-609, 2005 Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eid>>. Acesso em 32 de março de 2008.

REIS, R. B.; KRUGER, C. S.; MACIEL, M. S.; *Salmonella* spp. em produtos cárneos comercializados no município de Cuiabá-MT. Avaliação da metodologia de pesquisa.

Modelos de resistência a drogas antimicrobianas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 15, p. 74-78; 1995.

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

ROBERTS, T. A.; BAIRD-PARKER, A. C.; TOMPKIN, R. B. Microorganisms in foods 5 – **Microbiological specifications of food pathogens**. London: Blackie Academic & Professional, 1996.

ROBERTS, M. C.; FACINELLI, B.; GIOVANETTI, E.; VARALDO, P.E Transferable erythromycin resistance in *Listeria* spp. isolated from food. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 87, n. 1, p.269-270, 1996.

ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agronômicas, UNESP, 2000.202p.

ROCOURT J., COSSART P. *Listeria monocytogenes*. En: Doyle MP; Beuchat L. R., Montville TJ. Food Microbiology – **Fundamentals and Frontiers**. Washington D.C.: ASM Press, p. 337-352, 1997

RODOLPHO, D; MARIN, J. M. Isolamento de *Escherichia coli* Shiga toxigênica em açougues na cidade de Taquaritinga, Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal. Microbiology**, out./dez. 2007, vol.38, no.4, p.599-602.

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

SANTOS, L. A. G; et al. Detecção de *Listeria monocytogenes* como subsídio à determinação de pontos críticos de controle no abate de suínos. **Bioscience Journal**, v. 21, n.2, p.131-135, 2005.

SÃO PAULO. Secretaria de Estado da Saúde. **Manual das doenças transmitidas por alimentos e água: *Listeria monocytogenes*/Listeriose**. (Informe-net DTA, 2003). Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/hidrica/Listeria.htm>>. Acesso em: 10 maio 2008.

SCARCELLI, E. et al. Comparison of eletrophoretic protein profiles of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* isolated from different animal species. **Journal microbiology of Brazilian**, São Paulo, v.32, n.4, 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1517-83822001000400006&script=sci_arttext&tlng=en>. Acesso em: 03 mar. 2008.

SCHLEC III, W.F. Foodborne listeriosis. **Clinical Infectious Diseases**, v.31, p.770-775, 2000.

SENAI. Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial. **Elementos de apoio para o sistema APPCC**. Brasília, (Série Qualidade e Segurança Alimentar), p. 361 2000.

SHANE, S. M. The significance of *Campylobacter jejuni* infection in poultry. A review. **Avian Pathology**, v. 21, p.189-213, 1992.

SIGARINI, C. O. **Avaliação bacteriológica da carne bovina desossada em estabelecimentos comerciais do município Cuiabá MT Brasil**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2004.

SILVA, J. A. **Tópicos da Tecnologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. 232p.

SILVA, N. et al. **Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos**. 3. ed., São Paulo: Varela, 2007. 552p.

SILVA, N. et al. Ocorrência de *Escherichia coli* O157: H7 em produtos cárneos e sensibilidade dos métodos de detecção. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.21, n.2, p.: 223 – 227-2001.

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

SILVA, C. A; SOUSA, E. L; SOUSA, C. P. Estudo da qualidade sanitária da carne moída comercializada na cidade de João Pessoa, PB. **Higiene Alimentar**, v. 18: p. 90-93, 2004.

SIRELI, U. T.; EROL, I. Detection of *Listeria* species in minced beef. **Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences**, v. 23, n.2, p. 373-380, 1999.

SKIRROW, M. B.: *Campylobacter enteritis*: a "new" disease. - **British. Medical Journal**, v.2, p.9-11, 1977.

SKOVGAARD, N.; NORRUNG, B. The incidence of *Listeria* spp. in faeces of Danish pigs and in minced pork meat. **International Journal Food Microbiology**, v. 8, p. 59-63, 1989.

SOUSA, C. L.; JOELLE, M. R. S. P.; Avaliação da qualidade microbiológica e físico-química de carne bovina moída em açougues do município de Macapá – AP. **Higiene Alimentar**, v. 14, n. 72, p. 60-65; 2000.

STAHNKE, L. H., HOLCK, A., JENSEN, A., NILSEN, A., & ZANARDI, E. Maturity acceleration of Italian dried sausage by *Staphylococcus carnosus*—Relationship between maturity and flavor compounds. **Journal of Food Science**, v. 67, p.1914–1921. 2002.

STOPFORTH, J. D ; LOPES, M.; SHULTZ, J. E.; MIKSCH, R. R SAMADOPUR, M. Microbiological status of fresh beef cuts. **Journal of Food Protection**, v.69, n.6, p.1456-1459, 2006.

SU, Y.; WONG, L. A. C. Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins. **Journal Food Protection**, v. 60, p.195-202, 1997.

SWAMINATHAN, B. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R.; MONTVILLE, T.J., ed. **Food microbiology fundamentals and frontiers**. Washington: ASM Press, p.383-409, 2001.

TAVARES, T. M.; SERAFINI, A. B. Carnes de hambúrgueres prontas para consumo: aspectos legais e riscos bacterianos. **Revista de Patologia Tropical**, Goiânia, v.35, n.1, p.1-21, jan./abr. 2006.

TERRA, N. N; BRUM, M. A. R. C. **Carne e seus derivados - técnicas de controle de qualidade**, 1ª edição. São Paulo: Nobel, 1988.

THAM, W.; et al. Vacuum packed gravad or cold-smoked rainbow trout / salmon once more the cause of an outbreak of listeriosis?, **Proceedings of the XIV ISOPOL**; 2001 May 13-16; Mannheim, Germany, p.168.

THAYER, D.W Development models for the effects of gamma radiation, irradiation temperature, pH, and modified atmosphere packaging on *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella thyphimurium* and *Staphylococcus aureus*. In: Radiation Processing for Safe, Shelf-Stable and Ready to Eat Food-Prociding of a final **Research Co-ordination Meeting Held in Montreal**, Canada, 2003.

THOMAS, C.; O'BEIRNE, D. Evaluation of impact of shortterm temperature abuse on the microbiology and shelf life of a model ready-to-use vegetable combination product. **International Journal of Microbiology**, v.59, p.47-57, 2000.

TORRES, K.; SIERRA, S.; POUTOU, R.; CARRSCAL, A.; MERCADO, M. Patogenesis de *Listeria monocytogenes*, microorganismo zoonótico emergente. **Revista MVZ CORDOBA**, v.19, 1, p. 511-543, 2005. Disponível em: <http://apps.unicordoba.edu.co/revistas/revista_mvz/mvz-101/101-3.pdf> Acesso em: 20 jan. 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**, 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. 827p.

TOSIN, I.; MACHADO, R. A. Ocorrência de *Campylobacter* spp entre manipuladores de alimentos em cozinhas hospitalares de localidade urbana da região Sul do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.26, n. 6, p.472-477, 1995.

USER'S GUID. Bax® System PCR assay with automated detection for bacterial screening. Wilmington, D.E.: DuPont qualicon, 2000.

VAILLANT, V. et al. Two consecutive nationwide outbreaks of Listeriosis, France, October 1999 - February 2000, **Proceedings of the XIV ISOPOL**; 2001 May 13-16, Mannheim, Germany, p.171.

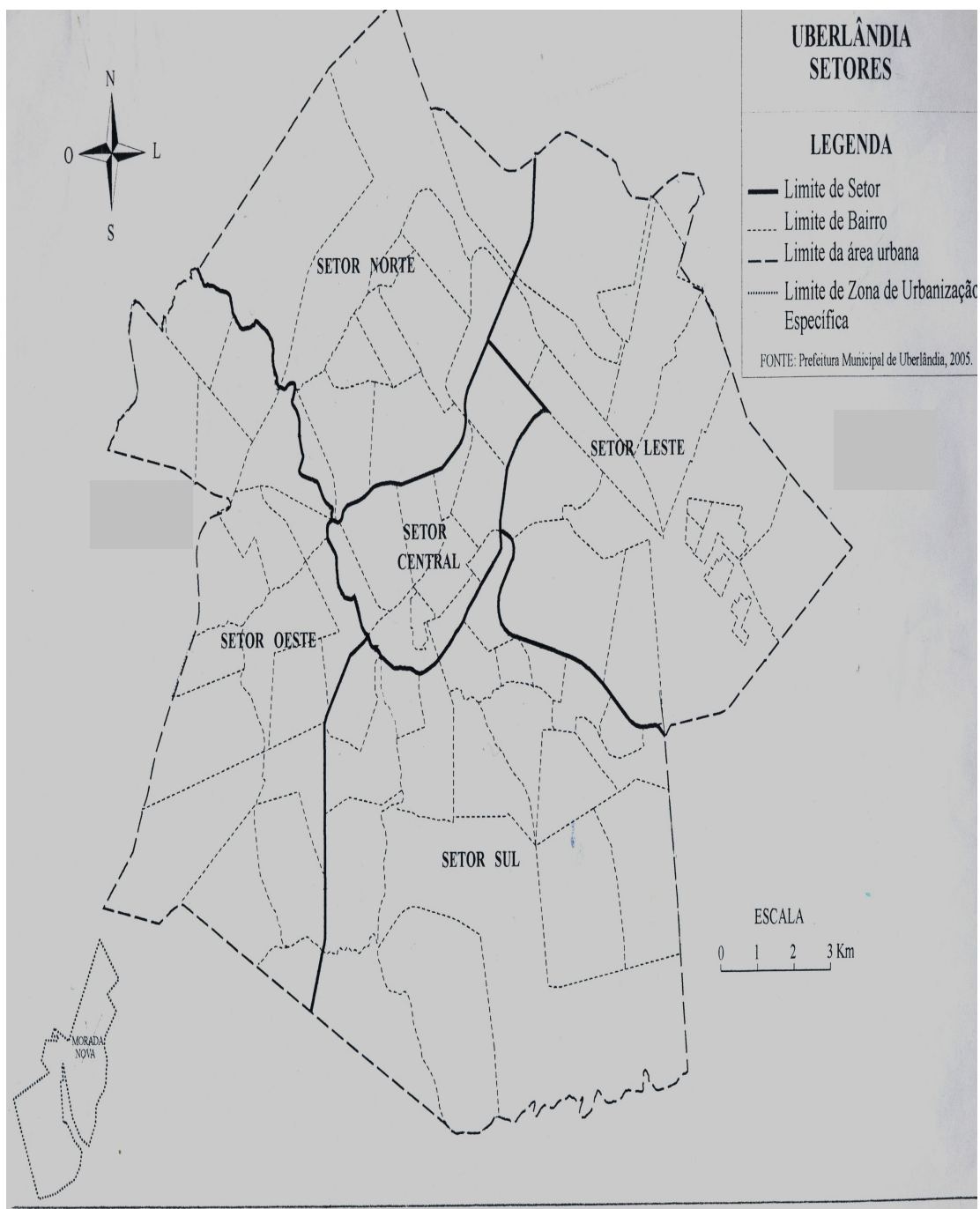
VERNOZY-ROZAND, C. et al. Enterotoxin production by coagulase-negative staphylococci isolated from goat's milk and cheese. **International Journal of Food Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 271-280, 1996.

WEAGANT, S.D.; BRYANT, J.L.; JINNEMAN, K.G. An improved rapid technique for isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from foods. **Journal of Food Protection**, v.58, n.1, p.7-12, 1995.

YOKOIA, F. **Higiene e Sanitização na Indústria de Alimentos**. Campinas: F.T.P.T., 1977, 144p.

YUCEL, N.; CITAK, S.; GUNDOGAN, N. The incidence of *Listeria monocytogenes* in raw meat. **Indian Veterinary Journal**, v. 81, n. 11, p. 1192-1194, 2004.

XAVIER, G.; JOELE, M. R. S. P. Avaliação das condições higiênico-sanitárias da carne bovina in natura comercializada na cidade de Belém, PA. **Higiene Alimentar**. V.18, n.125, p.64-73, out, 2004.

ANEXO A - Divisão setorial do município de Uberlândia, Minas Gerais - Brasil

APÊNDICE. A.-. Check-list dos estabelecimentos amostrados.

SETOR: _____

Área Externa							
01- Organização (ausência de resíduos e objetos estranhos)	I=1	S	I=1	S	I=1	S	I=1
Área Interna							
02- Organização (ausência de resíduos e objetos estranhos)	I=1	S	I=1	S	I=1	S	I=1
03- Higiene e conservação de equipamentos	I=3	S	I=3	S	I=3	S	I=3
04- Higiene e conservação de utensílios	I=3	S	I=3	S	I=3	S	I=3
05- Paredes, teto, piso (higiene e conservação)	I=2	S	I=2	S	I=2	S	I=2
06- Climatização (ventiladores, exaustores)	I=1	S	I=1	S	I=1	S	I=1
07- Iluminação adequada e proteção de lâmpadas	I=1	S	I=1	S	I=1	S	I=1
08- Presença de insetos, roedores e outros	I=2	S	I=2	S	I=2	S	I=2
09- Balcões frigoríficos (higiene, conservação, excesso de produtos)	I=3	S	I=3	S	I=3	S	I=3
Armazenamento							
10- Mantido sob refrigeração	I=3	S	I=3	S	I=3	S	I=3
Manipuladores							
11- Apresentação pessoal (barbeado, uso de adornos, unhas curtas e limpas)	I=3	S	I=3	S	I=3	S	I=3
12- Uniformes (jaleco, avental, máscara, toca, bota)	I=2	S	I=2	S	I=2	S	I=2
13- Higiene e conservação do uniforme	I=2	S	I=2	S	I=2	S	I=2
14- Hábitos higiênicos (tossir, coçar, espirrar, pegar no dinheiro, outros)	I=2	S	I=2	S	I=2	S	I=2
TOTAL DE PONTOS							

I=INSASTISFATÓRIO

S=SATISFATÓRIO

I: varia de 1 a 3

EXCELENTE= 3 I

BOM= 12 a 15 I

ÓTIMO= 4 a 7 I

REGULAR= 16 a 19 I

MUITO BOM= 8 a 11 I

RUIM= ≥ 20 I