

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

***Listeria spp. E Listeria monocytogenes* NA PRODUÇÃO DE
SALSICHAS TIPO HOT DOG E HÁBITOS DE CONSUMO**

Alessandra Paro Rodrigues Cesar
Orientador: Dr. Cristiano Sales Prado

GOIÂNIA
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TE-DE) na Biblioteca Digital da UFV

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás–UFV a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFV, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor: **Alessandra Paro Rodrigues Cesar** CPF: _____ E-mail: **alessandra.cesar@agricultura.gov.br**

Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? Sim Não

Vínculo Empregatício do autor: **Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento**
Agência de fomento: -

País: **BRASIL UF:MATO GROSSO CNPJ: 00.396.895/0033-02 Sigla: MAPA**

Título: **Listeria spp e L. monocytogenes na produção de salsichas tipo hot dog e hábitos de consumo** Palavras-chave: **ambiente industrial, contaminação, embutido cozido, listeriose.**

Título em outra língua: **Listeria spp e L. monocytogenes in the hot dog frankfurters production and consupcion practices**

Palavras-chave em outra língua: **contamination, cooked stuffed food, industrial plant, listeriosis.**

Área de concentração: **Higiene e Tecnologia de Alimentos** Data defesa: (dd/mm/aaaa) **12/12/2008**

Programa de Pós-Graduação: **Ciência Animal**

Orientador(a): **Cristiano Sales Prado** CPF: _____ E-mail: **pradocs@vet.ufv.br**

Co-orientador(1): **Marcelo Bonnet Alvarenga** CPF: _____ E-mail: **mbonnet@cnpqi.embrapa.br**

Co-orientador(2): **Iolanda Aparecida Nunes** CPF: _____ E-mail: **inag@terra.com.br**

3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?¹ total parcial

Em caso de disponibilização parcial, assinale as permissões:

[] Capítulos. Especifique:

[] Outras restrições:

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Goiânia 13 de maio de 2009

Assinatura do(a) autor(a)

¹ Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

ALESSANDRA PARO RODRIGUES CESAR

***Listeria spp. E Listeria monocytogenes* NA PRODUÇÃO DE
SALSICHAS TIPO HOT DOG E HÁBITOS DE CONSUMO**

Dissertação apresentada para obtenção do grau
de Mestre em Ciência Animal junto à Escola de
Veterinária da Universidade Federal de Goiás

Área de Concentração:
Higiene e Tecnologia de Alimentos

Linha de Pesquisa:
Higiene, Ciência, Tecnologia e Inspeção de Alimentos

Orientador:
Prof. Dr. Cristiano Sales Prado – UFG

Comitê de Orientação:
Dr. Marcelo Bonnet – EMBRAPA
Prof^a. Dr^a. Iolanda Aparecida Nunes – UFG

GOIÂNIA
2008

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(GPT/BC/UFG)

C4211 Cesar, Alessandra Paro Rodrigues.
Listeria spp. e Listeria monocytogenes na produção de salsichas tipo Hot Dog e hábitos de consumo [manuscrito] / Alessandra Paro Rodrigues Cesar. – 2008.
xiv, 92 f. : il., color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano Sales Prado.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás,
Escola de Veterinária, 2008.

Bibliografia: f. 61-72.
Inclui lista de figuras, tabelas e abreviaturas.
Anexos.

1. Alimentos de Origem Animal 2. Listeriose 3. Salsichas –
Contaminação 4. Embutidos. I. Prado, Cristiano Sales.
II. Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária. III. Título.

CDU: 641.5

ALESSANDRA PARO RODRIGUES CESAR

Dissertação defendida e aprovada em **12/12/2008**, pela Banca Examinadora constituída pelos professores:



Prof. Dr. Cristiano Sales Prado
(ORIENTADOR (A))



Prof. Dr. Eivaldo Sampaio de Almeida Filho – UFMT



Profa. Dra. Cintia Silva Minafra e Rezende

Para Luíza e Alexandre

meus amores

meus estímulos

minha vida

Iracema, José Antônio e Max

com gratidão

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Albenones José de Mesquita pela dedicação, paciência e amizade. Agradeço por todo conhecimento transmitido.

Ao Professor Cristiano Sales Prado pelo encorajamento na realização do trabalho.

Aos Co-Orientadores Dr. Marcelo Bonnet e Professora Iolanda Aparecida Nunes pelos preciosos ensinamentos e pelo incentivo no decorrer do trabalho.

A toda equipe do Centro de Pesquisas em Alimentos - CPA, representada pelo Professor Antonio Nonato de Oliveira pela acolhida durante o desenvolvimento do experimento.

Aos Professores da UNB Ângela Patrícia Santana e Vitor Gonçalves pelo auxílio na análise de perigos.

Aos amigos Paulo Antônio da Costa Bilégo e Judi Maria da Nóbrega pelo apoio e estímulo, tanto nesta etapa, como em outros trabalhos realizados.

Aos Drs. Nelmon Oliveira Costa e Ari Crespim dos Anjos, exemplos de retidão de caráter, trabalho e solidariedade, pela oportunidade da realização do Mestrado.

Aos amigos José Gabriel Amoril, pelas longas discussões e críticas desde a concepção do projeto e a lolina por sua atenção, amizade e carinho.

Aos colegas do MAPA Josinete Barros de Freitas, Antônio Albino da Silva, Marcius Ribeiro de Freitas e Cleia Ferreira Duarte por todo apoio.

A colega Bióloga, chefe do Laboratório de Microbiologia do CPA Sandra Queiroz Porto de Mesquita pela paciência, orientações laboratoriais e por sua atenção e amizade.

A amiga Josandra Oliveira de Oliveira e ao Sr. Fábio Varela pelo auxílio na aplicação dos questionários no Mato Grosso.

A amiga Marcelle Louise Tadaieski pela tradução do resumo.

Ao Dr. Ernesto Hofer pela sorotipagem dos isolados enviados ao FIOCRUZ, bem como por sua atenção.

Aos colegas da pós-graduação Rosângela Nunes Carvalho, Livia Felipe, Roberta Menezes e Gracinda Mariana Calaça pelos momentos compartilhados.

A FAMATO - Sr. Antônio Carlos Carvalho de Sousa, SENAI/FIEMT – Sr. Gilberto Figueiredo e à FIEG – Sr. Paulo Vargas por parte dos materiais de consumo disponibilizados para a realização do experimento.

As redes de supermercados Modelo, Pão de Açúcar, Extra, Carrefour, Hiper Moreira, Bretas e Tatico por permitirem a realização das entrevistas à população consumidora de salsichas.

A BioMeriéux e a Bioscan pelo acesso ao sistema VIDAS® e ao RAPID' L. *mono* Agar respectivamente.

“O que nós fazemos nunca é compreendido,
apenas louvado ou condenado”

Friedrich Nietzsche

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	HIPÓTESES.....	5
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1	<i>Listeria monocytogenes</i> e listeriose	6
3.2	Ocorrência de <i>Listeria monocytogenes</i> em salsichas e persistência de cepas no ambiente industrial	9
3.3	Produção e consumo de salsichas no Brasil.....	12
3.4	Efeitos da temperatura sobre <i>Listeria monocytogenes</i>	16
3.5	Ingredientes com ação antimicrobiana.....	19
3.5.1	Cloreto de sódio.....	19
3.5.2	Nitrito de sódio	20
3.6	Deteção/identificação e isolamento de <i>Listeria monocytogenes</i>	21
3.7	<i>Listeria monocytogenes</i> : aspectos legais.....	21
4	OBJETIVOS	25
4.1	Objetivo geral.....	25
4.2	Objetivos específicos	25
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5.1	Aplicação de questionários	26
5.1.1	Nas indústrias	26
5.1.2	À população consumidora de salsichas.....	26
5.2	Amostragem.....	27
5.2.1	Amostras de alimentos nas indústrias	27
5.2.2	Swabs do ambiente pós-cozimento	28
5.2.3	Amostras de salsichas no varejo	29
5.3	Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i>	29
5.3.1	Enriquecimento primário e secundário.....	29
5.3.2	Análise imuno-enzimática	30
5.3.3	Isolamento em meio sólido de ágar	31
5.3.4	Reação no ágar tríplice açúcar-ferro – TSI	32
5.3.5	Testes bioquímicos (BRASIL, 2003).....	33
5.3.5.1	Teste de hemólise (BRASIL, 2003).....	33

5.3.5.2 Prova do Gram (MAC FADDIN, 1980)	33
5.3.5.3 Prova da Catalase (BRASIL, 2003)	34
5.3.5.4 Redução do nitrato a nitrito (BRASIL, 2003)	34
5.3.5.5 Teste de Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) (BRASIL, 2003).....	34
5.3.5.6 Teste de utilização de açúcares (BRASIL, 2003)	35
5.3.6 Teste de motilidade (BRASIL, 2003).....	35
5.4 Sorotipagem.....	35
5.5 Análise Estatística	36
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÃO	60
REFERÊNCIAS.....	61
ANEXOS	73

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - Invasão por <i>Listeria monocytogenes</i>	8
FIGURA 2 - Detecção de <i>L. monocytogenes</i> pelo sistema VIDAS®	31
FIGURA 3 - Esquema de produção de salsichas na Indústria 01	39
FIGURA 4 - Esquema de produção de salsichas na Indústria 02	41
FIGURA 5 - Avaliação dos 500 consumidores entrevistados quanto a necessidade de cozimento das salsichas.....	57
FIGURA 6 - Hábito de comprar salsichas a granel entre os 500 consumidores entrevistados	58
FIGURA 7 - Freqüência no consumo de salsichas entre os 500 consumidores entrevistados	59

LISTA DE TABELAS E QUADROS

TABELA 1 - Produção de salsichas (t) por Estado e percentual por Região em estabelecimentos sob SIF no ano de 2006	13
TABELA 2 – Exportação de salsichas (t) e percentual exportado por Região em 2006	14
TABELA 3 - Superfícies amostradas durante as visitas realizadas nas indústrias 01 e 02 utilizando-se a técnica de <i>swabs</i>	28
TABELA 4 - Amostras positivas para <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> segundo o sistema VIDAS® e segundo o método convencional com identificação dos sorotipos na indústria 01	43
TABELA 5 - Amostras positivas para <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> no sistema VIDAS® e no método convencional com identificação dos sorotipos na indústria 02.	45
TABELA 6 - Pesquisa de <i>L. monocytogenes</i> no ambiente pós-cozimento, matérias-primas e salsichas tipo <i>hot dog</i> das indústrias 01 e 02 operantes sob Serviço de Inspeção Federal no Estado de Goiás em 2007.....	46
TABELA 7 - Superfícies amostradas nas indústrias 01 e 02 no estado de Goiás em 2007, com resultados positivos para <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i>	47
TABELA 8 - Número e porcentagem de amostras positivas para <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> em amostras de <i>swabs</i> , matéria-prima cárnea, emulsão e salsichas adquiridas na indústria 01 e a relação de <i>L. monocytogenes</i> e <i>Listeria</i> spp.	51
TABELA 9 - Número e porcentagem de amostras positivas para <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> em amostras de <i>swabs</i> , matéria-prima cárnea, emulsão e salsichas adquiridas na indústria 02 e a relação de <i>L. monocytogenes</i> e <i>Listeria</i> spp.	51
TABELA 10 - Ocorrência de <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> pelo método VIDAS® e método convencional em salsichas adquiridas no varejo	53

TABELA 11 - Probabilidade de ocorrência de <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> no lote/produção amostrada nas indústrias 01 e 02 (@Risk 99% de confiança)	54
TABELA 12 - Probabilidade de ocorrência de <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> em salsichas procedentes das indústrias 01 e 02 colhidas no varejo (@Risk 99% de confiança).....	54
TABELA 13 - Probabilidade de ocorrência de <i>Listeria</i> spp. e <i>L. monocytogenes</i> em salsichas procedentes das indústrias 01 e 02 colhidas no varejo (@Risk 99% de confiança).....	54
TABELA 14 - Entrevista com cidadãos consumidores de salsichas sobre as preferências de compra, estocagem e formas de preparo em âmbito doméstico.	56
QUADRO 1 Classificação do produto Salsicha quanto à nomenclatura e composição (porção animal).	15

LISTA DE ABREVIATURAS

AFNOR	<i>Association Française de Normalisation</i> (Associação Francesa de Normalização)
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
APPCC/HACCP	Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BBL/BD	Becton Dickinson
BPA	Boas Práticas Agropecuárias
BPF/GMP	Boas Práticas de Fabricação
CCFH	<i>Codex Committee on Food Hygiene</i> (Comissão do Codex Alimentarius de Higiene dos Alimentos)
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)
CPA/EV/UFG	Centro de Pesquisa em Alimentos/Escola de Veterinária/Universidade Federal de Goiás
DIPOA	Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal
DTAs	Doenças Transmitidas por Alimentos
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FIOCRUZ	Fundação Instituto Oswaldo Cruz
FSIS	<i>Food Safety and Inspection Service</i> (Serviço de Inspeção e Segurança dos Alimentos)
IAL	Instituto Adolfo Lutz
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MOX	<i>Modified Oxford Agar</i> (Agar Oxford Modificado)
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PFGE	<i>Pulsed-Field Gel Electrophoresis</i> (Eletroforese em Campo Pulsado)
PPHO/SOP	Procedimento Padrão de Higiene Operacional
RTIQ	Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade
SIF	Serviço de Inspeção Federal
SIGSIF	Sistema de Informações Gerenciais do Serviço de Inspeção Federal
SIPAG	Serviço de Inspeção de Produtos Agropecuários
TSA	<i>Tryptic Soy Agar</i> (Agar Tripticaseína de Soja)
TSI	<i>Triple Sugar Iron</i> (Agar Açúcar Triplo e Ferro)
UFC/g	Unidade Formadora de Colônias/grama
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i> (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos)
UVM	<i>University of Vermont Modified</i> (Universidade de Vermont Modificado)
VE-DTA	Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos
VIDAS®	<i>Vitek Immuno Diagnostic Assay System</i> (Sistema de Diagnóstico Imuno Ensaio Vitek)
VM-VP	Vermelho de Metila – Voges-Proskauer

RESUMO

Listeria monocytogenes é uma bactéria Gram-positiva, anaeróbia facultativa, que se multiplica sob temperatura de refrigeração e pode causar listeriose em humanos e outros animais. Amplamente distribuída no ambiente, tem sido isolada de alimentos de origem animal e vegetal associados a surtos de elevada letalidade em diversos países, representando, portanto um patógeno importante para a saúde pública. Produtos prontos para consumo, como embutidos cozidos, entre os quais as salsichas, estão associadas à listeriose humana em alguns países. Considerando a relevância do tema e a necessidade de dados, analisou-se a ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* no ambiente industrial, nas matérias-primas cárneas, emulsões e em salsichas produzidas nesses dois estabelecimentos com SIF, sendo que em um deles as ferramentas de autocontrole estavam implantadas. Os resultados das análises microbiológicas submetidos a análise de perigos, utilizando o programa @Risk, apresenta valores médios de que 7 a 9% das salsichas destinadas ao consumo possam conter *L. monocytogenes*. Na sorotipificação, realizada no Instituto Oswaldo Cruz, obteve-se 88 isolados de *L. monocytogenes* a partir de 106 amostras, sendo 76 colhidas durante um turno de produção diurno nas indústrias que participaram do experimento e 30 no varejo, sendo 95% dos sorotipos patogênicos 4b, 1/2a e 1/2b. Noções acerca do comportamento da população consumidora de salsichas quanto aos procedimentos de estocagem e as formas de consumo praticadas foram obtidas por meio da aplicação de 500 questionários de forma aleatória, demonstrando que a presença de sorotipos patogênicos de *L. monocytogenes* nas matérias-primas cárneas, bem como em salsichas comercializadas a granel, adquiridas nessa apresentação por cerca de 75% dos entrevistados, oferece riscos à população susceptível, especialmente relacionando-se aos fatos de que cerca de 40% dos consumidores admitem consumir salsichas diretamente da embalagem, sem antes submetê-las ao calor. Além das práticas de consumo, como fatores do risco desconhecido da presença de *L. monocytogenes* em salsichas consumidas no país, ressalta-se a escassez de dados epidemiológicos, a ausência de padrões, bem como a falta de informação ao consumidor, associada a relação incipiente entre órgãos regulamentadores e cidadãos.

Palavras-chave: ambiente industrial, contaminação, embutido cozido, listeriose.

ABSTRACT

Listeria monocytogenes is a gram-positive bacterium, anaerobic facultative, that grows under refrigerator temperature and it can cause listeriosis in human and animals. It is widely distributed in the environment and it has been isolated from food of animal and vegetal origin that was associated to outbreaks of high lethality in many countries. Thus, this bacterium represents an important pathogen to the public health. Ready-to-eat products, like cooked stuffed food, within them, frankfurters are associated to human listeriosis in many countries. Taking into consideration the importance of the subject and the need of data about it, the occurrence of *Listeria* spp. and *L. monocytogenes* in industrial plants, in meat raw materials, in slurry and frankfurters was investigated. These samples were harvest in this two production plants with FIS; in one of them GMP, HACCP and SOP were implemented. The results of the microbiological analysis were submitted to the program @Risk to obtain the danger analysis; the mean values results showed that 7 to 9% of the frankfurters in the market may have *L. monocytogenes*. After serological typification, performed by Oswaldo Cruz Institute, 88 strains of *L. monocytogenes* were obtained from 106 samples; among them, 76 were harvest in the industrial plants that participate in the experiment, during a day shift production and 30 were harvest in the market. In serological typification, 95% of these strains were classified as serotypes 4b, 1/2a and 1/2b. Impressions about the behavior of the population that consumes frankfurters in the matters of storage proceedings and the pattern of consumption were obtained by the application of 500 questionnaires at random. The results of these questionnaires showed that the presence of the pathogenic serotypes of *L. monocytogenes* in meat raw materials, as well in frankfurters commercialized by heaps, and purchased like this by about 75% of the consumers interviewed, may represent a danger to the susceptible population, especially when considering the fact of 40% of the consumers said that they eat the frankfurters directly from the package, without cooking them. Besides the consumption practices, as unknown risk factors of the presence of *L. monocytogenes* found in frankfurters consumed in the country, we also have lack of epidemiological data, absence of patterns as well the deficient information given to the consumer associated to the incipient relation between federal regulatory agencies and the people.

Key-words: contamination, cooked stuffed food, industrial plant, listeriosis.

1 INTRODUÇÃO

Produtos de salsicharia são conhecidos há mais de 500 anos, havendo divergências quanto a sua origem, se na Alemanha ou na Áustria. Naquela época, os camponeses temperavam a carne e a embutiam em envoltório suíno para conservá-la. Com a popularização do cachorro-quente ou *hot-dog* a partir dos Estados Unidos e com tantas variedades de composição, chegou-se a criar no imaginário popular certa desconfiança quanto a fabricação desse embutido cozido.

De fato, diferentes matérias-primas cárneas, condimentos e aditivos intencionais, constituem os embutidos cozidos, agregando valor às porções de carne que não são comercializadas *in natura* e aumentando as opções de escolha dos consumidores. Conforme dados do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) foi registrada em 2006 a produção de 347 mil toneladas de salsichas sob controle do Serviço de Inspeção Federal (SIF), sendo 93,7% da produção destinada ao mercado interno. O valor desse produto o torna acessível a todas as camadas sociais, sendo apreciado por crianças, adultos e idosos, nas formas mais variadas, sendo aquecido ou não antes do consumo.

Quanto aos aspectos relacionados à segurança, o processamento de salsichas na indústria, tal como de outros alimentos cárneos, deve ser rigorosamente controlado a partir da origem. A contaminação microbiológica da matéria-prima cárnea associada a problemas de manipulação higiênica e desvios de processamento, em particular do cozimento, podem resultar na presença de níveis inaceitáveis de microrganismos deteriorantes ou patogênicos no produto acabado. Associado a estes fatos, ressalta-se a possibilidade de manipulação em más condições higiênico-sanitárias nos pontos de venda, onde as salsichas podem ser comercializadas a granel, fato que intensifica a manipulação do produto e os riscos relacionados ao seu consumo.

No preparo, a salsicha pode ser utilizada sem aquecimento prévio pelo consumidor, que consiste em uma etapa final de destruição e ou redução da população de microrganismos eventualmente presentes no produto. Assim, a qualidade microbiológica do produto deve ser aceitável e rigorosamente garantida

como tal no estado em que se encontra na embalagem, sem que o processador assuma que o produto será aquecido antes do consumo, principalmente quando não dispõe dessa informação por meio do rótulo do produto adquirido.

A microbiota contaminante da matéria-prima cárnea é bastante variada e está relacionada com as condições de abate e o estresse do animal nesse momento, além da temperatura de refrigeração que é submetida após o abate. Entre os microrganismos contaminantes destaca-se *Listeria monocytogenes*, especialmente por suas características ubiqüitária e psicrotrófica.

Quadros clínicos desencadeados pela listeriose, como meningite, aborto e morte fetal estão associados a taxas de letalidade que podem chegar a mais de 30% (FISHER et al., 2000), sendo que recém-nascidos, idosos, mulheres grávidas e indivíduos imunocomprometidos estão propensos a serem acometidos pela doença.

No âmbito mundial da indústria de alimentos, o controle e a detecção de *L. monocytogenes* são motivos de preocupação, mesmo sabendo ser praticamente impossível a ausência absoluta deste organismo no ambiente industrial em decorrência de seu caráter ubíquo, sua multiplicação sob refrigeração e sua capacidade de formação de biofilmes, que aumenta sua resistência aos sanitizantes utilizados.

A dificuldade em identificar a origem da contaminação por *L. monocytogenes*, bem como suas rotas de propagação, associadas a persistência do patógeno no ambiente de processamento pode resultar em conseqüências desastrosas para o estabelecimento.

Os impactos negativos provocados por possíveis recolhimentos (*recall*) de produtos contaminados, as ações legais decorrentes, a necessidade de destruição ou reprocessamento de produtos e a provável perda de mercados são exemplos das conseqüências do potencial danoso da listeriose em virtude da elevada severidade da doença.

O primeiro surto de listeriose humana por alimentos foi documentado em 1980, no Canadá cujo alimento incriminado foi salada de repolho. Em 1983, nos Estados Unidos, registrou-se o segundo surto envolvendo leite pasteurizado e em 1985 houve um grande surto envolvendo queijo branco. A partir de então, o aumento da ocorrência de surtos incriminando diversos tipos de produtos de

origem animal e vegetal evidenciaram sua grande importância em saúde pública mundial. Desde a década de 1980, salsichas também foram incriminadas em diversos surtos e casos esporádicos nos Estados Unidos e outros países.

Nos Estados Unidos, os alimentos prontos para consumo são considerados adulterados quando contaminados por *L. monocytogenes*. A “tolerância zero” foi estabelecida pela severidade da doença, multiplicação da bactéria sob temperatura de refrigeração e desconhecimento da dose infectante.

Práticas duvidosas e ações negligentes na industrialização de alimentos devem ser combatidas, sendo imprescindível que as indústrias alimentícias tenham como desafio a produção de alimentos seguros à saúde e que satisfaçam as demandas de praticidade, palatabilidade e apresentação dos produtos comercializados. Assim, os estabelecimentos utilizam diversos métodos de processamento e conservação, que permitem a redução ou a eliminação dos microrganismos deteriorantes e patogênicos, mantendo suas propriedades químicas, físicas e sensoriais. Desta forma, a busca pelo equilíbrio entre qualidade e segurança do alimento tem sido objeto de estudo em diversos países, resultando em novas informações sobre o comportamento de microrganismos e no desenvolvimento de novas tecnologias.

Os métodos de conservação de alimentos mais empregados pelas indústrias envolvem fatores físicos, químicos e biológicos, sendo o tratamento a temperaturas elevadas o método mais comum e seguro, apesar da possibilidade de destruir nutrientes disponíveis nos alimentos. As tecnologias alternativas, como a radiação e o processamento sob alta pressão, assim como a combinação de tratamentos, conhecida como teoria dos obstáculos, utilizando-se inclusive ácidos, óleos e condimentos com ação bactericida ou bacteriostática, podem ajudar a garantir o equilíbrio entre segurança e qualidade.

Associada às tecnologias de produção empregadas, a efetiva implantação das ferramentas de autocontrole ao longo de toda cadeia produtiva, como as Boas Práticas Agropecuárias (BPA), de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC), são condição imprescindível para maximizar a qualidade e segurança dos alimentos resultantes, pois estes quesitos desejáveis somente podem ser atingidos de forma preventiva, pró-ativa e

sistemática, características dos autocontroles. Disso resulta que controles analítico-laboratoriais de produtos finais, prática ainda freqüente no Brasil, são insuficientes quando utilizados de forma isolada.

Assim, compete aos órgãos de fiscalização, impor aos componentes da cadeia produtiva, incluindo distribuição e ou varejo, a ampla e consistente utilização dos autocontroles, aplicados a tecnologias comprovadamente adequadas. Também compete à fiscalização definir mecanismos de verificação do cumprimento e observância do uso de tecnologias e dos controles necessários para a segurança do alimento, o que inclui procedimentos analítico-laboratoriais oficiais, assim como avaliar a necessidade de se aprimorar a comunicação com o consumidor, especialmente por meio das informações existentes nos rótulos dos produtos alimentícios, a exemplo da necessidade ou não de aquecimento antes do consumo.

A efetiva implantação das ferramentas de autocontrole, considerando o aspecto produto-processo específico são importantes para o controle de *L. monocytogenes* na indústria de alimentos, com monitoramento periódico pré-estabelecido, cujos resultados possibilitem avaliações e readequações das práticas adotadas pelos estabelecimentos, maximizando a segurança do alimento.

Ademais, pesquisas recentes mostram que cepas de *L. monocytogenes* variam consideravelmente em relação à resistência aos processamentos utilizados e novas cepas resistentes são ocasionalmente descobertas. Este patógeno pode ainda desencadear complexos mecanismos não-constitutivos de resposta às condições de estresse ácido, osmótico e térmico, ratificando a necessidade do estabelecimento de monitoramento contínuo do ambiente industrial bem como dos alimentos processados.

2 HIPÓTESES

Listeria spp e *L. monocytogenes* ocorrem no ambiente pós-cozimento de salsicharias como na matéria-prima cárnea antes do tratamento térmico.

Listeria spp. e sorotipos patogênicos de *L. monocytogenes* ocorrem no varejo, tanto em salsichas comercializadas na embalagem original, como a granel.

As práticas de consumo adotadas pelos consumidores de salsichas possibilitam a ingestão de produto contaminado por sorotipos patogênicos de *L. monocytogenes*.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 *Listeria monocytogenes* e listeriose

O gênero *Listeria* é caracterizado como bastonetes pequenos com 0,5 µm de diâmetro e 0,5 a 2,0 µm de comprimento, Gram-positivos, não-formadores de esporos (SEELIGER & JONES, 1986), com extremidades arredondadas e que podem apresentar forma cocóide ou filamentosa em culturas com dois a três dias (FARBER & PETERKIN, 1991; PHAN-THANH et al., 2000), podendo ser observadas isoladas ou em cadeias curtas (DONELLY, 2001; ROCOURT & BUCHRIESER, 2007; RYSER & MARTH, 2007). Assemelham-se a cocos em culturas velhas e perdem a habilidade em reter corantes de Gram (SEELIGER & JONES, 1986), o que pode levar a erros de identificação.

Desprovida de cápsula (LOGUERCIO et al., 2001) as espécies do gênero *Listeria* multiplicam-se em aerobiose ou anaerobiose, sendo favorecidas pela microaerofilia (ROCOURT & BUCHRIESER, 2007).

Listeria spp. possui pequenos flagelos peritríquios que lhe possibilitam sua motilidade característica, quando incubada entre 20°C e 25°C (SEELIGER & JONES, 1986; ROCOURT & BUCHRIESER, 2007), porém a 37°C o desenvolvimento dos flagelos é mais pobre, resultando em motilidade diminuída (SEELIGER & JONES, 1986).

Na atualidade, há seis espécies de *Listeria* conhecidas: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* e *L. grayi*, dessas apenas *Listeria monocytogenes* é patogênica para o homem (FARBER & PETERKIN, 1991; ROCOURT & BUCHRIESER, 2007). Com base nos antígenos somáticos (O) e flagelar (H) *L. monocytogenes* está dividida em 13 sorotipos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e 7 (FSIS/USDA/CFSAN/FDA/USDHHS, 2003).

A temperatura ótima para multiplicação de *L. monocytogenes* é de 37°C, porém, multiplica-se também sob refrigeração, não devendo esse método ser considerado eficaz para seu controle (HARMAYANI et al., 1993). Há diversos estudos documentando a tolerância desse patógeno a temperaturas de pasteurização (APHA, 2001).

Segundo JAY (2005), *Listeria monocytogenes* é um patógeno infeccioso intracelular, ubíquo e que tem sido associada com doenças de origem alimentar – listeriose – e, de acordo com TERATANAVAT & HOOKER (2004), é responsável por diversas operações de recolhimento (*recall*) de alimentos. A listeriose é enfermidade bastante severa, podendo ocorrer na forma de surtos ou casos esporádicos (FARBER & PETERKIN, 1991). A grande maioria (95%) das infecções humanas por *L. monocytogenes* são causados pelos sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b (GRAVES et al., 2007).

Quando ingerida por via alimentar, o período de incubação do patógeno varia de duas a três semanas, podendo chegar a três meses, sendo que a bactéria penetra no tecido intestinal e é exposta às células fagocíticas do sistema imune (GELLIN & BROOME, 1989), cuja função é destruir invasores microbianos. Entretanto, *L. monocytogenes* pode evitar esses mecanismos de destruição, evadindo-se, sobrevivendo e possivelmente se multiplicando no interior dos fagócitos hospedeiros (macrófagos). Pode ainda se mover através das vias sangüínea ou linfática do hospedeiro para vários tecidos. Uma vez nos tecidos pode invadir células, se multiplicar dentro delas, e então utilizar sua cauda de actina para alcançar as células adjacentes, sem exposição aos componentes humorais do sistema imune. A probabilidade de invasão do tecido depende do número de microrganismos ingeridos, suscetibilidade do hospedeiro e virulência da cepa (GELLIN & BROOME, 1989). Listeriolisina O, secretada por *L. monocytogenes*, consiste em uma proteína extracelular com atividade β -hemolítica sobre as células vermelhas e é considerada um de seus fatores de virulência (SAMPATHKUMAR et al., 1999). Formadora de poros está envolvida com a invasão do epitélio intestinal e contribui para a difusão do microrganismo célula a célula (JAY, 2005). Uma vez dentro da célula do hospedeiro a bactéria pode ter acesso ao citoplasma, devido à ação do poro formado por esta citolisina (SAMPATHKUMAR et al., 1999). O esquema do processo de invasão celular por *L. monocytogenes* está ilustrado na Figura 1.

As elevadas taxas de mortalidade resultantes de listeriose variam de 20% (GELLIN & BROOME, 1989) a 30% (ROCOURT, 1996; FISHER et al., 2000), sendo que a forma primária de transmissão do microrganismo ocorre por meio de alimentos (WHO, 1988; KATHARIOU, 2002).

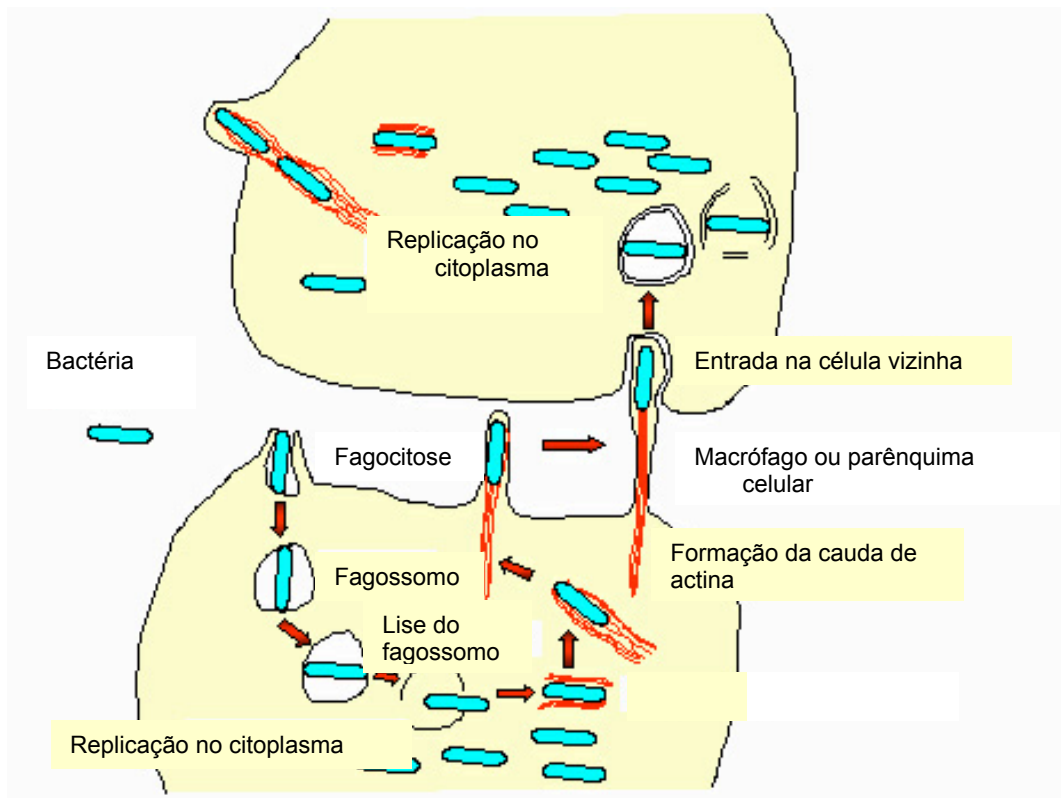


FIGURA 1 - Invasão por *Listeria monocytogenes*

Fonte: Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology

A listeriose é potencialmente fatal para recém-nascidos, idosos e pessoas com o sistema imune debilitado devido à doenças crônicas, podendo causar a morte por septicemia, encefalite e meningite. Também constitui grande preocupação para mulheres grávidas, na medida em que mesmo que os sintomas sejam relativamente amenos nas gestantes, a bactéria pode ser transmitida ao feto via placenta e levá-lo à morte (SCHUCHAT et al., 1991; FSIS/USDA, 2003). Em pessoas saudáveis a infecção pode causar febre, vômito e diarreia (MIETTINEN et al., 1999; RYSER & MARTH, 2007).

Como focos de concentração ambiental de *L. monocytogenes*, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (CDC) destaca ambientes úmidos e/ou frios incluindo sistemas de refrigeração e de ar condicionado; produtos lácteos incluindo queijos moles, produtos de rotisseria, salsichas e sítios específicos nas plantas de processamento de alimentos (CDC/DHHS, 2007a). Alguns estudos indicaram que certas partes de equipamentos, que são difíceis de sanitizar, como esteiras, picadoras, fatiadoras e embaladoras, estavam entre os principais sítios de *L. monocytogenes*, mesmo

após operações de limpeza (AUTIO et al., 2000; MIETTINEN et al., 1999; TOMPKIN, 2002).

Segundo NUFER et al. (2007), a contaminação por *L. monocytogenes* é uma das principais causas de recolhimento e retorno de alimentos industrialmente processados. Em 1999, o Serviço de Inspeção e Segurança de Alimentos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (FSIS/USDA), reconheceu *L. monocytogenes* como responsável por 50% dos recolhimentos de produtos cárneos cozidos e identificou, entre estes, os produtos prontos para o consumo a base de carne como veículos primários na transmissão da listeriose humana (USDA/FSIS, 2007).

A ingestão de carnes cruas, produtos clandestinos e possivelmente o consumo de alimentos artesanais, como também produtos livres de aditivos podem contribuir para o aumento do risco de listeriose humana, considerando que, embora presente no ambiente e na matéria-prima, uma das maiores fontes de contaminação de alimentos é o próprio processo de produção, agravado pela inexistência ou aplicação incorreta dos autocontroles a exemplo de Boas Práticas de Fabricação (BPF), Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (PPHO) e Análises de Perigos e Pontos Críticos de Controle (APPCC).

3.2 Ocorrência de *Listeria monocytogenes* em salsichas e persistência de cepas no ambiente industrial

A prevalência e a incidência de *L. monocytogenes* em produtos comercializados prontos para o consumo tem sido objeto de estudo em diversos países (WILSON, 1995; UYTENDAELE et al., 1999; AGUADO et al., 2001; GOMBAS et al., 2003; VAN COILLIE et al., 2004; VITAS & GARCIA-JALON, 2004; ANGELIDIS & KOUTSOUMANIS, 2006). Somente de 1986 a 1987, foram registrados 1600 casos de listeriose nos Estados Unidos da América (EUA) ocasionando 400 mortes e tendo como alimento envolvido salsichas que não foram aquecidas antes do consumo (SCHWARTZ et al., 1988; GELLIN et al., 1991). A destruição da bactéria pelo calor depende do binômio tempo e temperatura. Segundo PORTO et al. (2004), reaquecendo as salsichas antes do

consumo por 70°C/2min ou 80 a 90°C/0,6min, há redução significativa de *L. monocytogenes* previamente inoculada. Em 1989, o FSIS/USDA intensificou o programa de vigilância e recolhimento de produtos processados à base de carne vermelha e de aves, em decorrência da confirmação de um caso fatal de listeriose envolvendo salsicha de peru (BARNES et al., 1989).

No período de 1996 a 1997, foram detectados, nos EUA, 2.500 casos de listeriose alimentar, com cerca de 500 óbitos em cada um desses anos. Em 1998 e 1999, durante reformas em uma indústria, houve falhas na proteção e controle da linha de produção de salsichas, o que permitiu a contaminação do produto, gerando surtos de listeriose pelo consumo dessas salsichas processadas inadequadamente (FSIS/USDA/CFSAN/FDA/ USDHHS, 2003).

No ambiente industrial, os microrganismos podem estar em suspensão, condição essa denominada planctônica ou de livre flutuação (JAY, 2005), ou podem se organizar em comunidades na forma de biofilmes, que se fixam à superfície e permanecem inclusos em uma matriz composta predominantemente de material polissacarídeo (GANDHI & CHIKINDAS, 2007).

Algumas cepas de *L. monocytogenes* podem persistir no ambiente de processamento por longos períodos, havendo relatos de persistência até por mais de 10 anos (KATHARIOU, 2002; TOMPKIN, 2002); porém, os fatores relacionados à persistência ou não de *L. monocytogenes* no ambiente de processamento de alimentos ainda não são bem entendidos. Há sugestões de que esta persistência esteja relacionada com a habilidade de algumas cepas formarem biofilmes e assim resistirem aos sanitizantes (HOLAH et al., 2002).

Para MORETRO & LANGSRUD (2004), *L. monocytogenes* pode se estabelecer no ambiente industrial por anos, e a persistência está freqüentemente associada com equipamentos ou ambientes de difícil higienização.

A adesão de *Listeria monocytogenes* pode ocorrer sobre vários tipos de superfícies (DONLAN, 2002). Na indústria de alimentos, as superfícies de equipamentos e de substâncias selantes impermeáveis, cintas transportadoras e ralos são potenciais reservatórios de *Listeria* spp. (LADO & YOUSEF, 2007).

As etapas de formação de biofilmes de *L. monocytogenes* sobre superfícies sólidas ocorrem a partir da deposição das células sobre a superfície, seguida pela adesão, colonização, formação propriamente dita e desenvolvimento

do biofilme (CHAVANT et al., 2002). Segundo os mesmos autores, são claramente observados, por meio de microscopia eletrônica, canais de água no interior dos biofilmes, por onde circulam nutrientes e gases dissolvidos e são eliminados produtos do metabolismo das bactérias.

Cada uma das etapas de formação dos biofilmes é dependente de diversos fatores, como as características genéticas e superfície celular da bactéria, propriedades da superfície de fixação e parâmetros ambientais, como temperatura e pH (DONLAN, 2002).

Segundo BASSLER (2002), estudos têm mostrado que a sinalização (*quorum sensing*) entre as células pode regular a virulência, bioluminescência, esporulação e a formação de biofilmes entre as bactérias. XAVIER & BASSLER (2003), definiram essa sinalização entre as células como um processo de comunicação que envolve a produção e a detecção de sinalizadores moleculares extracelulares chamados auto-indutores.

Os biofilmes bacterianos apresentam maior resistência aos sanitizantes e outros agentes microbianos (ROBINNS et al., 2005) como também podem apresentar células em estado viável, mas não-cultivável (JAY, 2005).

Estresses causados por refrigeração, desidratação, congelamento, aquecimento, presença de ácidos e sais, bem como a exposição à desinfetantes ou outras substâncias antimicrobianas são de grande importância para modular o estado fisiológico de *L. monocytogenes*, em particular para sua virulência (KATHARIOU, 2002; RYSER & MARTH, 2007).

Em estudo realizado no Brasil, DELGADO DA SILVA et al. (2001), concluíram que a origem da contaminação de queijos, provenientes de indústrias, por *L. monocytogenes* provavelmente ocorreu após o processamento, uma vez que a legislação brasileira determina que todos os queijos industrializados sejam preparados com leite previamente pasteurizado; processo que destrói o patógeno (MONTVILLE & MATTHEWS, 2005; SWAMINATHAN et al., 2007).

Os estudos de LIANOU et al. (2007) indicaram que a estocagem domiciliar de peito de peru contaminado por *L. monocytogenes* ainda na indústria pode expor o consumidor a contagens iguais ou maiores do patógeno, quando comparado com o produto que foi contaminado no ponto de venda ou de

consumo, dependendo do uso e eficácia de substâncias inibidoras utilizadas e do tempo de estocagem sob refrigeração.

De modo geral, *L. monocytogenes* é um patógeno ubíquo, recalcitrante e de difícil controle. Para minimizar a contaminação por *L. monocytogenes* em salsichas é importante identificar as fontes, as rotas e os isolados do patógeno nos estabelecimentos. As ferramentas de autocontrole BPF, PPHO e APPCC, quando efetivamente implantadas pela indústria, constituem controles preventivos, pró-ativos, dinâmicos e sistemáticos da cadeia produtiva, que minimizam os riscos associados ao consumo dos alimentos e, em particular, os relativos a eventual presença de *L. monocytogenes* nos alimentos (SHANK et al., 1996; REIJ & DEN AANTREKKER, 2004).

3.3 Produção e consumo de salsichas no Brasil

Desde a década de 1970, a dieta tradicional do brasileiro vem sendo modificada e, entre estas mudanças, o consumo de embutidos, como as salsichas, frios e lingüiças, aumentou em 300% (BRASIL, 2006b).

Em 2006, o volume de produção de salsichas nos 81 estabelecimentos produtores desse tipo de produto sob controle do SIF, foi da ordem de 347 mil toneladas (Tabela 1), sendo que deste montante, 325 mil toneladas (93,7%) foram destinados ao mercado interno e 21 mil toneladas (6,3% da produção) foram exportados para 52 países (Tabela 2). Os estados brasileiros que mais exportaram foram os da região sul, destacando-os também como os maiores produtores. Estes dados permitem concluir que aproximadamente sete bilhões de unidades de salsichas são consumidas anualmente no mercado nacional, com risco associado à listeriose praticamente desconhecido.

TABELA 1 - Produção de salsichas (t) por Estado e percentual por Região em estabelecimentos sob SIF no ano de 2006

Região	Estado	Número de estabelecimentos produtores	Quantidade produzida (t)
Sul	Santa Catarina	11	105.518
	Rio Grande do Sul	15	50.107
	Paraná	9	5.518
		35	161.143
		(43,21%)	(46,32%)
Sudeste	São Paulo	29	52.818
	Rio de Janeiro	2	44.536
	Minas Gerais	7	33.545
	Espírito Santo	1	642
		39	131.541
		(48,15%)	(37,81%)
Centro Oeste	Mato Grosso do Sul	1	21.889
	Goiás	2	13.410
	Distrito Federal	1	3.962
		4	39.261
		(4,94%)	(11,28%)
Nordeste	Pernambuco	1	9.910
	Bahia	1	5.884
	Ceará	1	148
		3	15.942
		(3,70%)	(4,58%)
Total		81	347.889

Fonte: SIGSIF/DIPOA/MAPA (2007).

TABELA 2 – Exportação de salsichas (t) e percentual exportado por Região em 2006

Região	%	Estado	Quantidade exportada (t)	Destino*
Sul	97,38%	Rio Grande do Sul	14.749	1; 2; 3; 6; 7; 9; 10; 11; 12; 13; 14; 16; 17; 18; 19; 20; 21; 22; 25; 26; 27; 28; 30; 31; 32; 33; 34; 35; 36; 37; 39; 41; 43; 44; 45; 46; 47; 48; 50
		Santa Catarina	5.998	1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 10; 13; 14; 15; 16; 23; 24; 29; 30; 31; 37; 42; 44; 47; 49; 51; 52
		Paraná	570	2; 6; 10; 13; 16; 19; 26; 29; 30; 31; 37; 38; 45; 52
			21.317	
Sudeste	1,03%	São Paulo		3; 16; 40; 42
		Rio de Janeiro	225 0,3 225,3	1
Centro Oeste	1,56%	Mato Grosso do Sul	341	1; 10; 37
Nordeste	0,04%	Pernambuco	8	-
Total	6,3%		21.891,3	

*Destino: 1- Angola; 2- Arábia Saudita; 3- Armênia; 4- Aruba; 5- Azerbaijão; 6- Bahrein; 7- Benin; 8- Bermudas; 9- Cabo Verde; 10- Catar; 11- Congo; 12- Costa do Marfim; 13- Kuwait; 14- Cuba; 15- El Salvador; 16- Emirados Árabes Unidos; 17- Estados Unidos; 18- França; 19- Gabão; 20- Gâmbia; 21- Gana; 22- Guiana; 23- Guiné Bissau; 24- Guiné Equatorial; 25- Haiti; 26- Iemem; 27- Irã; 28- Iraque; 29- Japão; 30- Jordânia; 31- Líbano; 32- Libéria; 33- Líbia; 34- Marrocos; 35- Maurício; 36- Maurítânia; 37- Omã; 38- Paraguai; 39- Quênia; 40- Rep. Casaquistão; 41- Rep. Centro Africana; 42- Rep. Da Geórgia; 43- Rep. Tadjiquistão; 44- Rep. Uzbequistão; 45- Rússia; 46- São Tomé e Príncipe; 47- Suriname; 48- Togo; 49- Trinidad e Tobago; 50- Turcomenistão; 51- Turquia; 52- Venezuela.

Fonte: SIGSIF/DIPOA/MAPA (2007).

O Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de salsicha (BRASIL, 2000) define o produto da seguinte forma:

Salsicha é o produto cárneo industrializado, obtido da emulsão de carne de uma ou mais espécies de animais de açougue, adicionados de ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial ou por processo de extrusão, e submetido a um processo térmico adequado.

O Quadro 1 apresenta a nomenclatura oficial e a composição, quanto a porção animal, de diferentes tipos do produto denominado – “Salsicha” -, que são produzidos no Brasil em estabelecimentos sob SIF conforme o RTIQ (BRASIL, 2000).

QUADRO 1 - Classificação do produto – “Salsicha” - quanto à nomenclatura e composição (porção animal).

Denominação do produto	Composição (porção animal)
Salsicha	Carnes de diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separadas até o limite máximo de 60%, miúdos comestíveis de diferentes espécies de animais de açougue (estômago, coração, língua, rim, miolo, fígado), tendão, pele e gordura.
Salsicha Tipo Viena	Carne bovina e/ou suína e carnes mecanicamente separadas até o limite máximo de 40%, miúdos comestíveis de bovino e/ou suíno (estômago, coração, língua, rim, miolo, fígado), tendão, pele e gordura.
Salsicha Tipo Frankfurt	Carne bovina e/ou suína e carnes mecanicamente separadas até o limite de 40%, miúdos comestíveis de bovino e/ou suíno (estômago, coração, língua, rim, miolo, fígado) tendão, pele e gordura.
Salsicha Frankfurt	Porções musculares de carne bovina e/ou suína e gordura.
Salsicha Viena	Porções musculares de carne bovina e/ou suína e gordura.
Salsicha de Carne de Ave	Carne de ave e carne mecanicamente separada de ave no máximo de 40%, miúdos comestíveis de ave e gordura.

Fonte: BRASIL (2000).

Ainda quanto à composição, o Parágrafo 1º do artigo 376 do Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal - RIISPOA (BRASIL, 1997) estabelece que, no caso de embutidos cozidos (salsichas tipo Viena, tipo Frankfurt e outras), a percentagem de água não deve ultrapassar 10%, e o artigo 414, em seu Parágrafo único, determina que as salsichas só podem conter amido ou fécula na proporção máxima de 2%.

3.4 Efeitos da temperatura sobre *Listeria monocytogenes*

Quanto ao tratamento térmico, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) (BRASIL, 2000) ressalta que as salsichas devem ser tratadas termicamente em conformidade com as seções 7.5 e 7.6.1 à 7.6.7 do "Código Internacional Recomendado de Práticas de Higiene para Alimentos pouco Ácidos e Alimentos pouco Ácidos Acidificados Envasados".

Porém, mesmo com o tratamento térmico das salsichas, *L. monocytogenes* pode ser encontrada no produto final devido à falhas no processo de cozimento ou por contaminação pós-processo (McKELLAR et al., 1994; WENGER et al., 1990; ANONYMOUS, 1988).

Para o Governo dos EUA (FSIS/USDA/CFSAN/FDA/USDHHS, 2003), as salsichas não submetidas ao calor são consideradas como um dos principais alimentos prontos para consumo associados à risco relativamente alto de causar listeriose. PORTO et al. (2004) observaram que, reaquecendo as salsichas por dois minutos à 70°C ou por 0,6 min entre 80 – 90°C, houve redução de 5 log na população do patógeno em salsichas formuladas com ou sem lactato de potássio como inibidor do crescimento bacteriano, e que foram armazenadas a 4 ou -18°C. No entanto, SCHULTZE et al. (2007) concluíram que temperatura acima de 60°C por mais de 15 minutos, tornaria o tratamento térmico mais efetivo para destruição de *L. monocytogenes*, porém, tais medidas poderiam prejudicar algumas qualidades sensoriais do produto.

No Brasil, dados sobre a ocorrência de *L. monocytogenes* em salsichas são escassos e as normas brasileiras vigentes não determinam que o fabricante faça constar no rótulo a necessidade de aquecimento ou fervura das mesmas antes do consumo. Portanto, as salsichas podem ou não ser reaquecidas antes do consumo, o que aumenta a complexidade do problema de controle do patógeno no país.

SAMELIS & METAXOPOULOS (1999) constataram a sobrevivência de *L. monocytogenes* em um tipo de salsicha cuja temperatura final atingia 65 - 68°C, mas não constataram sua sobrevivência em salsichas que foram cozidas em fornos por 90 min e que atingiam 74°C no interior do produto, concluindo que o cozimento insuficiente pode ser responsável tanto pela presença do

microrganismo em produtos cozidos, como também pelo aumento de resistência bacteriana induzida pelo estresse sub-letal. Segundo GANDHI & CHIKINDAS (2007), alimentos armazenados sob refrigeração, como as salsichas, causam preocupação quanto a presença de *L. monocytogenes*, a menos que sejam reaquecidos de forma adequada antes do consumo.

Os hábitos alimentares contemporâneos provavelmente contribuem para aumentar os casos de listeriose, já que a natureza psicrotrófica dessa bactéria permite sua multiplicação durante o armazenamento e distribuição sob refrigeração (LOGUERCIO et al., 2001), processo frequentemente utilizado para conservação de alimentos convenientes, prontos para o consumo.

As condições ideais de temperatura para a multiplicação de *L. monocytogenes* estão entre 30 e 37°C (DONNELLY, 2001). Portanto, pode-se concluir que quando a temperatura está próxima a 30°C o tempo de geração de *L. monocytogenes* diminui significativamente e que alimentos estocados sob temperatura de refrigeração podem apenas retardar, mas não previnem a multiplicação de *L. monocytogenes*.

As funções fisiológicas da bactéria em ambiente frio ocorrem devido a persistência líquida e cristalina da membrana fosfolipídica mantendo sua fluidez e conseqüentemente a multiplicação da bactéria em baixas temperaturas, sendo que a composição dos ácidos graxos determina se as membranas estão em estado líquido-cristalino (LADO & YOUSEF, 2007). As membranas de *L. monocytogenes* contêm mais de 95% de ácidos graxos. Quando a bactéria se multiplica a 37°C, 41 a 52% desses ácidos são anteiso-C_{15:0}; 24 a 51% são anteiso-C_{17:0} e 2 a 18% são iso-C_{15:0} e quando se multiplica a 5°C, anteiso-C_{15:0} passa a ser o grupo predominante, com 65 a 85% do total dos ácidos graxos (ANNOUS et al., 1997). Essa redução na proporção de cadeias alifáticas longas (C_{17:0}) e o aumento de ramos assimétricos reduz as interações de Van der Waals entre os constituintes da membrana (LADO & YOUSEF, 2007). Esse tipo de lipídio na membrana a mantém mais fluida e facilita o transporte transmembranar sob baixas temperaturas (JAY, 2005).

Embora *L. monocytogenes* não se multiplique em temperaturas menores que -1,5°C, pode sobreviver em temperaturas muito baixas (EL-KEST & MARTH, 1991). O congelamento e a estocagem a -18°C inativa 1 a 2 log₁₀UFC

da população e causa injúrias em mais de 50% das células (LADO & YOUSEF, 2007). No entanto, repetições de congelamento e descongelamento causam o rompimento da membrana celular da bactéria permitindo o vazamento do conteúdo citoplasmático (EL-KEST & MARTH, 1991; JAY, 2005).

A exposição de *L. monocytogenes* a temperaturas subletais entre 43 e 52°C resultam em mudanças fisiológicas, aumentando sua resistência aos ambientes inóspitos (FARBER & BROWN, 1990). Geralmente, as células de *L. monocytogenes* pré-adaptadas a temperaturas elevadas são mais resistentes ao estresse do que aquelas que se multiplicam em temperaturas ótimas (LADO & YOUSEF, 2007). Portanto, a manutenção de alimentos a temperaturas sub-letais deve ser analisada com cautela, tendo em vista as respostas de resistência adquirida do patógeno e as necessidades maiores de seu adequado controle.

A adaptação de *L. monocytogenes* em níveis subletais de estresse ambiental, seja por ácidos, sais, altas ou baixas temperaturas ou por privação de nutrientes, eleva a capacidade de sobrevivência do patógeno durante os processos de congelamento, estocagem e aos ciclos de congelamento-descongelamento (LOU & YOUSEF, 1997).

Segundo SAMPATHKUMAR et al. (1999), quando células de *L. monocytogenes* foram submetidas ao binômio subletal de 48°C por 1h, quase toda listeriolisina O era inativada ou não disponibilizada no meio extracelular, porém essas mesmas células injuriadas, quando retornadas a 37°C por 2 a 4 horas, reiniciavam a produção de listeriolisina O, potencializando dessa forma sua virulência. Os resultados obtidos evidenciaram a necessidade de controle rigoroso dos tratamentos térmicos praticados, com ênfase para os alimentos prontos para consumo, entre os quais, os embutidos cozidos.

Segundo LADO & YOUSEF (2007), temperaturas elevadas causam prejuízos celulares múltiplos e irreversíveis a *L. monocytogenes*, que resultam em morte celular. No entanto, a bactéria é relativamente resistente aos tratamentos utilizados quando comparada a outros microrganismos não-esporulados. Como conseqüência, novas estratégias de intervenção e avaliação da eficácia dos processos convencionais vêm sendo estudadas, particularmente aquelas que envolvem o tratamento por temperaturas elevadas. A destruição térmica de *L.*

monocytogenes está relacionada ao pH da suspensão, onde a resistência aumenta em valores próximos a pH 7 e diminui em pH ácido (JAY, 2005).

A composição do alimento é um dos fatores intrínsecos relacionados com a resistência de *L. monocytogenes* ao tratamento térmico (LADO & YOUSEF, 2007), já que alguns componentes do alimento podem proteger o microrganismo. A variação na resistência térmica de *L. monocytogenes* em função da composição do alimento pode estar associada com a disponibilidade de nutrientes que permitem sua multiplicação. A privação a nutrientes pode desencadear respostas adaptativas do patógeno ao estresse elevando sua resistência térmica (LOU & YOUSEF, 1996).

A estirpe e o estado fisiológico da bactéria, entre outros fatores, são determinantes sobre sua resistência térmica. Portanto, os processos de validação de tratamentos térmicos devem avaliar a destruição de cepas de *L. monocytogenes* que tenham resistência a temperaturas elevadas, sendo que alguns estudos utilizam misturas de várias cepas com o intuito de minimizar o risco de se subestimar a resistência térmica do patógeno (LADO & YOUSEF, 2007).

3.5 Ingredientes com ação antimicrobiana

3.5.1 Cloreto de sódio

Listeria monocytogenes multiplica-se em meios contendo até 10% de NaCl (SEELIGER & JONES, 1986). Porém, segundo ISOM et al. (1995) em meios com mais de 6% de NaCl, ocorre formação de colônias com superfície enrugada e bordas irregulares, com alteração da morfologia celular normal para haste filamentosa e deformada, com superfície fortemente hidrofílica (BEREKSI et al., 2002), que segundo ZAIKA & FANELLI (2003), contribui para a adaptação à condições adversas. No entanto, segundo LADO & YOUSEF (2007), não se sabe se essas mudanças facilitam a persistência do patógeno no ambiente de processamento, no alimento ou na superfície de equipamentos.

Analogamente ao caso do estresse ácido, *L. monocytogenes* altera sua regulação gênica para aumentar ou diminuir a síntese de várias proteínas visando

tolerar o estresse provocado pelo ambiente salgado (GHANDI & CHIKINDAS, 2007).

A viabilidade celular em ambientes com alta concentração de sal depende da manutenção do potencial eletroquímico através da membrana celular, bem como de uma baixa concentração de Na^+ no citoplasma, independente da concentração extracelular de NaCl (GARDAN et al., 2003).

Sob alta salinidade, a membrana celular do patógeno sofre alterações, aumentando os ácidos graxos anteiso- $\text{C}_{15:0}$ e diminuindo os anteiso- $\text{C}_{17:0}$, o que também ocorre sob temperaturas de refrigeração (CHIHIB et al., 2003). Segundo LADO & YOUSEF (2007), as razões para estas mudanças não estão esclarecidas e podem estar relacionadas com o aumento da concentração de osmoprotetores no citoplasma.

A termotolerância de *Listeria* aumenta ligeiramente com a elevação da concentração de NaCl, pois a alta concentração de sal tende a aumentar a temperatura de desnaturação dos ribossomos da bactéria (STEPHENS & JONES, 1993).

De acordo com o RTIQ para salsichas (BRASIL, 2000), o sal é considerado ingrediente obrigatório, não havendo limites especificados quanto a sua utilização.

3.5.2 Nitrito de sódio

Esse agente de cura inibe levemente a multiplicação de *Listeria monocytogenes* (USDA/FSIS, 2003). A fase *lag* e o tempo de geração aumentam quando a concentração de nitrito foi elevada de 0 para 150 ppm em caldo nutriente, e a inibição aumentou quando a ação do nitrito foi combinada com baixa temperatura e pH, redução do nível de oxigênio ou com o aumento da concentração de NaCl (BUCHANAN et al., 1989). No entanto, segundo LADO & YOUSEF (2007), o mecanismo de ação do nitrito contra *L. monocytogenes* em alimentos processados é desconhecido.

Segundo a legislação brasileira, as concentrações residuais máximas de nitrito e nitrato em carnes e derivados são de 150 a 300 mg/kg, respectivamente, e expressas como nitrito de sódio (BRASIL, 1999; BRASIL, 2007b).

3.6 Detecção/identificação e isolamento de *Listeria monocytogenes*

Em decorrência dos surtos e casos isolados de listeriose diagnosticados em vários países, a partir da década de 1980 surgiram diversos métodos e técnicas para a detecção do agente etiológico.

Vários autores afirmam que os métodos convencionais para pesquisa de *L. monocytogenes* são demorados, pouco específicos e não permitem a detecção do patógeno quando a contagem na amostra é muito baixa, e nesse aspecto, face ao grau de especificidade, rapidez e reprodutibilidade, as técnicas moleculares vêm substituindo os métodos convencionais (AGUADO et al., 2004; GASANOV et al., 2005).

No Brasil, a Instrução Normativa Nº 62/2003 do MAPA estabelece os “Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água”. Consta em seu Capítulo XIV – Pesquisa de *Listeria monocytogenes*, aplicada aos alimentos cárneos e lácteos (BRASIL, 2003).

3.7 *Listeria monocytogenes*: aspectos legais

No cenário mundial, ações mitigatórias e de vigilância, assim como padrões de aceitação para *L. monocytogenes* em alimentos não são estabelecidos de forma comum, haja vista as dificuldades na obtenção de dados epidemiológicos acerca do assunto, bem como a incipiência das políticas públicas em muitos países no que diz respeito à segurança dos alimentos.

As agências regulatórias dos EUA consideram as evidências científicas ainda limitadas para definir o número mínimo de células de *L. monocytogenes* que pode ser ingerido para causar listeriose. Esta informação é especialmente importante para as populações suscetíveis e, embasadas nisto, as Agências Americanas estabeleceram a “tolerância zero” para *L. monocytogenes* em produtos cozidos e prontos para consumo (FSIS/USDA/CFSAN/FDA/USDHHS, 2003). Na definição desse limite, consideraram também o fato da bactéria se multiplicar em temperaturas de refrigeração podendo alcançar número suficiente para causar a infecção (SHANK et al., 1996), caso a matriz alimentar permita.

Ressaltam ainda que a contínua pressão regulatória pela “tolerância zero” tem resultado em melhoria nas condições sanitárias das indústrias (SHANK et al., 1996; FSIS/USDA/CFSAN/FDA/USDHHS, 2003).

Por outro lado, o limite de 100 UFC/g para *L. monocytogenes* em alimentos que apresentam baixa ou muito baixa probabilidade do microrganismo se multiplicar, a exemplo de queijos duros, sorvetes, entre outros produtos, a exemplo daqueles que possuem prazo de validade muito curto, encontra-se em avaliação nos EUA (DHHS/FDA, 2004), refletindo os debates correntes no âmbito da Comissão do Codex Alimentarius de Higiene dos Alimentos (CCFH) (DHHS/FDA, 2008).

Como política de controle de doenças veiculadas por alimentos, desde 1973 o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) mantém um programa de vigilância de doenças de origem alimentar (OLSEN et al., 2000), e desenvolveu em 1996 uma Rede Nacional de Sub-tipificação Molecular para vigilância dessas doenças, denominada PulseNet. Esta ferramenta tem por base a utilização da Eletroforese em Campo Pulsado (PFGE) para a sub-tipificação de muitas bactérias patogênicas (PULSENET AMÉRICA LATINA, 2007). Entre os anos de 1998 a 2004 foi observado um declínio na incidência de infecções causadas por patógenos alimentares, entre os quais consta *Listeria monocytogenes* (ANONYMOUS, 2005) sendo que no período de 1999 a 2005, foram confirmados 15 surtos causados por *L. monocytogenes* (CDC/DHHS, 2007b).

Atualmente, pesquisadores norte-americanos estão sequenciando os genomas de quatro cepas (três sorotipos) de *Listeria monocytogenes* para determinar se estas seqüências influenciam a virulência e a persistência do patógeno (USDA/ARS, 2006).

Na regulamentação Européia, a presença de *L. monocytogenes* em produtos prontos para consumo não deve ultrapassar o limite de 100 UFC/g até o fim do prazo de validade para os produtos onde *L. monocytogenes* não se multiplica. No entanto, para os produtos que permitem o crescimento da bactéria o limite é de ausência do patógeno em 25 g (EUROPEAN COMMISSION, 2005).

Segundo TODD (2007), na avaliação do Codex quanto a estimativa de risco de *L. monocytogenes* em alimentos que permitem ou não sua multiplicação,

bem como condições e tempo de estocagem desses alimentos, verificou-se que para peixes defumados, reduzindo o prazo de validade em 50% (1-28 dias para 1—14 dias), se reduzia o risco de multiplicação do patógeno em 80%.

Na América Latina, as doenças veiculadas por alimentos representam cerca de 70% dos casos de enfermidades diarréicas agudas, segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (PULSENET AMÉRICA LATINA, 2007), porém somente têm sido registrados casos isolados, talvez por falta de estrutura laboratorial e médica adequada. México e Peru têm casos confirmados de listeriose neonatal.

No Brasil, a listeriose não é uma doença cuja notificação seja obrigatória (BRASIL, 2006a), portanto, não há notificação de casos individuais, mas somente em situações de surtos. No período de 1999 a 2006, não se constata registros de surtos de listeriose notificados ao sistema de Vigilância Epidemiológica dos surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) do Ministério da Saúde (BRASIL, 2007a). Na legislação brasileira, os padrões microbiológicos para *Listeria monocytogenes* são expressos em presença ou ausência em 25g e contempla queijos (BRASIL, 2001), carne cozida congelada e *beef jerky* (BRASIL, 2004), estes últimos para exportação para os EUA. Para os embutidos não há exigência legal à pesquisa do referido patógeno.

Mesmo com poucas informações disponíveis, há trabalhos que evidenciam a presença da bactéria associada a quadros clínicos. HOFER et al., (1998), isolaram *L. monocytogenes* de pacientes com meningite no Distrito Federal e afirmaram que, em nosso meio, as referências sobre isolamento e identificação de *L. monocytogenes* a partir de processos ou de espécimes clínicos ainda eram muito exíguas. Salientaram ainda que na maioria das regiões não havia registro de detecção da bactéria.

SCHWAB & EDELWEISS (2003), encontraram *L. monocytogenes* em 50 placentas provenientes de abortos e partos prematuros ocorridos em hospital de Porto Alegre-RS, e relataram que a incidência de listeriose não era bem conhecida, e que as causas das placentites quase não eram investigadas para este agente etiológico.

BRANCO et al., (2003) analisaram 84 amostras de queijo de coalho industrializado de diferentes marcas, constatando que 19% estavam contaminadas com *Listeria monocytogenes*.

Em 1999, por meio de uma parceria entre a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), e Instituto Pan-Americano de Alimentos da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS), foi implantado o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos (VE-DTA), que tem como objetivo geral reduzir a incidência das Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs) no Brasil (BRASIL, 2005). Em consulta aos dados disponíveis no sistema implantado há dez anos, constata-se a ausência de registros de surtos de listeriose no Brasil.

Na atualidade, devido ao incremento na busca por alimentos prontos para o consumo, os problemas com listeriose tendem a se agravar (FARBER et al., 1996), já que esses produtos e seus ingredientes geralmente são estocados à temperatura de refrigeração por certo período, o que permite a multiplicação de *L. monocytogenes* (PINNER et al., 1992).

Com base nas informações disponíveis em âmbito mundial, em especial àquelas provenientes dos países onde a atuação da vigilância epidemiológica apresenta resultados que comprovam a existência do perigo e a necessidade de seu monitoramento e controle, constata-se que além da participação do Brasil nas reuniões do Codex Alimentarius, a determinação de limites, assim como a implantação de programas de verificação e controle de *Listeria monocytogenes* para produtos destinados ao mercado interno, a exemplo dos embutidos cozidos, devem ser considerados pelos órgãos reguladores e fiscalizadores responsáveis.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Verificar a ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* durante um turno de produção de salsichas em duas indústrias sob Serviço de Inspeção Federal (SIF), bem como em pontos do varejo, e avaliá-los por meio de análise de risco, considerando as práticas de consumo adotadas pelos consumidores.

4.2 Objetivos específicos

Obter dados acerca do processo de produção de salsichas e das ferramentas de autocontrole adotadas pelos estabelecimentos envolvidos no estudo;

Detectar se *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* estão presentes na área pós-cozimento do ambiente industrial, na matéria-prima cárnea, emulsão e nas salsichas tipo *hot dog* produzidas em duas salsicharias sob SIF;

Detectar se *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* estão presentes em salsichas procedentes dos dois estabelecimentos envolvidos no estudo, porém adquiridas no varejo, tanto a granel como embaladas;

Obter informações sobre as práticas de compra, estocagem e hábitos de consumo da população consumidora de salsichas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Aplicação de questionários

Com o intuito de obter informações acerca da produção de salsichas e das ferramentas de autocontrole utilizadas pelas indústrias, assim como dos hábitos adotados pela população consumidora de salsichas, foram aplicados dois questionários conforme descrito.

5.1.1 Nas indústrias

Aplicou-se o questionário (ANEXO 1) ao Serviço de Inspeção Federal e à equipe do controle de qualidade de cada estabelecimento durante visita ao acaso, sem comunicação prévia, nos meses de setembro e outubro de 2007, nas indústrias 01 e 02, respectivamente. Foram enfatizados os tópicos contemplados pelas ferramentas de autocontrole (BPF, PPHO e APPCC) envolvendo fluxo e tecnologia de produção, formulação do produto e aspectos higiênico-sanitários no âmbito da salsicharia.

5.1.2 À população consumidora de salsichas

Aplicou-se questionário à população consumidora de salsichas (ANEXO 2) de forma aleatória, a 500 entrevistados no momento da compra de salsichas, sendo 300 nas cidades de Cuiabá e Várzea Grande, no Estado de Mato Grosso, distribuídos por 11 supermercados, e para 200 cidadãos em oito supermercados da cidade de Goiânia-GO. As entrevistas foram realizadas no período de julho a dezembro de 2007 com permissão dos estabelecimentos.

5.2 Amostragem

Os dois estabelecimentos industriais que fizeram parte do experimento foram codificados como 01 e 02, e caracterizados de acordo com (i) identificação do estabelecimento, (ii) volume de produção, (iii) data da colheita, (iv) tipo de salsicha em produção e (v) implantação das ferramentas de autocontrole (BPF, PPHO e APPCC).

Em visita realizada ao acaso foram colhidas 36 amostras na indústria 01 no mês de setembro de 2007 e 40 amostras na indústria 02 em outubro de 2007, constituídas por *pool* de *swabs* ambientais de superfícies da área pós-cozimento e amostras de porções da matéria-prima cárnea, emulsão e do produto acabado, em períodos alternados ao longo da linha de produção de salsichas, conforme o fluxo de produção de cada estabelecimento.

As amostras do varejo foram adquiridas em março de 2008, nos oito supermercados onde foram permitidas as entrevistas aos consumidores. Foram amostradas salsichas embaladas e a granel, todas produzidas nos dois estabelecimentos participantes do experimento.

5.2.1 Amostras de alimentos nas indústrias

Colheram-se, aleatoriamente e em períodos distintos, ao longo da linha de produção de cada estabelecimento, em assepsia, 10 amostras de 500 g das carnes utilizadas como matéria-prima para a produção de salsichas, 10 amostras de 500 g de emulsão e 10 amostras do produto acabado, pronto para o consumo, todas resfriadas. Uma vez colhidas, foram identificadas, acondicionadas em sacos de polipropileno esterilizados e encaminhadas sob refrigeração (4°C), ao Laboratório de Microbiologia do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (CPA/EV/UFG) para análise.

5.2.2 Swabs do ambiente pós-cozimento

A colheita de *swabs* no ambiente de salsicharia ocorreu durante o desenvolvimento das atividades de produção, nas áreas pós-cozimento de cada indústria, sendo a quantidade estabelecida de acordo com a tecnologia e fluxo de produção empregada em cada indústria, gerando, portanto, diferença no número de amostras. Foram avaliadas superfícies de contato direto com o produto tais como equipamentos e luvas dos manipuladores e, superfícies sem contato com o produto, a exemplo de ralos, paredes e aventais dos manipuladores.

A área para colheita nessas superfícies pré-estabelecidas foi de 100 cm² e executada com auxílio de gabaritos previamente esterilizados. Os *swabs* foram umedecidos com água peptonada 0,1% (Difco) e transportados ao laboratório em tubos contendo 10 mL de água peptonada 0,1% e mantidos a 4°C até o momento da análise. Cada amostra constituiu-se de um *pool*, sendo dispostos três *swabs* de um mesmo tipo de superfície em cada tubo.

As superfícies amostradas estão relacionadas na Tabela 3.

TABELA 3 - Superfícies amostradas durante as visitas realizadas nas indústrias 01 e 02 utilizando-se a técnica de *swabs*

Tipo de superfície	Nº <i>swabs</i>	
	Indústria 01	Indústria 02
<i>1. Contato direto</i>		
Luvas	3	6
Equipamentos/utensílios	6	15
<i>2. Sem contato direto</i>		
Ralos	3	3
Paredes	3	3
Aventais	3	3
Total swabs*	18	30

*Cada 3 *swabs* constitui uma amostra

5.2.3 Amostras de salsichas no varejo

Colheram-se nos mesmos supermercados da cidade de Goiânia-GO, onde foram realizadas as entrevistas com os consumidores, 30 amostras de salsichas procedentes das duas indústrias que participaram do experimento. No total, 11 amostras estavam embaladas e 19 foram compradas a granel (pesadas em unidades amostrais de 500 g). Todas as salsichas amostradas apresentavam temperatura abaixo de 7°C.

As amostras foram mantidas sob refrigeração, até 4°C, durante o transporte utilizando-se caixa isotérmica e gelo reciclável, bem como em geladeira até o início das análises.

5.3 Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

As análises microbiológicas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Pesquisa em Alimentos da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás (CPA/EV/UFG).

Utilizou-se como controle positivo de *L. monocytogenes* a cepa *American Type Culture Collection*, Instituto Adolfo Lutz (ATCC 7644-IAL) mantida em caldo LB adicionado de 50% de glicerol e renovadas mensalmente.

Utilizou-se o sistema VIDAS® como método rápido qualitativo (*screening*), após as etapas de enriquecimento primário e enriquecimento secundário, sendo que as amostras com resultados positivos foram submetidas à análise tradicional, preconizada pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, que inclui o isolamento em ágar sólido e provas confirmatórias.

5.3.1 Enriquecimento primário e secundário

Porção de 25 g, obtida em pequenas frações de diversos pontos de cada unidade amostral, foi transferida asépticamente para 225 mL do caldo de enriquecimento primário UVM (Difco) adicionado de seu suplemento, homogeneizada por dois minutos em Stomacher (400 Blender, SE 1 1 PPUK,

England), sendo a suspensão resultante incubada a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h (BRASIL, 2003).

Após 24h, transferiu-se 1 mL da suspensão em caldo UVM para 10 mL do caldo Fraser (Difco), para enriquecimento secundário, suplementado com *Fraser Broth Supplement* (Difco), seguido de incubação a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24h (BioMÉRIEUX, 2006b).

5.3.2 Análise imuno-enzimática

Após o enriquecimento secundário, independentemente do escurecimento do caldo, todas as amostras foram submetidas a análise imuno-enzimática no sistema automatizado VIDAS[®] (bioMérieux, Paris).

Utilizou-se o protocolo validado da Associação Francesa de Normalização (AFNOR) para detecção de *Listeria* spp. nas 106 amostras analisadas. Assim, após 24h a $30^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ no caldo de enriquecimento secundário, transferiram-se 2 mL do material resultante para tubo esterilizado, que foi submetido a banho de água ($100^{\circ}\text{C}/15\text{min}$). Transferiu-se então uma alíquota de 0,5 mL do material já arrefecido para poço do barrete específico para *Listeria* spp. e submeteu-se a amostra a análise no sistema automatizado VIDAS[®] (bioMérieux, Paris). Os resultados foram apresentados impressos, como positivo ou negativo, em 45min. (BioMÉRIEUX, 2006a).

Para detecção de *Listeria monocytogenes*, foi utilizado o protocolo da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) em todas as amostras analisadas anteriormente que apresentaram resultado positivo para *Listeria* spp. As etapas foram as mesmas utilizadas para *Listeria* spp. exceto que para essa análise as amostras não foram submetidas ao banho de água e os resultados qualitativos para *L. monocytogenes* emitidos em 70 minutos (Figura 2), (BioMÉRIEUX, 2006b).

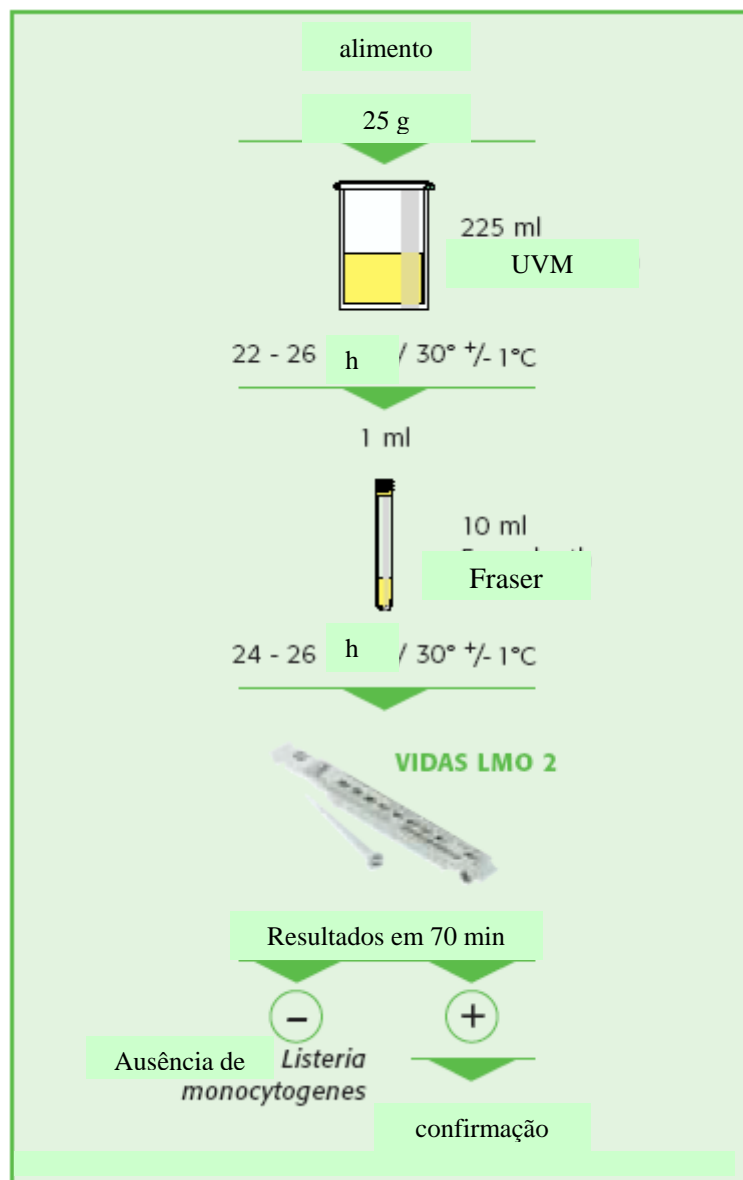


FIGURA 2 - Detecção de *L. monocytogenes* pelo sistema VIDAS®

FONTE: adaptado bioMérieux (2002)

5.3.3 Isolamento em meio sólido de ágar

As amostras positivas ao teste rápido, tanto para *Listeria* spp. como para *L. monocytogenes*, foram submetidas também à protocolo convencional, estabelecido pela IN N° 62/2003 do MAPA (BRASIL,2003), para isolamento e identificação da bactéria. Para tanto, semearam-se por esgotamento em estrias, alíquotas de 1 µL a partir do caldo Fraser inoculado, em Ágar Oxford Modificado -

MOX (Difco) adicionado do suplemento antimicrobiano para o ágar MOX (BD - Becton, Dickinson) visando a obtenção de colônias presuntivas de *Listeria* spp. As placas foram incubadas invertidas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 - 48 horas.

Nas divergências entre os resultados do teste rápido e do método convencional, repetiu-se o método convencional por quatro vezes, transferindo-se de 5 a 10 colônias suspeitas a partir do ágar MOX. Amostras com resultados negativos no método convencional foram plaqueadas em duplicata no ágar cromogênico Rapid' L mono (BioRad) a partir do caldo Fraser e de colônias suspeitas do agar MOX diluídas em solução salina 0,85%, sempre com a realização do controle positivo. Ressalte-se que os meios cromogênicos ainda não são utilizados no método oficial.

A purificação foi realizada em placas de ágar tríptico soja - TSA (Difco) suplementado com 0,6% de extrato de levedura - YE (Oxoid), TSA-YE, por meio da inoculação de cinco a dez unidades formadoras de colônias enegrecidas típicas de *Listeria* spp. de cada placa de ágar MOX, após a observação suplementar, em microscopia de contraste de fase (Carl Zeiss, Alemanha) para visualização dos movimentos de tombamento, característicos de *Listeria* spp. Após incubação das placas por $30^\circ\text{C}/24\text{h}$, colônias resultantes foram examinadas sob iluminação transversal (transiluminação a 45°) para visualização de colônias azuladas de *L. monocytogenes*.

5.3.4 Reação no ágar tríplice açúcar-ferro – TSI

Colônias suspeitas foram semeadas por picada em profundidade e por estrias na superfície inclinada de tubos com ágar TSI. A presença e multiplicação de *Listeria* spp. nesse meio é indicada pela alteração de cor do vermelho para o amarelo, após 18-24h/ 35°C , tanto na base como na superfície, sem a produção de gás.

5.3.5 Testes bioquímicos (BRASIL, 2003)

Para confirmação de *Listeria* spp., cinco a dez unidades formadoras de colônias suspeitas em TSA-YE foram transferidas para tubos de ágar açúcar triplo e ferro - TSI (Difco) inclinado, cujas culturas, após 24h de incubação a 35°C foram utilizadas para a realização das provas bioquímicas de produção de catalase, observação das características morfotintórias (método de Gram), verificação de motilidade em meio semi-sólido (BBL/BD) e observação microscópica em contraste de fase.

Além das provas realizadas para identificação de *Listeria* spp., a confirmação de *L. monocytogenes* foi feita por verificação da produção de beta-hemólise em ágar sangue de carneiro a 5%, capacidade de fermentação dos carboidratos ramnose (Sigma), xilose (Merck), maltose (Difco) e manitol (Synth), provas de VM e VP (Merck) e redução do nitrato (Vetec). Os métodos descritos também foram adotados para as análises dos *swabs* ambientais.

5.3.5.1 Teste de hemólise (BRASIL, 2003)

Colônias suspeitas de *L. monocytogenes* foram semeadas em estrias e por picada com agulha, logo abaixo da superfície do ágar sangue de carneiro a 5%. Após incubação a 35°C/24-48h, placas positivas apresentavam halo de hemólise total (β -hemolíticas) ao redor da colônia.

5.3.5.2 Prova do Gram (MAC FADDIN, 1980)

Adicionava-se sobre lâmina de vidro 0,1 mL de hidróxido de potássio 3,5% e, em seguida, uma pequena porção de raspado da superfície do tubo com a cultura em teste. Após alguns segundos sob homogeneização em movimentos circulares contínuos com alça descartável, não ocorria a formação de filamentos viscosos a prova era considerada positiva para *Listeria*.

5.3.5.3 Prova da Catalase (BRASIL, 2003)

A partir de resultados positivos para *Listeria* spp. em TSI com 24h, uma porção do cultivo bacteriano foi depositada sobre lâmina de vidro utilizando-se alça plástica esterilizada e adicionou-se uma gota de solução aquosa de peróxido de hidrogênio a 3%. O teste foi considerado positivo quando houve a formação de borbulhamento, associado ao desprendimento de O₂ em função da presença da enzima catalase, sintetizada pelo microrganismo em estudo.

5.3.5.4 Redução do nitrato a nitrito (BRASIL, 2003)

Tubos de ensaio com 5 mL de caldo nitrato (Vetec) foram inoculados com pequena porção da cultura suspeita, utilizando-se alça plástica descartável esterilizada de 0,1mL e incubados a 35°C por 24h. Ao final do período de incubação adicionou-se 1 mL da solução A (alfa-naftilamina 0,5%) e 1 mL do reagente B (ácido sulfanílico 0,8%) em 1 mL do caldo cultivado. A formação de coloração rósea ou avermelhada indica teste positivo.

5.3.5.5 Teste de Vermelho de Metila (VM) e Voges-Proskauer (VP) (BRASIL, 2003)

No teste de VM adicionaram-se três gotas do reagente vermelho de metila 0,06% (Merck) à cultura incubada no caldo MR-VP (Merck) a 35°C/96h. O aparecimento imediato de coloração vermelha indica resultado positivo.

Na reação de VP, após incubação do inóculo em 1 mL do meio de Clark e Lubs (Merck) a 30°C/48h, adicionou-se 0,6 mL de alfa-naftol 5% e 0,2 mL de solução de hidróxido de potássio 40%. Aparecimento da cor vermelha em até 30min de agitação dos tubos abertos indica resultado positivo.

5.3.5.6 Teste de utilização de açúcares (BRASIL, 2003)

Porção de colônia suspeita, utilizando-se alça plástica descartável esterilizada de 0,1mL, foi semeada em tubos contendo caldo vermelho de fenol (Merck) adicionado dos açúcares ramnose, manitol, maltose e xilose previamente esterilizados a 121°C/15min, exceto a xilose que foi esterilizada por filtração (Milipore 0,10µ). Tubos incubados a por 24-36h a 30°C foram considerados positivos quando houve a acidificação do meio devido a fermentação dos açúcares, com alteração da cor vermelha do indicador vermelho de fenol para o amarelo.

5.3.6 Teste de motilidade (BRASIL, 2003)

Utilizando-se agulha plástica descartável esterilizada de 0,1mL, porção da cultura suspeita foi inoculada em linha reta por picada até dois terços do meio semi-sólido para teste de motilidade (BD). Após incubação a 25°C/2 a 5 dias, consideraram-se positivas as amostras que apresentaram crescimento na forma de “guarda-chuva” ou “chapéu-chinês” característico de bactérias do gênero *Listeria*, por evidenciar a preferência desse microrganismo pela microaerofilia.

5.4 Sorotipagem

Os isolados obtidos foram enviados ao Laboratório de Referência da Fundação Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) para sorotipagem.

A sorotipagem é considerada uma valiosa ferramenta para a diferenciação dos isolados antes que sejam submetidos a técnicas moleculares mais discriminatórias (FARBER, 1996).

Com base em 15 antígenos somáticos (O) e cinco flagelares (H), *L. monocytogenes* é classificada em 13 sorotipos, nomeados 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4ab 4c, 4d, 4e e 7 (SEELIGER & JONES, 1986).

5.5 Análise Estatística

Além da análise descritiva, na avaliação das variáveis categóricas utilizou-se o teste exato de Fisher e o teste de Qui-quadrado, aplicados de acordo com PIMENTEL GOMES (1987). Na análise de perigos utilizou-se o software @Risk 4.5, PALISADE, versão 2005, empregando a distribuição de probabilidade contínua do tipo beta, para valores $0 < x < 1$, com 99% de confiança apresentada no eixo X dos gráficos obtidos, sendo que o eixo Y corresponde a amostragem (Anexo 3). Os resultados de presença ou ausência para *Listeria* spp. como para *L. monocytogenes*, nas matrizes alimentares analisadas, foram processadas pelo @Risk, com o intuito de se obter a variação de probabilidade de ocorrência da bactéria na produção amostrada.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As indústrias envolvidas no experimento representam 50% dos estabelecimentos com SIF produtores de salsichas na região centro-oeste, sendo responsáveis por aproximadamente 40% da produção regional e 4% da produção nacional.

Respostas apresentadas ao questionário (Anexo 1) aplicado às indústrias 01 e 02 acerca da produção de salsichas, bem como do controle por meio da utilização das ferramentas estabelecidas pelo DIPOA/MAPA, informam sobre as práticas adotadas na salsicharia de cada estabelecimento.

De acordo com as respostas obtidas e a rotulagem utilizada, ambos produzem salsichas do tipo *hot dog*, compostas por diferentes matérias-primas cárneas adicionadas de ingredientes misturados no *cutter*, até a formação da emulsão.

Na indústria 01, as informações evidenciam que segundo critérios estabelecidos pelo DIPOA/MAPA, as ferramentas de autocontrole (BPF, PPHO e APPCC) estão implantadas na linha de produção de salsichas, com registros disponíveis para verificação. Entre os Pontos Críticos de Controle (PCC) determinados pelo estabelecimento está a etapa de cocção (Figura 3), realizada em túnel de cozimento com injeção de vapor e com monitoramento contínuo da temperatura.

Conforme fluxograma de produção (Figura 3) após as etapas de cozimento, quando atingem a temperatura de 73°C, e resfriamento a 15°C, ambas em túnel, ocorre a remoção do envoltório, acidificação e embalagem primária a vácuo. Em seguida as salsichas são pasteurizadas em tanque com água a temperatura de 85-90°C/40min, são então resfriadas e armazenadas (4°C). Essas etapas, pasteurização e resfriamento, não são consideradas PCCs para a indústria. O prazo de validade estabelecido pelo fabricante é de 60 dias.

Ressalte-se que as salsichas produzidas em embalagens acima de 500 g, geralmente fracionadas e comercializadas a granel quando no varejo, não são pasteurizadas e nem envasadas com o mesmo nível de vácuo daquelas de 500 g.

A separação física entre as áreas destinadas aos produtos crus e cozidos ocorre em função da própria disposição do túnel de cozimento,

considerando o fluxo de entrada e saída das salsichas, evitando a contaminação cruzada.

Nas etapas de higienização utilizam água quente (40-50°C) e detergente alcalino, empregando como sanitizantes ácido peracético diariamente e amônia quaternária nos finais de semana. O uso de dois sanitizantes diferentes, empregados de forma alternada, segundo MEREGETTI et al. (2000), pode ser benéfico no controle de *Listeria* spp.

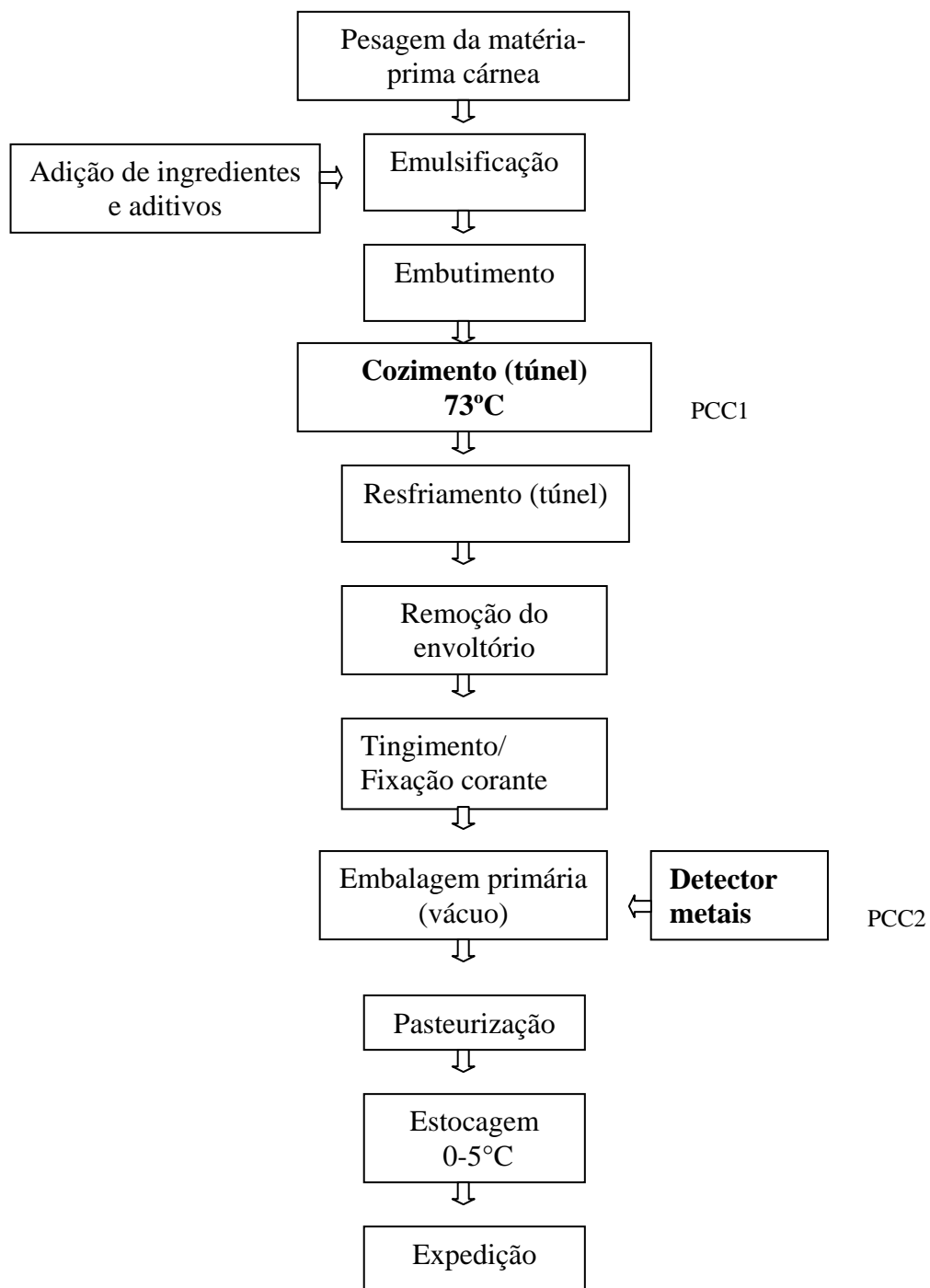


FIGURA 3 - Esquema da produção de salsichas na Indústria 01

Conforme resposta obtida no questionário (Anexo 1), a indústria 02 não possui as ferramentas de autocontrole ainda implantadas, não havendo disponibilidade de registros para verificação. O tratamento térmico é realizado em estufa (40min) até atingir 74°C e em seguida as salsichas são resfriadas por meio de aspersão de água clorada (0,5 a 1 ppm) em temperatura ambiente. Os envoltórios são removidos de forma mecanizada e a acidificação é feita com ácido fosfórico 2% (pH 2 a 3), são então embaladas manualmente, lacradas, pesadas e congeladas a -12°C (Figura 4). O tanque de acidificação/tingimento apresenta acabamento sanitário falho, com a constatação de soldas aparentes, de difícil higienização.

O prazo de validade estabelecido pelo fabricante é de 90 dias, sendo maior que a indústria que possui as ferramentas de autocontrole implementadas.

No que diz respeito a separação física entre as áreas destinadas a produtos crus e cozidos, constata-se a existência de contra-fluxo, pelo fato da estufa possuir apenas uma porta utilizada como entrada e saída, como também pela localização do tanque de tingimento na sala de pesagem e preparo da emulsão de embutidos, o que pode favorecer a contaminação pós-cozimento. Nesse aspecto, de acordo com o CODEX ALIMENTARIUS (2007), a introdução de *L. monocytogenes* no ambiente de preparo dos alimentos prontos para o consumo decorre da insuficiente separação entre áreas de produtos crus e produtos acabados, assim como do controle deficiente na circulação de empregados.

O processo de higienização da salsicharia é realizado com água quente (50°C), detergente alcalino e emprego diário de ácido peracético como sanitizante.

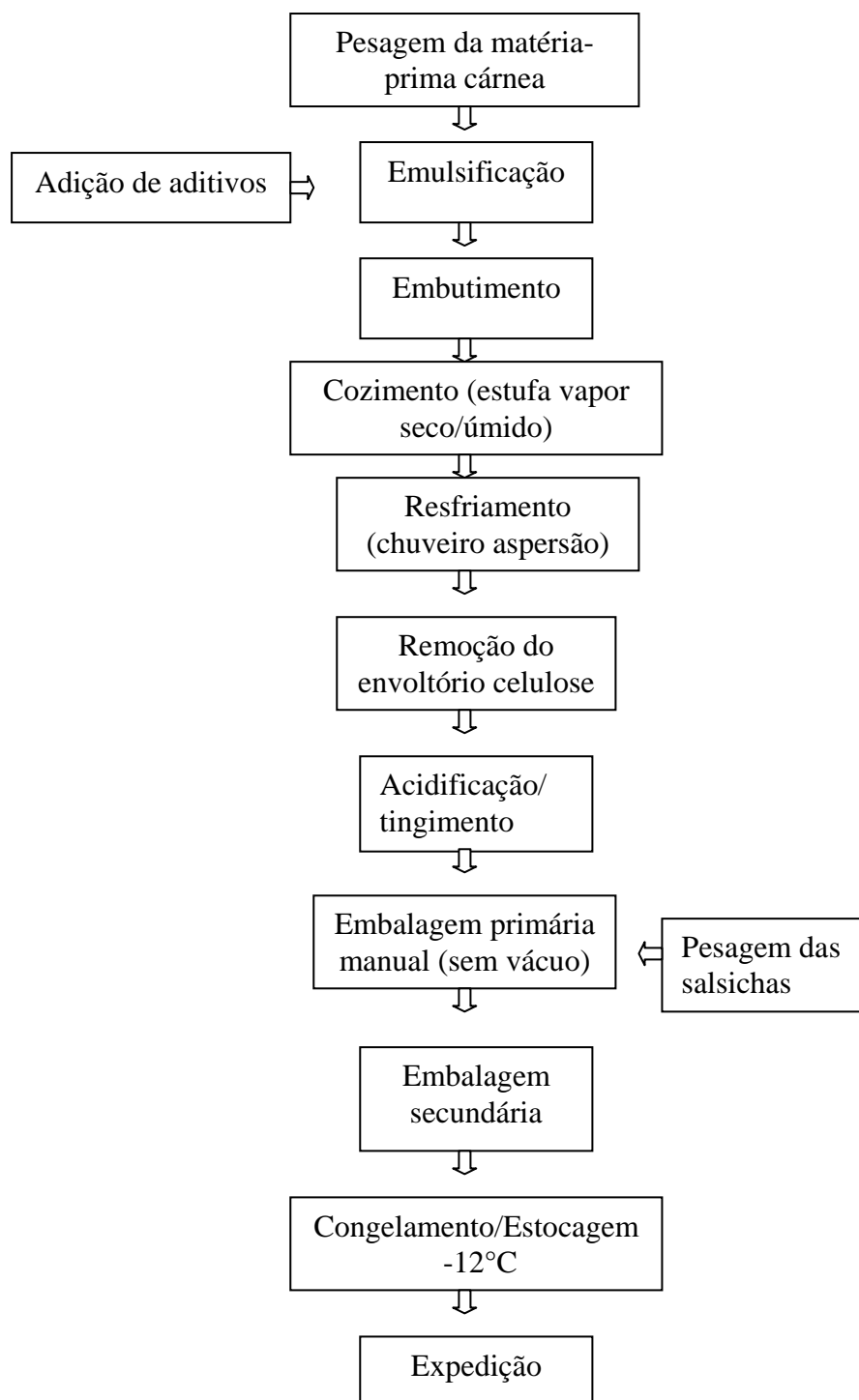


FIGURA 4 – Esquema da produção de salsichas na Indústria 02

Quanto ao sistema APPCC, em âmbito nacional, ressalta-se que de acordo com a Portaria N°46 (BRASIL, 1998), deve ser implantado gradativamente nas linhas de produção das indústrias com SIF, no entanto, decorridos dez anos de sua vigência, ainda constata-se a incipiência na implantação dessa ferramenta em alguns tipos de produtos destinados ao mercado interno, como observado na indústria 02.

Conforme os dados apresentados na Tabela 4, entre as 30 amostras de alimentos colhidas na indústria 01, 19 amostras (63,3%) apresentaram resultado positivo para *Listeria* spp. no método VIDAS[®], todas confirmadas pelo método convencional e 11 (36,7%) foram positivas para *L. monocytogenes*, com confirmação de 6 (20%) pelo método convencional. A relação de amostras de alimentos positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* entre os dois métodos utilizados é de 100% e 54,5%, respectivamente.

A matéria-prima cárnea e a emulsão apresentaram *Listeria* spp. em 9 (90%) e 10 (100%) das amostras, respectivamente. *L. monocytogenes* foi confirmada em 4 (40%) das amostras de carne e 2 (20%) das amostras de emulsão.

Na análise das salsichas todas as amostras foram negativas para *Listeria* spp.

Serotipagem dos 23 isolados de *L. monocytogenes* obtidos a partir das 6 amostras positivas pelo método convencional, resultaram em 14 isolados com sorotipo 4b, 8 isolados com sorotipo 1/2a e um isolado com sorotipo 3a (Tabela 4).

Quanto aos seis *pool* de *swabs* colhidos nas seções pós-cozimento, na indústria 01, quatro amostras (66,7%) foram positivas para *Listeria* spp. e uma (16,7%) foi positiva para *L. monocytogenes* (Tabela 4). Os dois isolados da amostra positiva foram classificados como sorotipo 4b, assim como na matéria-prima cárnea, porém diferente dos sorotipos identificados na emulsão como 1/2a e 3a.

No cômputo geral da indústria 01, obteve-se 25 isolados de *L. monocytogenes*, distribuídos os sorotipos 4b (71%), 1/2a (28%) e 3a (14%), como mostra a Tabela 3. Nos resultados encontrados, houve a predominância do sorotipo 4b na base cárnea. A diferença entre os sorotipos identificados nas

matrizes alimentares e no ambiente coincide com a informação de KATHARIOU (2002), de que a fonte primária de contaminação do alimento por *L. monocytogenes* está relacionada ao ambiente de processamento, o que pode justificar a não semelhança entre os sorotipos identificados.

O sorotipo 4b da amostra ambiental (ralos) coincide com o da matéria-prima-cárnea (Tabela 4) que é proveniente de animais abatidos na própria indústria, como também recebido de terceiros. Os sorotipos 1/2a e 3a identificados na emulsão, podem estar relacionados a adição de aditivos e outros ingredientes não-esterilizados, como corantes, estabilizantes, aromatizantes, proteína texturizada, amido, além da água, que não foram analisados de forma individualizada neste estudo. Apesar de não ser comum, há registros de surto de listeriose causado pelo sorotipo 3a, evidenciando sua importância em saúde pública (McLAUHLIN et al., 2004). Em 1999, na Finlândia, foi registrado o provável primeiro surto de listeriose em decorrência da ingestão de manteiga pasteurizada, contaminada por esse sorotipo (LYYTIKÄINEN, 2000). Não é comum a presença do sorotipo 3a nos estudos realizados no Brasil, havendo a necessidade de mais estudos e investigações.

TABELA 4 - Amostras positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* segundo o sistema VIDAS[®] e segundo o método convencional com identificação dos sorotipos na indústria 01

Amostra (n)	VIDAS [®]	Método conv.	VIDAS [®]	Método conv.	Sorotipo
	<i>Listeria</i> spp. + (%)	<i>Listeria</i> spp. + (%)	<i>L. monocytogenes</i> + (%)	<i>L. monocytogenes</i> + (%)	
Pool de Swabs (6)	4 (67%)	4 (67%)	1 (17%)	1 (17%)	4b
Matéria-prima cárnea (10)	9 (90%)	9 (90%)	7 (70%)	4 (40%)	4b
Emulsão (10)	10 (100%)	10 (100%)	4 (40%)	2 (20%)	1/2a; 3a
Produto acabado (10)	0	0	0	0	-
Total (36)	23 (64%)	23 (64%)	12(33%)	7(19%)	

Entre as 30 amostras de alimentos colhidas na indústria 02, pelo método VIDAS® 19 amostras (63,3%) apresentaram resultado positivo para *Listeria* spp. confirmadas pelo método convencional e 10 (33,3%) foram confirmadas positivas para *L. monocytogenes* pelo método convencional. Destas, a matéria-prima cárnea e a emulsão apresentaram *Listeria* spp. em 10 (100%) e 9 (90%) das amostras, respectivamente. *L. monocytogenes* foi confirmada em 8 (80%) das amostras cárneas e 2 (20%) das amostras de emulsão (Tabela 5).

Entretanto, não houve detecção de *Listeria* spp. nas amostras do produto acabado.

Conforme resultados das análises dos *pools* de *swabs* ambientais (Tabela 5), duas amostras (20%) foram positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* nos dois métodos utilizados. Os 10 isolados obtidos dessas duas amostras positivas foram classificados como sorotipos 1/2a e 1/2b, os mesmos identificados na matéria-prima cárnea e emulsão.

Na indústria 02, obtiveram-se 62 isolados de *L. monocytogenes*, das 12 amostras positivas pelo método convencional, que foram distribuídos em 33 sorotipos 1/2b (75%), 28 sorotipos 1/2a (33%) e um sorotipo 1/2c (8%). Os sorotipos predominantes foram 1/2b e 1/2a, tanto no ambiente como na carne e na emulsão. Assim como na indústria 01, a matéria-prima cárnea é produzida no próprio estabelecimento e também recebida de terceiros. A presença do sorotipo 1/2c na emulsão pode estar relacionada com a adição de ingredientes não-esterilizados.

A incidência de *L. monocytogenes* em produtos cárneos, registrados pelo programa de monitoramento norte americano e apresentados por FARBER et al. (2007), são de 18% para carne moída crua e 0 a 8% para produtos cárneos prontos para o consumo, sendo de 0,4 – 2,1% para salsichas de pequeno diâmetro e de 1,8 – 5,3% para as maiores.

Os resultados das análises das amostras de produtos acabados colhidos nas indústrias 01 e 02, se assemelham aos dados obtidos por WALLACE et al. (2003), que em dois estabelecimentos produtores de salsichas, entre 27.300 amostras analisadas, 104 (0,38%) continham *L. monocytogenes*.

TABELA 5 - Amostras positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* no sistema VIDAS® e no método convencional com identificação dos sorotipos na indústria 02.

Amostra (n)	VIDAS®	Método conv.	VIDAS®	Método conv.	Sorotipo
	<i>Listeria</i> spp. + (%)	<i>Listeria</i> spp. + (%)	<i>L. monocytogenes</i> + (%)	<i>L. monocytogenes</i> + (%)	
Pool de Swabs (10)	2 (20%)	2 (20%)	2 (20%)	2 (20%)	1/2a;1/2b
Matéria-prima cárnea (10)	10 (100%)	10 (100%)	8 (80%)	8 (80%)	1/2a; 1/2b
Emulsão (10)	9 (90%)	9 (90%)	2 (20%)	2 (20%)	1/2a;1/2b; 1/2c
Produto acabado (10)	0	0	0	0	-
Total (40)	21 (52%)	21 (52%)	12 (30%)	12 (30%)	

A Tabela 6 apresenta os resultados para a ocorrência de *L. monocytogenes* no ambiente industrial pós-cozimento, nas matérias-primas cárneas e salsichas produzidas nos dois estabelecimentos amostrados.

TABELA 6 - Pesquisa de *L. monocytogenes* no ambiente pós-cozimento, matérias-primas e salsichas tipo *hot dog* das indústrias 01 e 02 operantes sob Serviço de Inspeção Federal no Estado de Goiás em 2007.

Foco amostral	Indústria 1 (com APPCC)		Indústria 2 (sem APPCC)	
	Resultados positivos/nº de amostras	Isolados**	Resultados positivos/nº de amostras	Isolados**
Ambiente de processamento com ou sem contato direto com alimentos (pool)*				
Paredes, drenos (ralos)	1/1	2	1/2	5
Equipamentos: esteiras, tanques, mesas	0/4	0	1/5	5
Luvas, aventais	0/1	0	0/3	0
Alimentos				
Matéria-prima carne	4/10	14	8/10	34
Emulsão	2/10	9	2/10	18
Salsicha tipo <i>hot dog</i>	0/10	0	0/10	0

* cada 3 swabs compunham 1 amostra

** segundo sorotipagem

As superfícies amostradas no ambiente pós-cozimento, que apresentam resultados positivos para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* constam da Tabela 7. Os pools de swabs de ralos das áreas pós-cozimento amostrados nas duas indústrias apresentaram *L. monocytogenes*.

Quando da divergência de resultados entre a presença de *L. monocytogenes* no sistema VIDAS e a ausência no método convencional, utilizou-se o meio cromogênico para visualização de colônias azuladas típicas da bactéria, constatando-se em determinadas situações a presença de raras colônias azuis. O fato observado coincide com a sensibilidade descrita pelo método VIDAS e com a dificuldade em se capturar colônias características de *L. monocytogenes* no método convencional quando há um número muito pequeno de colônias nas placas.

TABELA 7 - Superfícies amostradas nas indústrias 01 e 02 no estado de Goiás em 2007, com resultados positivos para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes*

	VIDAS®	Método conv.	VIDAS®	Método conv.	Sorotipo
<i>Pools de Swabs</i> <i>Indústria 01</i>	<i>Listeria</i> <i>spp.</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i>	
Esteira após forno de cozimento	+	+	-	-	
Esteira pós-tingimento	+	+	-	-	
Luvas manipuladores	+	+	-	-	
Ralos	+	+	+	+	4b
<i>Pools de Swabs</i> <i>Indústria 02</i>	VIDAS® <i>Listeria</i> <i>spp.</i>	Método conv. <i>Listeria</i> spp.	VIDAS® <i>L. monocytogenes</i>	Método conv. <i>L. monocytogenes</i>	Sorotipo
Tanque corante	+	+	+	+	1/2a
Ralos	+	+	+	+	1/2a; 1/2b

Na indústria 01, as esteiras transportadoras nas saídas do forno de cozimento e do tanque de corante apresentaram *Listeria* spp. Na indústria 02, as soldas com acabamento não sanitário e as paredes do tanque de tingimento (pH 2 a 3) apresentaram resultado positivo para *L. monocytogenes*. Os resultados coincidem com os de MIETTINEN et al. (1999) e de TOMPKIN (2002), de que certos equipamentos difíceis de higienizar, entre os quais as esteiras, apresentam maior possibilidade de encontrar *L. monocytogenes*. Constata-se, a partir dos resultados obtidos, que nas áreas onde são manipuladas as salsichas após o cozimento, nas duas salsicharias, há indícios de falhas no processo de higienização, seja pelas más condições das superfícies dos equipamentos, pela realização inadequada do processo de limpeza ou ainda pela possível existência de biofilmes, indicando a necessidade de se fazer o acompanhamento das operações de higienização. A presença do patógeno no ambiente pós-cozimento gera a possibilidade de contaminação do produto final pronto para o consumo.

Neste aspecto, de acordo com o CODEX ALIMENTARIUS (2007), uma das estratégias para controlar a listeriose transmitida por alimentos consiste em introduzir um tratamento de mitigação adicional após o envase final, o que é observado na indústria 01, que pasteuriza o produto após a embalagem primária.

A presença de *L. monocytogenes* nas instalações industriais sustenta a necessidade da existência e manutenção de programas de acompanhamento da presença desse patógeno por meio do monitoramento ambiental com frequência pré-estabelecida, especialmente nas superfícies de contato direto com o produto após o cozimento, evitando a recontaminação após o tratamento térmico.

De acordo com PETTINATI et al. (2006), os sorotipos 1/2a, 1/2c e 4b já foram relacionados com surtos ou casos esporádicos de listeriose humana, não apenas no Brasil, mas em outros países. GARCÍA-ÁLVAREZ et al. (2006) e GRAVES et al. (2007) relataram que 95% das infecções humanas são causadas pelos sorotipos 1/2a, 1/2b e 4b, detectados neste estudo aos níveis de 97,7%, portanto, todos os sorotipos identificados são de importância em saúde pública.

Considerando-se os resultados das análises por categorias, observa-se que apesar do isolamento de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* nas amostras cárneas e nas instalações industriais, esse microrganismo não foi isolado no produto acabado. Embora a avaliação do tratamento térmico não tenha feito parte deste estudo, possivelmente tenha reduzido ou destruído a bactéria detectada na matéria-prima cárnea, comprovando a importância de monitorar o tempo e a temperatura de cozimento. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por SAMELIS & METAXOPOULOS (1999), que também não encontraram *Listeria* spp. em amostras de salsichas contaminadas por *L. monocytogenes* que foram submetidas a temperatura de 74°C/4-5h. Da mesma forma, estudos de McKELLAR et al. (1994), WENGER et al. (1990), e ANONYMOUS (1988), enfatizam que o cozimento adequado durante a produção de salsichas elimina *Listeria* spp. que possa estar presente nas carnes utilizadas no preparo da emulsão, porém, a bactéria pode ser encontrada no produto final devido à falhas no processo de cocção ou a contaminação pós-processamento. Assim, o fato de haver cozimento não mitiga a preocupação com o patógeno no ambiente de fábrica e em matérias-primas e ingredientes.

Além das salsichas possuírem as características descritas pelo CODEX ALIMENTARIUS (2007), de que existem fatores que contribuem para o risco de listeriose relacionada com alimentos prontos para o consumo, entre os quais, a capacidade do alimento de favorecer a multiplicação de *L. monocytogenes* e a temperatura e o tempo de estocagem sob refrigeração, na formulação das salsichas os estabelecimentos utilizam como conservantes nitrito e ou nitrato de sódio e sal, em concentrações que de acordo com GLASS & DOYLE (1989) e COELHO et al. (1998b) não possuem ação inibitória sobre *L. monocytogenes*.

Nesse aspecto, experimentos de COELHO et al. (1998a), utilizando caldo TSB-YE (tripticase e soja acrescido de 0,6% de extrato de levedura) demonstraram que concentrações de cloreto de sódio de até 10,5% não foram suficientes para impedir a multiplicação de *L. monocytogenes*, ressalte-se que na grande maioria dos produtos cárneos, os teores de sal não ultrapassam 3,5%.

Quanto a ação de diferentes concentrações de nitrito sobre *L. monocytogenes* utilizando caldo TSB-YE, COELHO et al. (1998b) verificaram que houve multiplicação do patógeno mesmo com níveis residuais de 200 ppm. Portanto, o limite máximo estabelecido pelos órgãos regulamentadores (BRASIL, 1999; BRASIL 2007b), de 150 mg/kg para o emprego de nitrito de sódio em carnes e produtos cárneos não seria suficiente para impedir a multiplicação da bactéria no alimento, segundo GLASS & DOYLE, 1989, mesmo quando associados. Portanto, nem o cloreto de sódio, nem os sais de cura impedem a multiplicação da bactéria, havendo realmente a necessidade do controle do cozimento, utilizando-se as ferramentas de autocontrole.

Portanto, o patógeno quando presente, mesmo em pequena quantidade, nesse alimento conservado sob temperaturas de refrigeração, pode multiplicar durante o período de validade e oferecer risco aos consumidores, principalmente àqueles que fazem parte do grupo de risco e que não dispõe de informações acerca da possibilidade da presença da bactéria nesse tipo de produto.

A análise categorizada dos resultados das análises microbiológicas realizadas indica que a contaminação da base cárnea e emulsão por *L. monocytogenes*, na indústria onde estavam implantadas as ferramentas de autocontrole, foi menor ($p < 0,05$) do que na indústria onde os referidos controles

não eram realizados. Porém, não houve diferença ($p>0,05$) quanto a presença de *L. monocytogenes* no ambiente industrial pós-cozimento, com indícios de que as falhas estariam no PPHO.

Devido à patogenicidade de *L. monocytogenes*, bem como sua capacidade de formar biofilmes, a ocorrência desse microrganismo na matéria-prima e nas instalações demonstra a necessidade de reavaliação e intensificação das ferramentas de autocontrole implantadas na indústria 01, em especial ao PPHO relacionado a higienização, bem como sua implantação na indústria 02, buscando garantir a segurança dos produtos cárneos desses estabelecimentos. Situação semelhante de reavaliação de planos, foi descrita por FARBER et al. (2007), quando em 2002, após investigação de surto de listeriose nos Estados Unidos, o FSIS concluiu que alguns estabelecimentos não contemplavam de forma correta em seus planos HACCP e Procedimentos Padrão de Higiene Operacional (SOP) a probabilidade de contaminação de seus produtos por *L. monocytogenes*.

De acordo com o CODEX ALIMENTARIUS (2007), um elemento eficaz da gestão deste risco é a aplicação de um programa de vigilância para avaliar o controle do ambiente a que se expõem os alimentos prontos para o consumo antes do envase final.

A natureza ubiqüitária desse patógeno é evidenciada pela elevada taxa de contaminação observada nos produtos crus e no ambiente industrial, portanto a elevada frequência de *Listeria* spp. encontrada implica em risco para a produção, uma vez que segundo SILVA et al. (2004) a elevada ocorrência de *Listeria* spp. pode indicar uma maior probabilidade de ocorrência de *L. monocytogenes*, constituindo-se assim, num fator indicativo de risco à segurança do alimento. As Tabelas 8 e 9 apresentam a relação entre os achados de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* nas indústrias 01 e 02.

TABELA 8 - Número e percentagem de amostras positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em amostras de swabs, matéria-prima cárnea, emulsão e salsichas adquiridas na indústria 01 e a relação de *L. monocytogenes* e *Listeria* spp.

Amostra (n)	<i>Listeria</i> spp. + (%)	<i>L. monocytogenes</i> + (%)	<i>Listeria</i> spp./ <i>L. monocytogenes</i> %
Pool de swabs (6)	4(67%)	1 (17%)	4/1(25%)
Matéria-prima cárnea (10)	9 (90%)	4 (40%)	9/4 (44%)
Emulsão (10)	10 (100%)	2 (20%)	10/2 (20%)
Salsichas na indústria (10)	0 (zero)	0 (zero)	0/0 (zero)
Salsichas no varejo (19)	11 (58%)	1(5%)	11/1 (9%)
Total (55)	34 (62%)	8 (15%)	34/8 (23%)

TABELA 9 - Número e percentagem de amostras positivas para *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em amostras de swabs, matéria-prima cárnea, emulsão e salsichas adquiridas na indústria 02 e a relação de *L. monocytogenes* e *Listeria* spp.

Amostra (n)	<i>Listeria</i> spp. + (%)	<i>L. monocytogenes</i> + (%)	<i>Listeria</i> spp./ <i>L. monocytogenes</i> %
Pool de swabs (10)	2 (20%)	2 (20%)	2/2(100%)
Matéria-prima cárnea (10)	10 (100%)	8 (80%)	10/8 (80%)
Emulsão (10)	9 (90%)	2 (20%)	9/2 (22%)
Salsichas na indústria (10)	0 (zero)	0 (zero)	0/0 (zero)
Salsichas no varejo (11)	6 (55%)	0(zero)	6/0 (zero)
Total (51)	27 (53%)	12(23%)	27/12 (44%)

As amostras de salsichas colhidas nas indústrias foram submetidas à análise tão logo foram produzidas. Como são armazenadas sob refrigeração e, sendo *L. monocytogenes* psicrótrfica, é possível que as células que ficaram apenas injuriadas após o tratamento térmico empregado se multipliquem, o que poderia aumentar a taxa de detecção durante o período de validade. Além disso,

nesse período, o frio poderia causar uma espécie de pressão seletiva, favorecendo sua multiplicação e tornando-o um produto de risco ao consumidor. A avaliação exposta coincide com os apontamentos de LADO & YOUSEF (2007).

Quanto a injúria celular que pode ser causada pelo tratamento térmico FARBER et al. (2007) ressaltaram que atenção deve ser dada aos produtos cárneos cozidos lentamente, pois tal processo pode induzir ao choque térmico ou ao estresse protéico, conferindo-lhe maior resistência.

Ainda quanto a inativação da bactéria pelo calor, estudos de BOYLE et al. (1989) demonstraram que células de *L. monocytogenes* não eram destruídas quando a temperatura interna da carne moída atingia 50°C/6,2 min, mas era inativada quando submetida a 60°C/8,4min e 65°C/10,6min, com redução de 4.4 e 6.1logs, respectivamente.

A Tabela 10 mostra a ocorrência de *Listeria* spp e *L. monocytogenes* nas amostras de salsichas adquiridas no varejo. Observa-se que das 30 amostras analisadas, 17 (56%) apresentaram resultado positivo confirmado para *Listeria* spp. sendo 3 (27%) em 11 amostras na embalagem de origem e 14 (73%) em 19 amostras de salsichas comercializadas a granel. *L. monocytogenes* foi encontrada em três amostras comercializadas a granel (16%) quando analisada pelo método VIDAS[®], sendo confirmada em uma amostra (3%) e identificada como sorotipo 4b, mas não foi detectada em amostras embaladas.

Os dados obtidos coincidem os achados de ANONYMOUS (1993), quanto a *Listeria* spp., que nos Estados Unidos, entre 30 amostras de salsichas adquiridas no varejo, 20% das amostras continham *Listeria* spp. e 17% *L. monocytogenes*.

Os resultados revelam elevada ocorrência de *Listeria* spp. nas salsichas comercializadas a granel, após manipulação para fracionamento no estabelecimento comercial, além de *L. monocytogenes*, evidenciando falhas higiênico-sanitárias no ambiente fracionador.

Por outro lado, a presença de *Listeria* spp. em amostras embaladas, íntegras, que não foram manipuladas no varejo, e que foram pasteurizadas após a embalagem na indústria, indica a possibilidade de células bacterianas de *Listeria* spp. terem resistido ao tratamento térmico ou estarem associadas à contaminação pós-cozimento.

Estes resultados não se assemelham aos achados de PETTINATI et al. (2006), que detectaram *L. monocytogenes* em 55,4% das amostras de salsichas tipo *hot dog* comercializadas embaladas, não fracionadas, e adquiridas em supermercados da cidade de São Paulo, porém sem especificação se as mesmas possuíam registro no SIF. Por outro lado se assemelham, estatisticamente, aos dados apresentados por VORSTER et al. (1993) que encontraram 8% de *Listeria* spp. em salsichas Viena e não encontraram *L. monocytogenes*.

TABELA 10 - Ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* pelo método VIDAS® e método convencional em salsichas adquiridas no varejo

Amostras salsichas (n)	VIDAS® <i>Listeria</i> spp. + (%)	Método conv. <i>Listeria</i> spp. + (%)	VIDAS® <i>L. monocytogenes</i> + (%)	Método conv. <i>L. monocytogenes</i> + (%)	Sorotipo
Embaladas (11)	3(27%)	3(27%)	0 (zero)	-	
Granel (19)	14 (73%)	14 (73%)	3 (16%)	1(5%)	4b
Total (30)	17 (56%)	17 (56%)	3 (10%)	1(3%)	

A análise estatística, por meio de *software*, dos resultados microbiológicos apresenta a distribuição da probabilidade da prevalência encontrada de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* nos lotes amostrados, tanto da matéria-prima cárnea, emulsão, como das salsichas adquiridas tanto na indústria como no varejo (ANEXO 3).

Os resultados da análise evidenciam as elevadas probabilidades de contaminação, possibilitando a adoção de medidas imediatas, como a revisão dos procedimentos operacionais nos estabelecimentos durante a produção, inclusive no que diz respeito a avaliação e utilização da matéria-prima cárnea (Tabelas 11 a 13).

TABELA 11 - Probabilidade de ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* no lote/produção amostrada nas indústrias 01 e 02 (@Risk 99% de confiança)

Matriz analisada	Indústria 01		Indústria 02	
	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
Base carne	53%	13%	66%	43%
Emulsão	66%	4%	53%	4%
Salsicha	8%*	8%*	8%*	8%*

* valor médio

TABELA 12 - Probabilidade de ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em salsichas procedentes das indústrias 01 e 02 colhidas no varejo (@Risk 99% de confiança)

Salsicha (varejo)	Indústria 01		Indústria 02	
	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
Embalada	5%	9%*	2%	10%*
Granel	46%	1%	17%	7%*

* valor médio

TABELA 13 - Probabilidade de ocorrência de *Listeria* spp. e *L. monocytogenes* em salsichas procedentes das indústrias 01 e 02 colhidas no varejo (@Risk 99% de confiança)

Salsicha (varejo)	Indústria 01 e 02	
	<i>Listeria</i> spp.	<i>L. monocytogenes</i>
Embalada	8%	7%*
Granel	47%	1%

* valor médio

Os dados suscitam a discussão acerca das condições microbiológicas da matéria-prima carne destinada a composição de produtos cozidos, tendo a etapa do tratamento térmico como ponto crítico de controle que torna aparentemente dispensável o controle da matéria-prima, especialmente face a característica ubiqüitária da bactéria. Porém, ressalte-se que as mesmas provêm de estabelecimentos onde os autocontroles também devam estar implantados na linha de produção do abate e que o cozimento de produtos com elevada contaminação por *L. monocytogenes* pode não ser letal para todas as células presentes.

Práticas de compra, estocagem e preparo de salsichas

O questionário aplicado de forma aleatória junto aos cidadãos consumidores de salsichas (ANEXO 1), teve como referência o estudo realizado por PORTO et al. (2004) e forneceu noções acerca das preferências dos consumidores no que diz respeito principalmente aos critérios de escolha de salsichas no momento da compra e das formas e tempos de estocagem e de reaquecimento em âmbito doméstico (Tabela 14).

TABELA 14 - Entrevista com cidadãos consumidores de salsichas sobre as preferências de compra, estocagem e formas de preparo em âmbito doméstico.

Pergunta	Nº de entrevistados	Respostas
1. Com que frequência come salsicha?	500	Semanalmente: 188 (37,4%); quinzenalmente: 102 (20,4%); mensalmente: 110 (22%); raramente: 78 (15,6%); diariamente: 22 (4,4%).
2. Que tipo de salsicha prefere comer?	500	Bovino: 44 (8,8%); qualquer uma: 97 (19,4%); bovino e suíno: 95 (19%); frango: 51 (10,2%); suíno: 37 (7,4%); peru: 12 (2,4%); não sabia que havia diferença entre as salsichas: 105 (21%); os demais, em menores porcentagens comem vários tipos de salsichas.
3. Considera salsicha pronta para comer ou precisa de cozimento?	500	Requer cozimento: 308 (61,6%); pronta para comer: 192 (38,4%).
4. Se precisa de cozimento, por quê?	308	diferença significativa Segurança: 152 (49,35%); melhora textura e sabor: 88 (28,57%); costume: 62 (20,13%); por estar cru: 38 (12,34%); As vezes mais de uma resposta por entrevistado
5. Como prepara salsicha?	500	Molho: 392 (78%); assada/grelhada: 28 (5%); fervida: 85 (17%); frita/refogada: 40 (8%); microondas: 12 (2%); escaldada: 6 (1%).
6. Descongela a salsicha antes de aquecê-la?	500	Não: 246 (49,2%); sim: 199 (39,8%); não congela: 53 (10,6%); às vezes: 2 (0,4%)
7. Se descongela, de que maneira o faz?	201	Temperatura ambiente: 99 (49,25%); imerso em água: 46 (22,88%); geladeira: 27 (13,43%); microondas: 33 (16,42%); sob a torneira: 10 (4,97%)
8. Lê o rótulo do pacote de salsichas?	500	Sim: 218 (43,6%); não: 250 (50%); às vezes: 32 (6,4%)
9. Se sim, o que lê no rótulo?	250	Validade: 147 (58,8%); ingredientes: 14 (5,6%); validade e ingredientes: 27 (10,8%); marca: 12 (4,8%); validade e marca: 16 (6,4%) os demais, em menores porcentagens apontaram diversos itens
10. Compra salsichas a granel?	500	Sim: 373 (74,6%) não: 127 (25,4%) Diferença significativa
11. Onde guarda as salsichas em casa?	500	Geladeira: 152 (30,4%); freezer: 303 (60,6%); não guarda, compra apenas para o consumo do dia: 13 (2,6%); geladeira e freezer: 32 (6,4%)
12. Por quanto tempo as salsichas ficam guardadas antes do consumo?	500	Geladeira: 2 a 7 dias: 142 (93,42%); 10 a 15 dias: 6 (3,95%) Freezer: 2 a 7 dias: 169 (55,77%); 10 a 15 dias: 59 (19,47%); 20 a 30 dias: 51 (16,83%); 7,93% armazenam por 40 a 180 dias.
13. Que critérios de seleção utiliza para comprar salsichas?	500	Marca: 266 (53,2%); preço: 175 (35%); aparência: 142 (28,4%).

Torna-se importante enfatizar que a partir da análise de perigos realizada pelo USDHHS/FDA/CFSAN em colaboração com USDA/FSIS e o CDC em 2004, salsichas foram consideradas alimento de risco para *L. monocytogenes*. Segundo PORTO et al. (2004) poucos estudos acerca dos efeitos da formulação do produto, tempo de estocagem e tempo e temperatura de reaquecimento antes do consumo, visando a sobrevivência de *L. monocytogenes* em salsichas tem sido realizados. Ressalta-se que essas informações podem ser úteis no estabelecimento de orientações para os cidadãos, principalmente daqueles que fazem parte de grupos de risco.

Para os propósitos do estudo, destaca-se que (i) 192 (38,4%) entrevistados consideraram as salsichas um produto pronto para o consumo, que não necessita de aquecimento prévio, admitindo consumí-las diretamente da embalagem (Figura 5), (ii) 152 (30,4%) as conservam sob temperatura de refrigeração de 2 a 60 dias e 303 (60,6)% no freezer por 2 a 90 dias.

Quanto ao tempo e temperatura de estocagem, em experimento de PORTO et al. (2004) a bactéria permaneceu viável nesse tipo de produto por 3 a 15 dias a 4°C, ou até 30 dias a -18°C, havendo ou não a presença de lactato de potássio a 2%. Portanto, o hábito de manter o produto sob refrigeração ou congelamento, não interfere na sobrevivência do microrganismo.

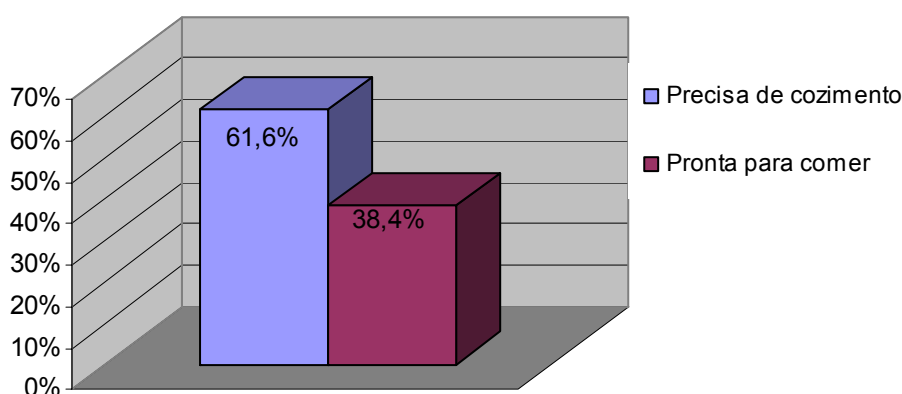


FIGURA 5 - Avaliação dos 500 consumidores entrevistados, quanto a necessidade de cozimento das salsichas

Outras respostas obtidas revelaram que 61,6% dos entrevistados reaquecem de alguma forma esse tipo de produto antes do consumo, sendo que destes, 49,35% adotam esse procedimento devido a preocupação com aspectos relacionados às condições higiênicas. Quanto a importância do reaquecimento das salsichas antes do consumo, os experimentos realizados por PORTO et al. (2004) demonstraram que o binômio tempo-temperatura na superfície da salsicha de 70°C/2 min ou 80-90°C/0,6 min reduzia a população de *L. monocytogenes* em 5-log 10 UFC.

Entre os critérios de escolha de salsichas no momento da compra, predominou a marca do produto (53,5%), seguida pelo preço (35,5%) e aparência (34%), sendo o hábito de comprar salsichas a granel admitido por 74,6% dos entrevistados (Figura 6).

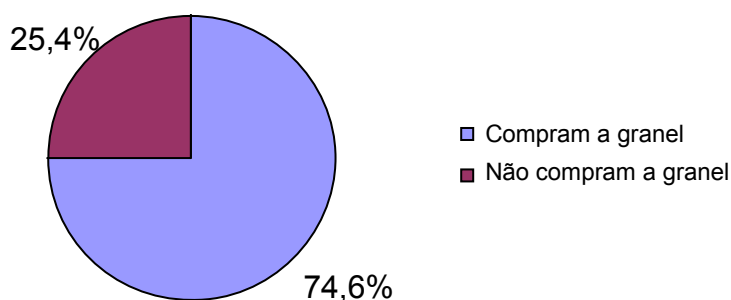


FIGURA 6 - Hábito de comprar salsichas a granel entre os 500 consumidores entrevistados

A detecção de *L. monocytogenes* em salsichas comercializadas a granel associada ao hábito de compra da grande maioria dos entrevistados, reforça a idéia de que os consumidores deveriam ter conhecimento sobre *L. monocytogenes*, permitindo a escolha do alimento de acordo com o estado de saúde de cada indivíduo, além de compreender a importância do prazo de validade e das orientações existentes nos rótulos, reduzindo assim a possibilidade de ingerir alimento contaminado. No entanto, no Brasil, não é mandatório que informações sobre o reaquecimento das salsichas antes do consumo constem do

rótulo. Ademais, os dados obtidos a partir das entrevistas, revelaram que apesar do freqüente consumo de salsichas (Figura 7), quanto à leitura dos rótulos, 43,6% os lêem com freqüência, dando ênfase apenas ao prazo de validade (59%), o que é agravado quando há o fracionamento do produto, onde na maioria das vezes o consumidor sequer tem acesso ao rótulo.

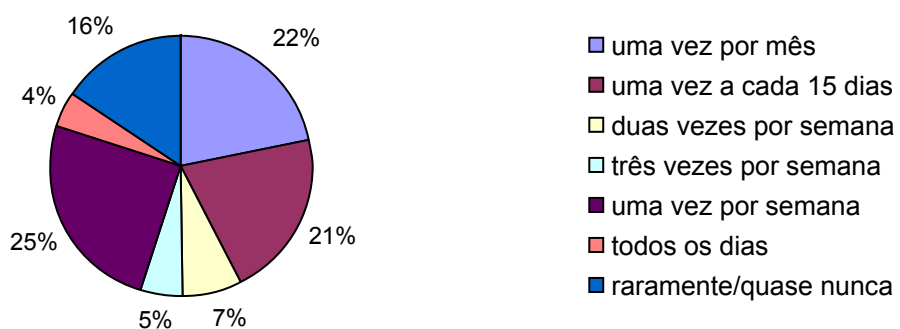


FIGURA 7 - Frequência no consumo de salsichas entre os 500 consumidores entrevistados

No cenário atual, constata-se ainda, o relacionamento incipiente entre os órgãos regulamentadores e os cidadãos, para avaliação e esclarecimento das informações disponíveis além da inexistência de campanhas de orientação e incentivo à leitura dessas informações. Portanto, os dados obtidos neste estudo, indicam a necessidade de orientação ao consumidor quanto ao reaquecimento das salsichas antes do consumo.

7 CONCLUSÃO

Listeria spp. e sorotipos patogênicos de *L. monocytogenes* foram detectados durante a produção de salsichas em duas indústrias com SIF, evidenciando a necessidade de revisão dos Planos existentes na indústria 01 e implantação/implementação na indústria 02.

Mesmo com a necessidade de reavaliação, no estabelecimento onde as ferramentas de autocontrole (BPF, PPHO e APPCC) estavam implantadas, identificou-se menor frequência de *L. monocytogenes* na matéria-prima cárnea utilizada no preparo de salsichas, ressaltando a importância do controle contínuo, com cumprimento de frequências de monitoramentos e verificações pré-estabelecidas.

O estabelecimento de padrões microbiológicos e a implantação imediata de programa de monitoramento específico por parte dos órgãos regulamentadores e fiscalizadores para controle de *Listeria* spp. nessa categoria de produtos possibilitaria maior segurança em sua industrialização.

Listeria monocytogenes, sorotipo 4b, estava presente em amostra de salsicha com registro no SIF, comercializada a granel, em supermercado da cidade de Goiânia, o que possibilita concluir que a manipulação para granelização deveria ser permitida apenas em condições especiais, onde houver práticas sanitárias que garantam a segurança do alimento.

Salsichas com SIF comercializadas tanto a granel como em embalagens fechadas desde a indústria, continham *Listeria* spp. evidenciando falhas no processo de produção.

Parcela significativa dos entrevistados considera as salsichas um produto pronto para o consumo, que não necessita de aquecimento, consumindo-as assim que retiradas da embalagem. Portanto, os hábitos de consumo associados aos resultados das análises microbiológicas indicam a possibilidade da ocorrência de infecção pela ingestão de salsichas contaminadas por *L. monocytogenes*.

Informações no rótulo do produto sobre a necessidade de aquecimento antes do consumo e maior interação entre órgãos regulamentadores e consumidores, podem contribuir para evitar ou reduzir casos de listeriose.

REFERÊNCIAS

1. AGUADO, V.; VITAS, A.I.; GARCÍA-JALON, I. Random amplified polymorphic DNA typing applied to the study of cross-contamination by *Listeria monocytogenes* in processed food products. **Journal of Food Protection**, Ames, v.64, n.5, p.716-720, 2001.
2. AGUADO, V.; VITAS, A.I.; GARCÍA-JALON, I. Characterization of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from a vegetable processing plant by RAPD and REA. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.90, n.3, p.341-347, 2004.
3. ANGELIDIS, A.S.; KOUTSOUMANIS, K. Prevalence and concentration of *Listeria monocytogenes* in sliced ready-to-eat meat products in the Hellenic retail market. **Journal of Food Protection**, Ames, v.69, n.4, p.938-942, 2006.
4. ANNOUS, B.A.; BECKER, L.A.; BAYLES, D.O.; LABEDA, D.P.; WILKINSON, B.J. Critical role of anteiso-C_{15:0} fatty acid in the growth of *Listeria monocytogenes* at low temperatures. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, n.10, p.3887-3894, 1997.
5. ANONYMOUS. *Listeria* destruction in cooked meat products ineffective. **Food Chemical News**, Washington, v.30, n.15, p.32-34, 1988.
6. ANONYMOUS. *Listeria* found in 20% of hot dogs in L.A. times survey. **Food Chemical News**, Washington, v.35, n.21, p.45-46, 1993.
7. ANONYMOUS. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food – 10 sites, United States. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v.54, n.14, p.352-356, 2005.
8. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, Washington, DC 2001. p 345
9. AUTIO, T.; SÄTERI, T.; FREDRIKSSON-AHOMAA, M.; RAHKIO, M.; LUNDÉN, J.; KORKEALA, H. *Listeria monocytogenes* contamination pattern in pig slaughterhouses. **Journal of Food Protection**, v.63, n.10, p.1438-1442, 2000.
10. BARNES, R.; ARCHER, P.; STRACK, J.; ISTRE, G.R. Listeriosis associated with consumption of turkey franks. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, v.38, n.15, p.267-268, 1989.
11. BASSLER, B.L. Small talk Cell-to-cell communication in bacteria. **Cell**, v.109, n.4, p.421-424, 2002.

12. BEREKSI, N.; GAVINI, F.; BÉNÉZECH, T.; FAILLE, C. Growth, morphology and surface properties of *Listeria monocytogenes* Scott A and LO28 under saline and acid environments. **Journal of Applied Microbiology**, v.92, n.3, p. 556-565, 2002.
13. BioMÉRIEUX. REF 30 700 VIDAS® *Listeria* (LIS). 2006a.
14. BioMÉRIEUX. REF 30 704 VIDAS® *Listeria monocytogenes* II (LMO2). 2006b.
15. BOYLE, D.L.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R. Thermal destruction of *Listeria monocytogenes* in a meat slurry and in ground beef. **Journal of Food Science**. v.55, n.2, p.327-329, 1989.
16. BRANCO, M.A.A.C.; FIGUEIREDO, E.A.T.; BORGES, M.F.; SILVA, M.C. D.; DESTRO, M.T. Incidência de *Listeria monocytogenes* em queijo de coalho refrigerado produzido industrialmente. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 21, n.2, p.393-408, jul/dez. 2003.
17. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Decreto Nº 30.691 de 29 de março de 1952 – Aprova o Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de produtos de origem Animal – RIISPOA. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, Seção 1.
18. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – MAPA/SDA. Portaria Nº 46 de 10 de fevereiro de 1998 – Institui o Sistema de Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle – APPCC. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.24, de 16 de março de 1998. Seção 1.
19. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária – SVS/MS. Portaria nº 1004, de 11 de dezembro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico: "Atribuição de Função de Aditivos, Aditivos e seus Limites Máximos de uso para a Categoria 8 - Carne e Produtos Cárneos". **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 54-E, 22 de março de 1999.
20. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – MAPA/SDA. Instrução Normativa Nº 4 de 31 de março de 2000.- Aprova os Regulamentos Técnicos de Identidade e Qualidade de Carne Mecanicamente Separada, de Mortadela, de Lingüiça e de Salsicha - **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.6, de 05 de abril de 2000. Seção 1.
21. BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – MS/ANVISA. Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Aprova o regulamento sobre padrões microbiológicos para alimentos e seus Anexos

- I e II. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n.7, p.45-53, de 10 de janeiro de 2001. Seção 1.
22. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária – MAPA/SDA. Instrução Normativa Nº 62 de 26 de agosto de 2003. Oficializa os Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.14, de 18 de setembro de 2003. Seção 1.
23. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária/Departamento de Inspeção de Produtos de Origem Animal – MAPA/SDA/DIPOA. Circular Nº 354. **SIGSIF**. Brasília, 25 de Junho de 2004.
24. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – MS/SVS, Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos no Brasil, 1999 – 2004. Boletim Eletrônico Epidemiológico. Brasília, ANO 5, n.06, 28 dez. 2005. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/bol_epi_6_2005_corrigido.pdf Acesso em: 19 abr. 2007.
25. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde – MS/SVS. Portaria Nº 5, de 21 de fevereiro de 2006. Inclui doenças na relação nacional de notificação compulsória, define doenças de notificação imediata, relação dos resultados laboratoriais que devem ser notificados pelos Laboratórios de Referência Nacional ou Regional e normas para notificação de casos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, n.38, p.34, de 22 de fevereiro de 2006a. Seção 1.
26. BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. **Guia Alimentar para a População Brasileira**, 1.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2006b. 210p.
27. BRASIL, Ministério da Saúde – MS. Disponível em: www.saude.gov.br Acesso em: 1 mai. 2007a.
28. BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gabinete do Ministro – MAPA. Instrução Normativa Nº 51, de 29 de dezembro de 2006. Adota o Regulamento Técnico de atribuição de aditivos e seus limites das seguintes categorias de alimentos 8: carne e produtos cárneos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, p.14, de 04 de janeiro de 2007. Seção 1. 2007b.
29. BUCHANAN, R.L., STAHL, H.G.; WHITING, R.C. Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride and sodium nitrite on growth of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, Ames, v.52, n.12, p.844-851, 1989.

30. CDC/DHHS - Centers for Disease Control and Prevention. Department of Health and Human Services -, Disponível em: http://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens_pages/listeria_monocytogenes.htm Acesso em: 01 mai. 2007a.
31. CDC/DHHS - Centers for Disease Control and Prevention. Department of Health and Human Services. Outbreak Surveillance Data. Disponível em: http://www.cdc.gov/foodborneoutbreaks/outbreak_data.htm Acesso em: 13 jun. 2007b.
32. CHAVANT, P.; MARTINIE, B.; MEYLHEUC, T.; BELLON-FONTAINE, M.N.; HEBRAUD, M. *Listeria monocytogenes* LO28: surface physicochemical properties and ability to form biofilms at different temperatures and growth phases. **Applied and Environmental Microbiology**, v.68, n.2, p.728-737, 2002.
33. CHIHIB, N.E.; RIBEIRO, D.S.; DELATTRE, G.; MAROCHE, M.; FEDERIGHI, M. Different cellular fatty acid pattern behaviors of two strains of *Listeria monocytogenes* Scott A and CNL 895807 under different temperature and salinity conditions. **FEMS Microbiology Letters**, v.218, n.1, p. 155-160, 2003.
34. CODEX ALIMENTARIUS – Normas Oficiais del Codex - Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de *Listeria monocytogenes* en los alimentos **CAC/GL 61 – 2007**. 21p.
35. COELHO, C.P.; GOMIDE, L.A, de M ; PASSOS, F.J.V.; VANETTI, M.C.D. ; BORGES, M. F. ; SIQUEIRA, R. C. S. Efeito, *in vitro*, de glicose e cloreto de sódio sobre *Listeria* spp. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998a. **Anais**. Rio de Janeiro: SBCTA, 1998a. V.3, p.885-888
36. COELHO, C. P.; GOMIDE, L.A, de M ; VANETTI, M.C.D. ; PASSOS, F. J. V. ; BORGES, M. F. ; SIQUEIRA, R. C. S. Efeito, *in vitro*, de pH e nitrito de sódio sobre *Listeria* spp. In: XVI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 1998b. **Anais**. Rio de Janeiro: SBCTA, 1998b. V.3, p.889-892.
37. DELGADO DA SILVA, M.C.; DESTRO, M.T.; HOFER, E.; TIBANA, A. Characterization and evaluation of some virulence markers of *Listeria monocytogenes* strains isolated from Brazilian cheeses using molecular, biochemical and serotyping techniques. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.63, n.3, p.275-280, 2001.
38. DHHS/FDA - Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration -. *Listeria monocytogenes*; Petition to Establish a Regulatory Limit. Federal Register: May 24, 2004 Volume 69, Number 100. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/~lrd/fr04524b.html>, Acesso em: 01 mai. 2007.

39. DHHS/FDA - Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration – Draft Compliance Policy Guide Sec. 555.320 *Listeria monocytogenes*; Notice of Public Meeting: Feb 7, 2008 Volume 73, Number 26. Disponível em: <http://www.foodsafety.gov/~lrd/fr08027a.html>, Acesso em: 01 ago. 2008.
40. DONLAN, R.M. Biofilms: microbial life on surfaces. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.9, p.881-890, 2002.
41. DONNELLY, C.W. *Listeria monocytogenes*: a continuing challenge. **Nutrition Reviews**, v. 59, n.6, p. 183-194, 2001.
42. EL-KEST, S.E.; MARTH, E.H. Injury and death of frozen *Listeria monocytogenes* as affected by glycerol and milk components. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n.4, p.1201-1208, 1991.
43. EUROPEAN COMMISSION, European Commission regulation on microbiological criteria for foodstuffs – SANCO/4198/2001 Rev. 15. 2005.
44. FARBER, J. M.; BROWN, B. E. Effect of prior heat shock on heat resistance of *Listeria monocytogenes* in meat. **Applied and Environmental Microbiology**, v.56, n.6, p. 1584-1587, 1990.
45. FARBER, J.M.; PETERKIN, P.I. *Listeria monocytogenes*, a Food-Borne Pathogen. **Microbiological Reviews**, Washington, v.55, n.3, p.476-511, 1991.
46. FARBER, J. M. An introduction to the hows and whys of molecular typing. **Journal of Food Protection** v.59, n. 10, p. 1091-1101, 1996.
47. FARBER, J.M.; CAI, Y.; ROSS, W.H. Predictive modeling of the growth of *Listeria monocytogenes* in CO₂ environments. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.32, n.1-2, p.133-144, 1996.
48. FARBER, J.M.; PAGOTTO, F.; SCHERF, C. Incidence and behavior of *Listeria monocytogenes* in meat products. In: RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. cap. 13, p.503-570.
49. FISHER, C.W.; LEE, D.; DODGE, B-A.; HAMMAN, K.M.; ROBINS, J.B.; MARTIN, S.E. Influence of catalase and superoxide dismutase on ozone inactivation of *Listeria monocytogenes*. **Applied and Environmental Microbiology**, v.66, n.4, p.1405-1409, 2000.
50. Food Safety and Inspection Service. United States Department of Agriculture – FSIS/USDA, Rule Designed to Reduce *Listeria monocytogenes* In Ready-To-Eat Meat And Poultry Products – April 2003.

Disponível em: www.fsis.usda.gov/OA/topics/lm.htm Acesso em: 01 mai. 2007.

51. FSIS/USDA/CFSAN/FDA/USDHHS - Food Safety and Inspection/United States Department of Agriculture Service/United States Department of Health and Human Services/Food and Drug Administration's/Center for Food Safety and Applied Nutrition. Quantitative Assessment of the Relative Risk to Public Health from Foodborne *Listeria monocytogenes* Among Selected Categories of Ready-to-Eat Foods, September, 2003. 540p.
52. GANDHI, M.; CHIKINDAS, M.L. *Listeria*: A foodborne pathogen that knows how to survive. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.113, n. 1, p.1-15, 2007.
53. GARCÍA-ÁLVAREZ, M.; CHAVES, F.; SANZ, F.; OTERO, J.R. Epidemiología molecular de las infecciones por *Listeria monocytogenes* em um área de Madrid durante um período de 3 años (2001-2003). **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v.24, n.02, p.86-89, 2006.
54. GARDAN, R.; COSSART, P.; THE EUROPEAN *Listeria* GENOME CONSORTIUM; LABADIE, J. Identification of *Listeria monocytogenes* genes involved in salt and alkaline-pH tolerance. **Applied and Environmental Microbiology**, v.69, n.6, p.3137-3143, 2003.
55. GASANOV, U.; HUGHES, D.; HANSBRO, P.M. Methods for the isolation and identification of *Listeria* spp. and *Listeria monocytogenes*: a review. **FEMS Microbiology Reviews**, v.29, n.5, p.851-875, 2005.
56. GELLIN, B.G.; BROOME, C.V. Listeriosis. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v.261, n.9, p.1313-1320, 1989.
57. GELLIN, B.G.; BROOME, C.V.; BIBB, W.F.; WEAVER, R.E.; GAVENTA, S.; MASCOLA, L. & LISTERIOSIS STUDY GROUP. The Epidemiology of Listeriosis in the United States—1986. **American Journal of Epidemiology**, Oxford, v.133, n.4, p.392-401, 1991.
58. GLASS, K.A.; DOYLE, M.P. Fate and thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* in beaker sausage and pepperoni. **Journal of Food Protection**, Ames, v.52, n.4 , p.226-231, 235, 1989.
59. GOMBAS, D.E.; CHEN, Y.; CLAVERO, R.S.; SCOTT, V.N. Survey of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. **Journal of Food Protection**, Ames, v.66, n.4, p.559-569, 2003.
60. GRAVES, L.M.; SWAMINATHAN, B.; HUNTER, S.B. Subtyping *Listeria monocytogenes*. In: RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. cap. 6, p.157-213.

61. HARMAYANI, E.; SOFOS, J.N.; SCHMIDT, G.R. Fate of *Listeria monocytogenes* in raw and cooked ground beef with meat processing additives. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.18, n.3, p.223- 232, 1993.
62. HOFER, E.; SOARES DO NASCIMENTO, R.; ANTUNES DE OLIVEIRA, M. Meningite por *Listeria monocytogenes*. Relato de casos em pacientes do Distrito Federal. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v.31, n.2, p.173-177, 1998.
63. HOLAH, J.T.; TAYLOR, J.H.; DAWSON, D.J.; HALL, K.E. Biocide use in the food industry and the disinfectante resistance of persistent strains of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v.92, p.111S-120S, 2002.
64. ISOM, L.L.; KHAMBATTA, K.S.; MOLUF, J.L.; AKERS, D.F.; MARTIN, S.E. Filament formation of *Listeria monocytogenes*. **Journal of Food Protection**, Ames, v.58, n.9, p.1031-1033, 1995.
65. JAY, J.M. **Microbiologia de Alimentos**, 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.
66. KATHARIOU, S. *Listeria monocytogenes* virulence and pathogenicity, a food safety perspective. **Journal of Food Protection**, Ames, v.65, n.11, p.1811-1829, 2002.
67. Kenneth Todar University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology 2003. *Listeria monocytogenes* and Listeriosis. Disponível em: <http://textbookofbacteriology.net/Listeria.html> , Acesso em: 07 set. 2007.
68. LADO, B.H.; YOUSEF, A.E. Characteristics of *Listeria monocytogenes* important to food processors. In: RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. cap. 6, p.157-213.
69. LIANOU, A.; GEORNARAS, I.; KENDALL, P.A.; SCANGA, J.A.; SOFOS, J.N. Behavior of *Listeria monocytogenes* at 7°C in commercial turkey breast, with or without antimicrobials, after simulated contamination for manufacturing, retail and consumer settings. **Food Microbiology**, London, v.24, n.5, p.433-443, 2007.
70. LOGUERCIO, A.P.; SILVA, W.P.; ALEIXO, J.A.G.; COSTA, M.M.; VARGAS, A.C. *Listeria monocytogenes*: um importante patógeno de origem alimentar. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 15, n.80-81, p.39-48, jan./fev. 2001.

71. LOU, Y.; YOUSEF, A.E.; Resistance of *Listeria monocytogenes* to heat after adaptation to environmental stresses. **Journal of Food Protection**, Ames, v.59, n.5, p.465-471, 1996.
72. LOU, Y.; YOUSEF, A.E.; Adaptation to sublethal environmental stresses protects *Listeria monocytogenes* against lethal preservation factors. **Applied and Environmental Microbiology**, v.63, n.4, p.1252-1255, 1997.
73. LYYTIKÄINEN, O.; AUTIO, T.; MAIJALA, R.; RUUTU, P.; HONKANEN-BUZALSKI, T.; MIETTINEN, M.; HATAKKA, M.; MIKKOLA, J.; ANTTILA, V.J.; JOHANSSON, T.; RANTALA, L.; AALTO, T.; KORKEALA, H.; SIITONEN, A. An Outbreak of *Listeria monocytogenes* serotype 3a infections from butter in Finland. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.181, n.5, p.1838-1841, 2000.
74. MAC FADDIN, J.F. **Biochemical tests for identification of medical bacteria**. 2.ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1980. 527p.
75. McKELLAR, R.C; MOIR, R.; KALAB, M. Factors influencing the survival and growth of *Listeria monocytogenes* on the surface of Canadian retail wieners. **Journal of Food Protection**, Ames, v.57, n.5, p.387-392, 1994.
76. McLAUHLIN, J.; MITCHELL, R.T.; SMERDON, W.J.; JEWELL, K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.92, n.1, p.15-33, 2004.
77. MIETTINEN, M.K.; BJÖRKROTH, K.J.; KORKEALA, H.J. Characterisation of *Listeria monocytogenes* from an ice-cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.46, n.3, p.187-192, 1999.
78. MONTVILLE, T.J.; MATTHEWS, K.R. **Food microbiology: an introduction**. Washington: ASM Press, 2005. cap 13, p.159-173.
79. MORETRO, T.; LANGSRUD, S. *Listeria monocytogenes*: biofilm formation and persistence in food-processing environments. **Biofilms**, London, v.1, p.107-121, 2004.
80. NUFER, U.; STEPHAN, R.; TASARA, T. Growth characteristics of *Listeria monocytogenes*, *Listeria welshimeri* and *Listeria innocua* strains in broth cultures and a sliced bologna-type product at 4 and 7°C. **Food Microbiology**, London, v.24, n.5, p.444-451, 2007.
81. OLSEN, S.J.; MACKINNON, L.C.; GOULDING, J.S.; BEAN, N.H.; SLUTSKER, L. Surveillance for Foodborne-Disease Outbreaks – United States, 1993 – 1997. **Morbidity and Mortality Weekly Report Surveillance Summaries – Centers for Disease Control and Prevention**, v.49, n.1, p.1-51, 2000.

82. PETTINATI, N.N.; TELLES, E.O.; BALLIAN, S.C. *Listeria monocytogenes* in hot dog sausages obtained from groceries stores on the city of São Paulo – a comparative and retrospective analysis of human listeriosis isolates. **Veterinária e Zootecnia** v.13, n.2, p.182-191, 2006.
83. PHAN-THANH, L.; MAHOUI, F.; ALIGÉ, S. Acid responses of *Listeria monocytogenes*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.55, n.1-3, p.121-126, 2000.
84. PIMENTEL GOMES, F. A estatística moderna na pesquisa agropecuária. 3.ed. Piracicaba:POTAFOS, 1987. 162p.
85. PINNER, R.W.; SCHUCHAT, A.; SWAMINATHAN, B.; HAYES, P.S.; DEEVER, K.A.; WEAVER, R.E.; PLIKAYTIS, B.D.; REEVES, M.; BROOME, C.V.; WENGER, J.D. Role of food in sporadic listeriosis. II. Microbiologic and epidemiologic investigation. The *Listeria* study group. **Journal of the American Medical Association**, v.267, n.15, p.2046-2050, 1992.
86. PORTO, A.C.S.; CALL, J.E.; LUCHANSKY, J.B. Effect of Reheating on Viability of a Five-Strain Mixture of *Listeria monocytogenes* in Vacuum-Sealed Packages of Frankfurters following Refrigerated or Frozen Storage. **Journal of Food Protection**, Ames, v.67, n.1, p.71-76, 2004.
87. PULSENET AMÉRICA LATINA. Reglamento de Funcionamiento de la Red PulseNet para América Latina. Disponível em: http://www.panalimentos.org/pulsenet/files/6144525409_TerminosReferencia-BORRADOR-23-05-04.doc Acesso em: 01 mai. 2007.
88. REIJ, M.W.; DEN AANTREKKER, E.D. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. **International Journal of Food Microbiology**. Amsterdam, v.91, n.1, p.1-11, 2004.
89. ROBBINS, J.B.; FISHER, C.W.; MOLTZ, A.G.; MARTIN, S.E. Elimination of *Listeria monocytogenes* biofilms by ozone, chlorine, and hydrogen peroxide. **Journal of Food Protection**, Ames, v.68, n.3, p.494-498, 2005.
90. ROCOURT, J. Risk factors for listeriosis. **Food Control**, v.7, n.4, p.195-202, 1996.
91. ROCOURT, J.; BUCHRIESER, C. The genus *Listeria* and *Listeria monocytogenes*: phylogenetic position, taxonomy, and identification. In: RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. cap 1, p.1-20.
92. RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. 873p.

93. SAMELIS, J.; METAXOPOULOS, J. Incidence and principal sources of *Listeria* spp. And *Listeria monocytogenes* contamination in processed meats and a meat processing plant. **Food Microbiology**, London, v.16, n.5, p.465-477, 1999.
94. SAMPATHKUMAR, B.; XAVIER, I. J.; YU, L.S.L.; KHACHATOURIANS, G.G. Production of listeriolysin O by *Listeria monocytogenes* (Scott A) under heat-shock conditions. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v. 48, n.2, p.131-137, 1999.
95. SCHUCHAT, A.; SWAMINATHAN, B.; BROOME, C.V. Epidemiology of human listeriosis. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.4, n.2, p.169-183, 1991.
96. SCHULTZE, K.K.; LINTON, R.H.; COUSIN, M.A.; LUCHANSKY, J.B.; TAMPLIN, M.L. Effect of preinoculation growth media and fat levels on thermal inactivation of a serotype 4b strain of *Listeria monocytogenes* in frankfurter slurries. **Food Microbiology**, London, v.24, n.4, p.352-361, 2007.
97. SCHUWAB, J.P.; EDELWEISS, M.I.A. Identificação de *Listeria monocytogenes* em placentas humanas e espécimes de aborto pela técnica de imunistoquímica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v.39, n.2, p.111-114, 2003.
98. SCHWARTZ, B.; CIESIELSKI, C.A.; BROOME, C.V.; GAVENTA, S.; BROWN, G.R.; GELLIN, B.G.; HIGHTOWER, A.W.; MASCOLA, L. Association of sporadic listeriosis with consumption of uncooked hot dogs and undercooked chicken. **Lancet**, London, v.2, n.8614, p.779-782, 1988.
99. SEELIGER, H. P. R.; JONES, D. Genus *Listeria*. In: SNEATH, P. H. A. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1986. v. 2, p.1235-1245.
100. SHANK, F.R.; ELLIOT, E.L.; WACHSMUTH, I.K.; LOSIKOFF, M.E. US position on *Listeria monocytogenes* in foods. **Food Control**, v.7, n.4, p.229-234, 1996.
101. SILVA, W.P., LIMA A. S., GANDRA, E. A., ARAÚJO, M. R., MACEDO, M.R.P., DUVAL, E.H. *Listeria* spp. no processamento de lingüiça frescal em frigoríficos de Pelotas, RS, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.34, n.3, p.911-916, mai-jun, 2004.
102. STEPHENS, P.J.; JONES, M.V. Reduced ribosomal thermal denaturation in *Listeria monocytogenes* following osmotic and heat shocks. **FEMS Microbiology Letters**, v.106, n.2, p.177-182, 1993.
103. SWAMINATHAN, B.; CABANES, D.; ZHANG, W.; COSSART, P. *Listeria monocytogenes*. In: DOYLE, M.P.; BEUCHAT, L.R. **Food Microbiology**:

- Fundamentals and Frontiers**. 3.ed. Washington: ASM Press, 2007. cap 21, p.457-491.
104. TERATANAVAT, R.; HOOKER, N.H. Understanding the characteristics of US meat and poultry recalls: 1994-2002. **Food Control**, v.15, n.5, p.359-367, 2004.
105. TODD, E.C.D. Listeria: Risk assessment, regulatory control, and economic impact. In: RYSER, E.T.; MARTH E.H. **Listeria, Listeriose, and Food Safety**. 3.ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group, 2007. cap 18, p.767-812.
106. TOMPKIN, R.B. Control of *Listeria monocytogenes* in the food-processing environment. **Journal Food Protection**, Ames, v.65, n.4, p.709-725, 2002.
107. USDA-ARS - United States Department of Agriculture/Agricultural Research Service. News & Events: Unraveling the *Listeria* genome – 24 Oct 2006. Disponível em: <http://www.ars.usda.gov/is/pr/2006/061024.htm>
Acesso em: 01 mai. 2007.
108. USDA/FSIS - United States Department of Agriculture/ Food Safety and Inspection Service. FSIS Recalls. Disponível em: www.fsis.usda.gov/OA/recalls/rec_intr.htm Acesso em: 14 mai. 2007.
109. UYTENDAELE, M.; DE TROY, P.; DEBEVERE, J. Incidence of *Listeria monocytogenes* in different types of meat products on the Belgian retail market. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.53, n.1, p.75-80, 1999.
110. VAN COILLIE, E.; WERBROUCK, H.; HEYNDRICKX, M.; HERMAN, L.; RIJPENS, N. Prevalence and typing of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat food products on the Belgian market. **Journal of Food Protection**, Ames, v.67, n.11, p.2480-2487, 2004.
111. VITAS, A.I.; GARCIA-JALON, V.A. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.90, n.3, p.349-356, 2004.
112. VORSTER, S.M.; GREEBE, R.P.; NORTJE, G.L. The incidence of *Listeria* in processed meat of South Africa. **Journal of Food Protection**, Ames, v.56, n.22, p.169-172, 1993.
113. WALLACE, F.M.; CALL, J.E.; PORTO, A.C.S.; COCOMA, G.J.; ERRC SPECIAL PROJECT TEAMS T.; LUCHANSKY, J.B. Recovery rate of *Listeria monocytogenes* from commercially prepared frankfurters during extended refrigerated storage. **Journal of Food Protection**, Ames, v.66, n.4, p.584-591, 2003.

114. WENGER, J.D.; SWAMINATHAN, B.; HAYES, P.S; GREEN, S.S.; PRATT, M.; PINNER, R.W.; SCHUCHAT, A.; BROOME, C.V. *Listeria monocytogenes* contamination of turkey franks: evaluation of a production facility. **Journal of Food Protection**, Ames, v.53, n.12, p.1015-1019, 1990.
115. WHO – World Health Organization. Working Group. *Foodborne listeriosis*, Bulletin WHO, v.66, n.4, p.421-428, 1988.
116. WILSON, I.G. Occurrence of *Listeria* species in ready to eat foods. **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v.115, n.3, p.519-526, 1995.
117. XAVIER, K.B.; BASSLER, B.L. LuxS quorum sensing: more than just a numbers game. **Current Opinion in Microbiology**, v.6, n.2, p.191-197, 2003.
118. ZAIKA, L.L.; FANELLI, J.S. Growth kinetics and cell morphology of *Listeria monocytogenes* Scott A as affected by temperature, NaCl, and EDTA. **Journal of Food Protection**, Ames, v.66, n.7, p.1208-1215, 2003.

ANEXOS

ANEXO 01

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
 ESCOLA DE VETERINÁRIA
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
 HIGIENE E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

INDÚSTRIAS PRODUTORAS DE SALSICHAS

A – Informações sobre o SIF local

SIF	
Responsável	
Telefone	
e-mail	

B – Informações sobre o Estabelecimento

Estabelecimento	
Categoria/Classificação	
Telefone	
Fax	
e-mail	
Endereço	
Município	

C – Informações sobre a produção de SALSICHAS

PRODUÇÃO			
Tipos de salsichas produzidas			
Capacidade de produção/tipo/dia			
Produção mensal/tipo			
Volume de salsicha/tipo produzido em 2006			
Exportação do produto	SIM	NÃO	Mercados
Volume exportado em 2006			
Turnos de produção			
Horário do início e do final da produção			
Observações:			
TECNOLOGIA DE PRODUÇÃO			
Fluxograma de produção			
Memorial descritivo do produto (formulação)			
Peso e tamanho do produto			
Umidade produto			
Origem da matéria-prima carnea/gordura animal			
Aditivo(s) utilizado como inibidores bacterianos			

Concentração (aditivo)		
Envoltório utilizado		
Forma de cozimento		
Tempo e temperatura de cozimento (inicial e final)		
Forma de resfriamento		
Tempo e temperatura de resfriamento (inicial e final)		
Forma de remoção da pele		
Atmosfera modificada		
Embalagem utilizada		
Características do filme utilizado		
Equipamento utilizado para embalagem primária		
Temperaturas Estocagem na indústria (ambiente e produto na entrada e na saída)		
Tempo de estocagem na indústria		
Prazo de validade		
Reprocessamento		
Utilização de gelo		
Origem do gelo		
Gelo clorado		
Observações:		
CONTROLE DE TEMPERATURA		
Cozimento		
Resfriamento		
Estocagem		
Os registros de controle de temperatura estão à disposição do SIF durante a produção?	SIM	NÃO
Quando há desvios os registros de controle de temperatura descrevem as medias corretivas aplicadas?	SIM	NÃO
Os registros do monitoramento de temperaturas são compatíveis com os resultados obtidos da Inspeção Federal?	SIM	NÃO
Antes do armazenamento é medida a temperatura dos produtos e os registros identificam os lotes e locais de estocagem nas câmaras?	SIM	NÃO
Observações:		
INSTALAÇÕES	SIM	NÃO
Separação física entre a área crua e a área cozida?		
Local(is) para higienização das mãos nas áreas de produção de salsichas?		

Fábrica de gelo própria		
Observações:		
PROGRAMAS DE AUTOCONTROLE		
O estabelecimento possui BPF implantado?		
O estabelecimento possui PPHO implantado?		
A(s) linha(s) de produção de salsicha possui(em) APPCC implantado?		
Se possui APPCC implantado, qual(is) o(s) PCCs?		
Quais os limites críticos para cada PCC?		
Quais as ações corretivas para cada desvio dos parâmetros estabelecidos?		
Quais as medidas preventivas para cada PCC?		
Observações:		
LIMPEZA E SANITIZAÇÃO DAS INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS		
Quais as etapas de higienização das áreas de produção de salsichas?		
Com que frequência os procedimentos de higienização são executados?		
Há equipe exclusiva para a realização da higienização?		
Em quanto tempo é realizada a higienização da área?		
Como é avaliada a eficiência da higienização?		
Qual o princípio ativo do sanitizante utilizado na área de produção de salsicha?		
Em que concentração o sanitizante é utilizado?		
Dispõem de água quente para higienização?		
Utilizam água quente para higienização? Qual a temperatura?		
Dispõem de vapor para sanitização?		
Utilizam vapor para sanitização?		
Há evidência que a empresa monitora rotineiramente a higienização?		
Há evidências de que são adotadas medidas corretivas, se necessárias?		
A empresa registra diariamente os resultados do monitoramento?		
Durante a inspeção do estabelecimento foram observados riscos de contaminação cruzada entre produtos acabados e matérias-primas, ou produtos submetidos a tratamentos diferentes, através dos equipamentos de processo, manipuladores ou no armazenamento?		

Há evidência de que a empresa executa diariamente a limpeza e sanificação das instalações e equipamentos?			
Há resíduos de alimentos nos equipamentos higienizados?			
Observações:			
ROTULAGEM			
Os produtos estão com rótulos aprovados no SIF/DIPOA?			
A rotulagem corresponde ao modelo apresentado para aprovação?			
Há indicação se o produto deve ser aquecido antes do consumo?			
Se há indicação, qual o tempo e a temperatura sugeridos?			
Período de validade do produto que consta no rótulo			
Conforme o rótulo, em que temperatura o produto deve ser armazenado?			
Conforme o rótulo, após aberto em quanto tempo deve ser consumido?			
Observações:			
ANÁLISES LABORATORIAIS			
Quais análises físico-químicas e com que freqüência são realizadas pelo SIF?			
Quais análises microbiológicas e com que freqüência são realizadas pelo SIF? Qual a freqüência?			
Os resultados das análises realizadas demonstram que os limites previstos na legislação são alcançados?			
Quais análises físico-químicas e com que freqüência são realizadas pela Qualidade?			
Quais análises microbiológicas e com que freqüência são realizadas pela Qualidade?			
Os resultados dessas análises estão de acordo com os limites previstos na legislação?			
Observações:			
CONTROLE DE PRAGAS		SIM	NÃO
Presença de moscas na área de produção?			
Presença de formigas na área de produção?			
Presença ou indícios da presença de baratas na área de produção?			
Barreiras físicas instaladas de forma que impeçam a entrada de insetos na área de produção			
Os ralos são sifonados?			
Os resíduos (lixo) são retirados da sala de produção continuamente?			

Pisos, paredes ou outros pontos danificados que possam servir de abrigo à pragas?		
Observações:		
ÁGUA DE ABASTECIMENTO	SIM	NÃO
Os reservatórios estão bem fechados?		
Os reservatórios apresentam fendas ou rachaduras?		
Os reservatórios apresentam sinais de vazamento?		
O alarme de cloro está funcionando?		
Os pontos de coleta de água estão identificados na área de produção de salsichas?		
A rede de água apresenta sinais de vazamento?		
Os resultados das análises microbiológicas da água estão de acordo com padrão?		
Os resultados das análises físico-químicas da água estão de acordo com o padrão?		
O cloro da água de abastecimento é monitorado diariamente?		
Os resultados do monitoramento do cloro são compatíveis com os achados da IF?		
Observações:		
MANUTENÇÃO DAS INSTALAÇÕES E EQUIPAMENTOS	SIM	NÃO
A seção de salsicharia se encontra em reforma?		
As condições de conservação das instalações são satisfatórias?		
As condições de conservação dos equipamentos são satisfatórias?		
As soldas nos equipamentos são de fácil higienização?		
Os equipamentos foram projetados para reduzir eventuais riscos à segurança dos produtos?		
Os trabalhos são realizados em ambiente limpo e ordenado?		
As instalações são mantidas em condições higiênicas?		
Há condensação?		
Observações:		
VESTIÁRIOS, SANITÁRIOS, GABINETES SANITÁRIOS, LAVANDERIA, RESTAURANTE E ALMOXARIFADO	SIM	NÃO
Os vestiários e sanitários estão limpos e organizados?		
Os lavatórios estão bem localizados e dispõem de sabão líquido e papel toalha?		
Os uniformes são lavados diariamente?		
Os uniformes são lavados em lavanderia localizada na própria indústria?		
Os uniformes são lavados em lavanderia terceirizada?		
O refeitório apresenta condições higiênicas?		
O almoxarifado está organizado, limpo e com separação e identificação dos materiais?		

Observações:		
HIGIENE E HÁBITOS HIGIÊNICOS DOS FUNCIONÁRIOS	SIM	NÃO
O controle de saúde dos funcionários está atualizado?		
Os funcionários apresentam hábitos higiênicos?		
Os funcionários tomam banho e trocam de uniforme antes do acesso à área de manipulação do produto depois de cozido?		
Os funcionários trocam de uniforme antes do acesso à área de manipulação do produto depois de cozido?		
Há barreiras sanitárias na área de acesso à área do produto pronto (depois de cozido)?		
A circulação de funcionários de outras áreas é permitida na área pós-cozimento?		
Observações:		

COMENTÁRIOS:

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
HIGIENE E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Entrevistado nº:
Fem. Masc.
Local:
Data:

QUESTIONÁRIO
POPULAÇÃO CONSUMIDORA DE SALSICHAS

1. Com que frequência você come salsicha?

- () uma vez por mês () todos os dias
() uma vez a cada 15 dias () raramente/quase nunca
() uma vez por semana

2. Que tipo de salsicha você come?

- () frango () peru
() bovino () qualquer uma
() suíno () não sabia que tinha diferença

3. Você considera salsicha um produto pronto para comer ou precisa ser cozido?

- () precisa de cozimento
() pronto para comer

4. Se respondeu que precisa de cozimento, por quê?

5. Como você prepara salsicha? _____

6. Quando congelada, você descongela a salsicha antes de aquecê-la?

- () sim
() não

7. Se descongela, de que forma o faz?

- () geladeira
() microondas
() imerso em água
() embaixo da torneira
() temperatura ambiente

8. Você lê o rótulo do pacote de salsichas?

- () sim
() não
() às vezes

9. Se sim, o que você lê no rótulo?

- () data de validade
() composição/ingredientes
() marca

Outras informações: _____

10. Você compra salsicha a granel (embaladas no supermercado)?

- () sim
() não

11. Como você guarda as salsichas em casa?

- () geladeira
() freezer
() ambiente

12. Por quanto tempo as salsichas ficam guardadas antes do consumo?

13. O que você mais leva em conta na hora de comprar salsicha?

ANEXO 03 – ANÁLISE DE PERIGOS
(Eixo X= probabilidade de ocorrência; Y= amostragem)

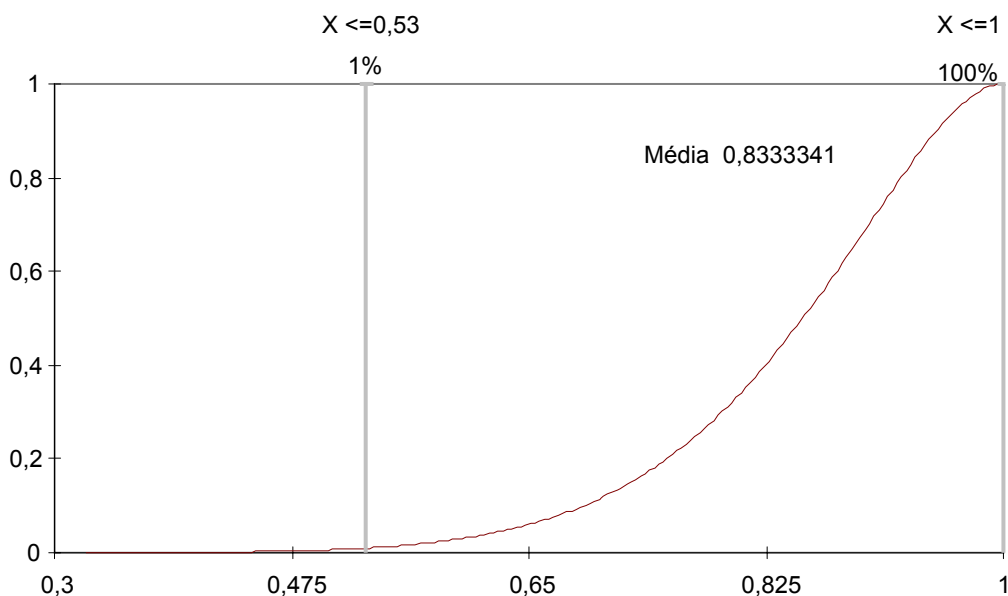


Gráfico 01 - Distribuição da freqüência de *Listeria* spp. na base cárnea destinada a fabricação de salsichas, na produção amostrada na indústria 01, com 99% de confiança de que no mínimo 53% esteja contaminada.

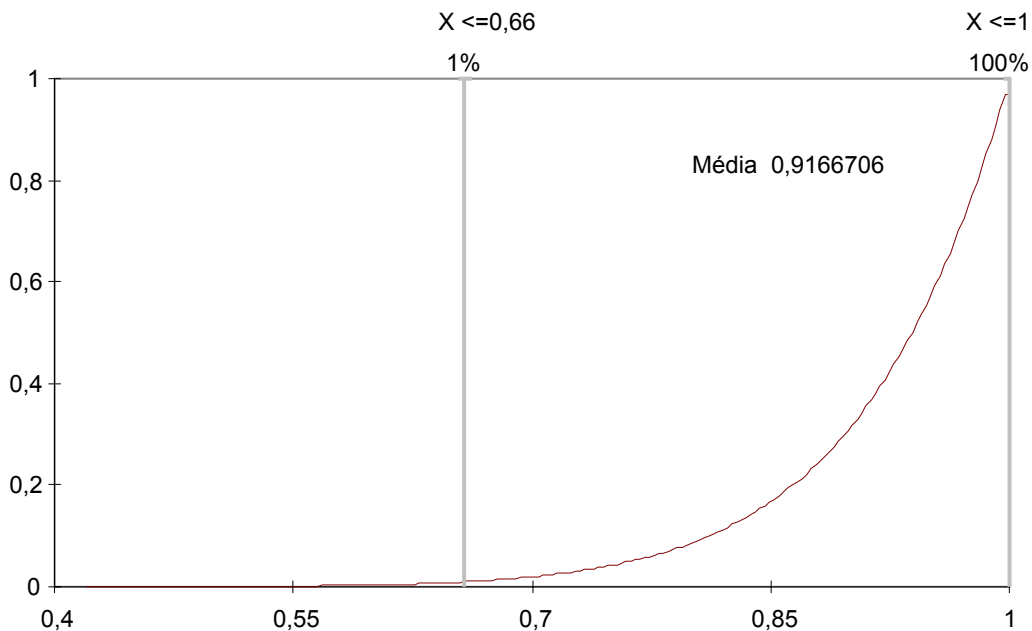
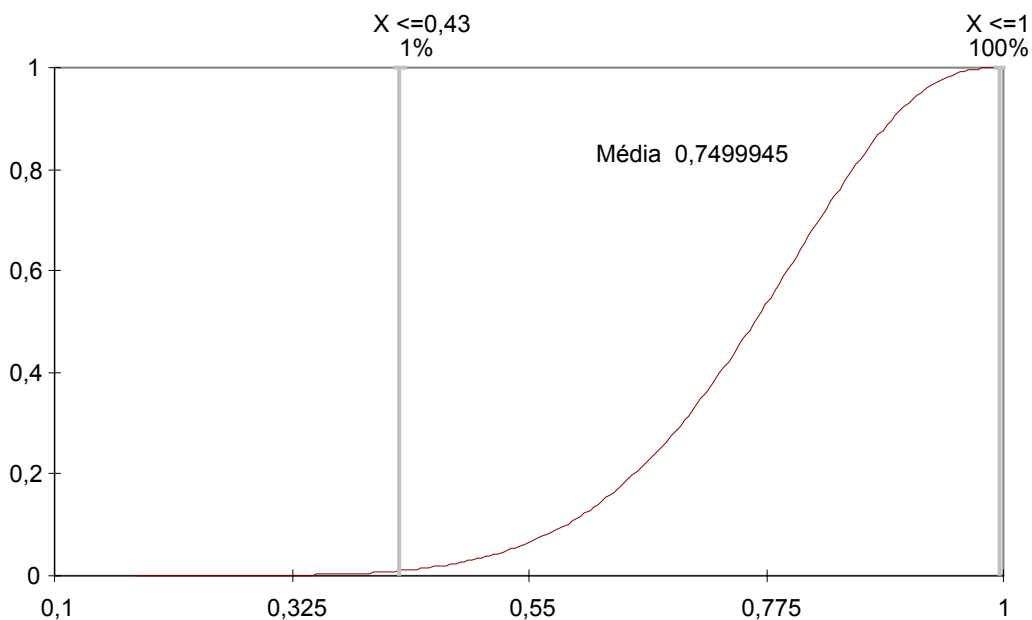
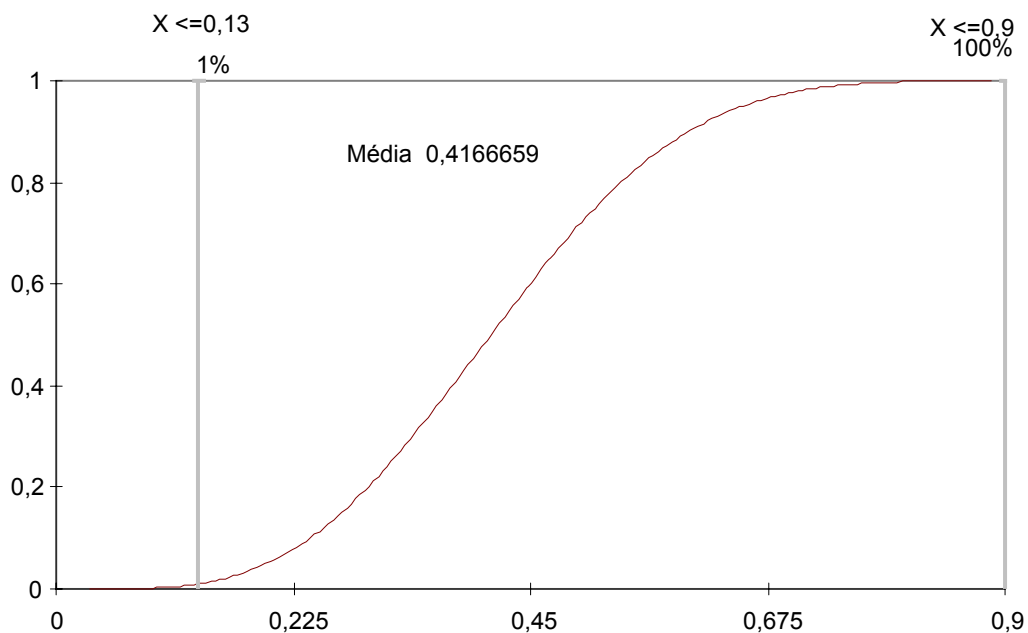


Gráfico 02 - Distribuição da freqüência de *Listeria* spp. na base cárnea destinada a fabricação de salsichas, na produção amostrada indústria 02, com 99% de confiança de que no mínimo 66% esteja contaminada.



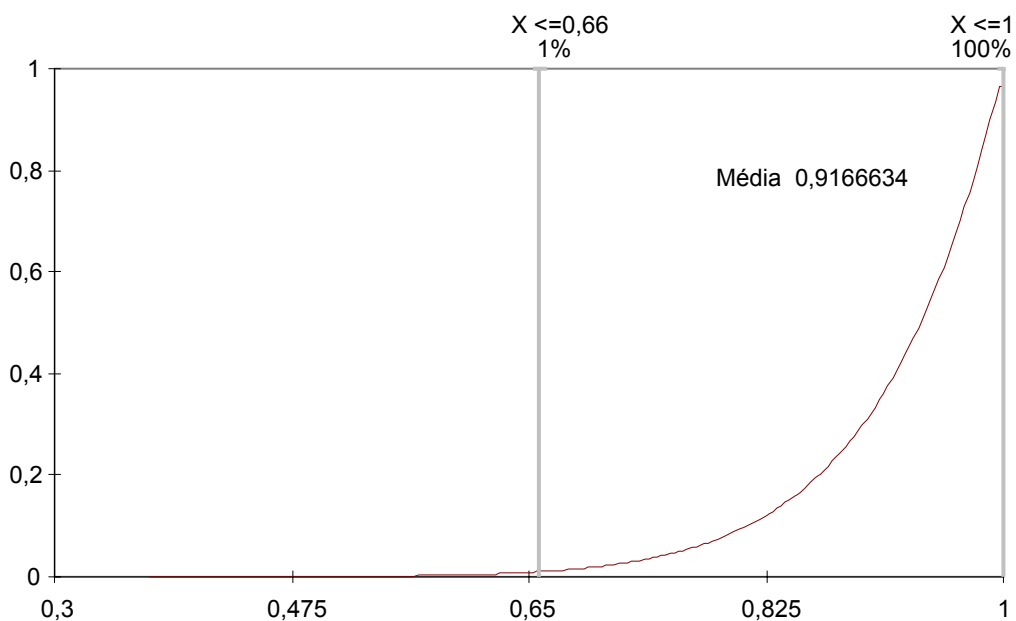


Gráfico 05 – Distribuição da frequência de *Listeria* spp. na emulsão destinada a fabricação de salsichas, na produção amostrada na indústria 01, com 99% de confiança de que no mínimo 66% esteja contaminada.

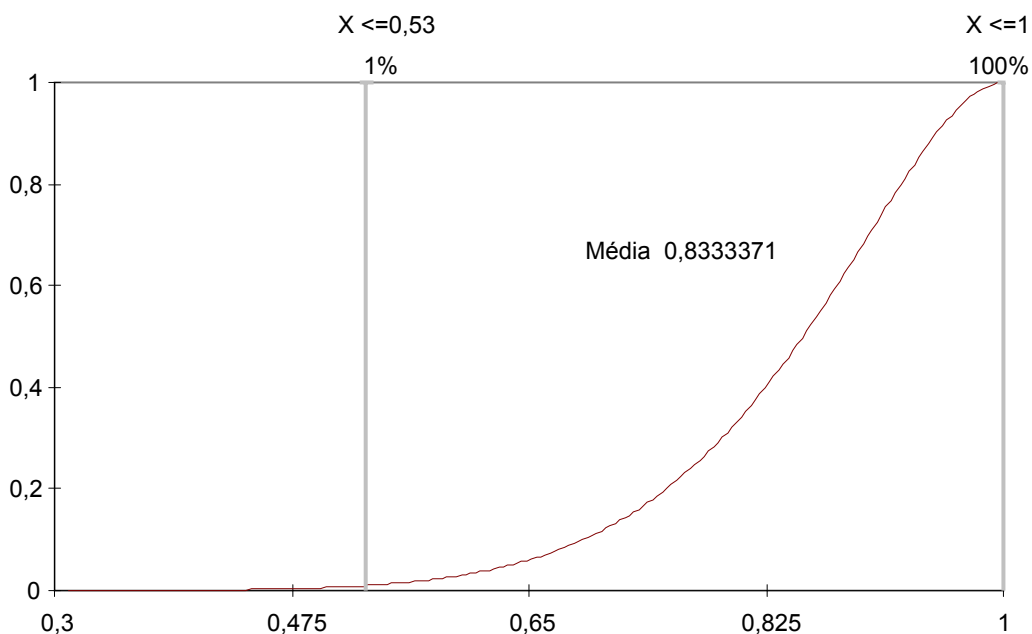
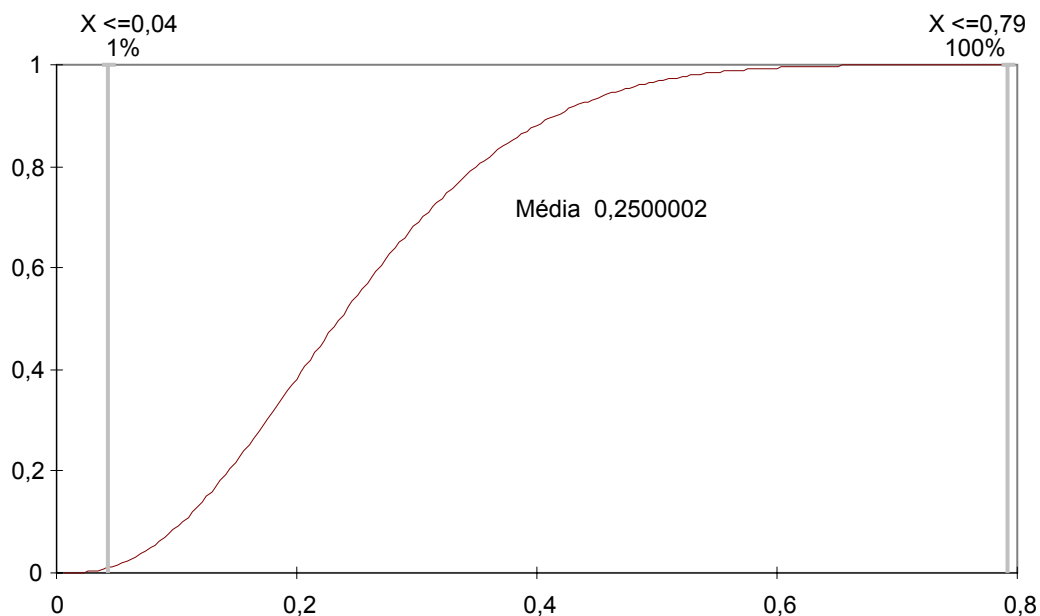
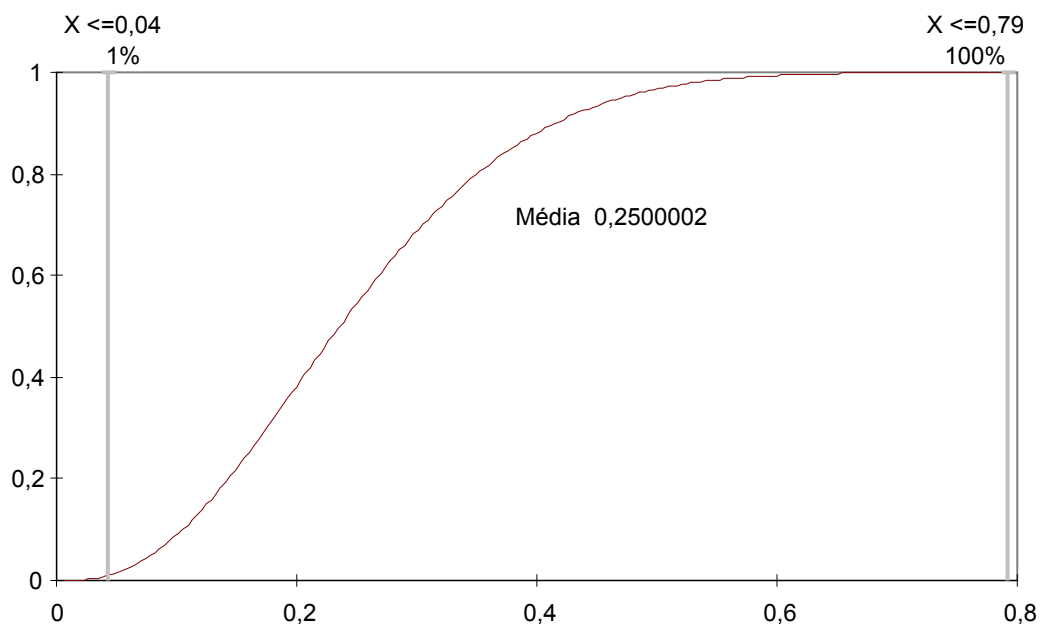


Gráfico 06 - Distribuição da frequência de *Listeria* spp. na emulsão destinada a fabricação de salsichas, na produção amostrada na indústria 02, com 99% de confiança de que no mínimo 53% esteja contaminada.



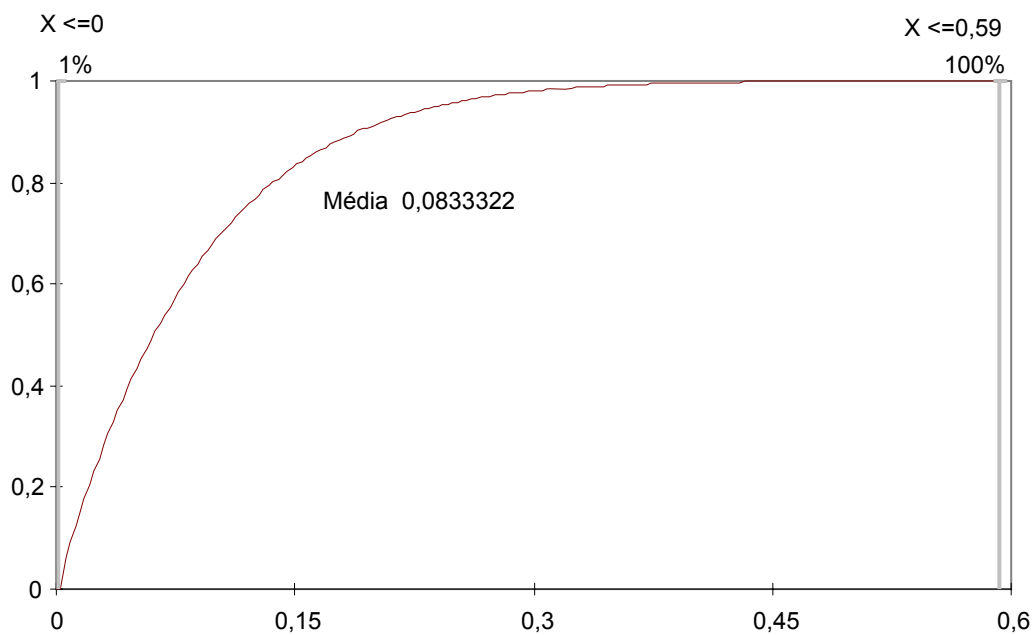


Gráfico 09 - Distribuição da frequência de *Listeria* spp. em salsichas, na produção amostrada na indústria 01, com 99% de confiança de que em média 8% da produção esteja contaminada.

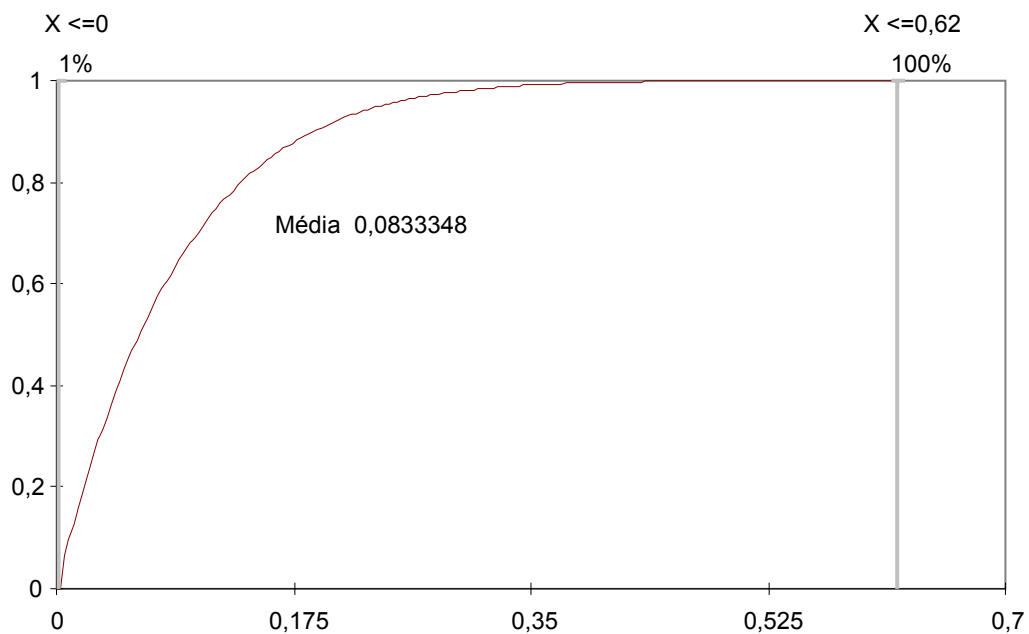


Gráfico 10 - Distribuição da frequência de *Listeria* spp. em salsichas, na indústria 02, com 99% de confiança de que em média 8% da produção esteja contaminada.

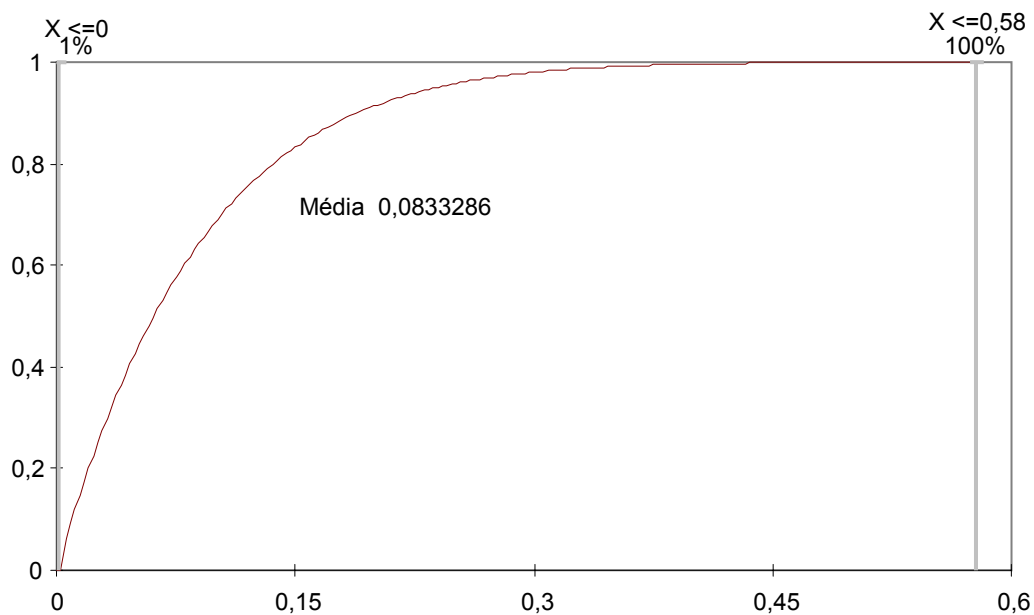


Gráfico 11 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas amostradas na indústria 01, com 99% de confiança de que em média 8% da produção esteja contaminada.

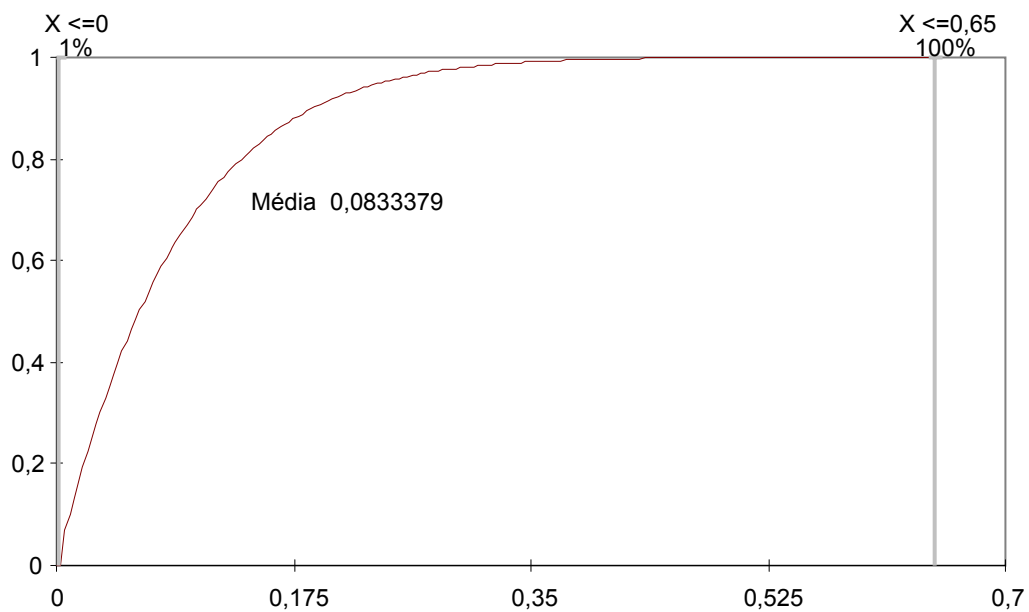


Gráfico 12 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas amostradas na indústria 02, com 99% de confiança de que em média, 8% da produção esteja contaminada.

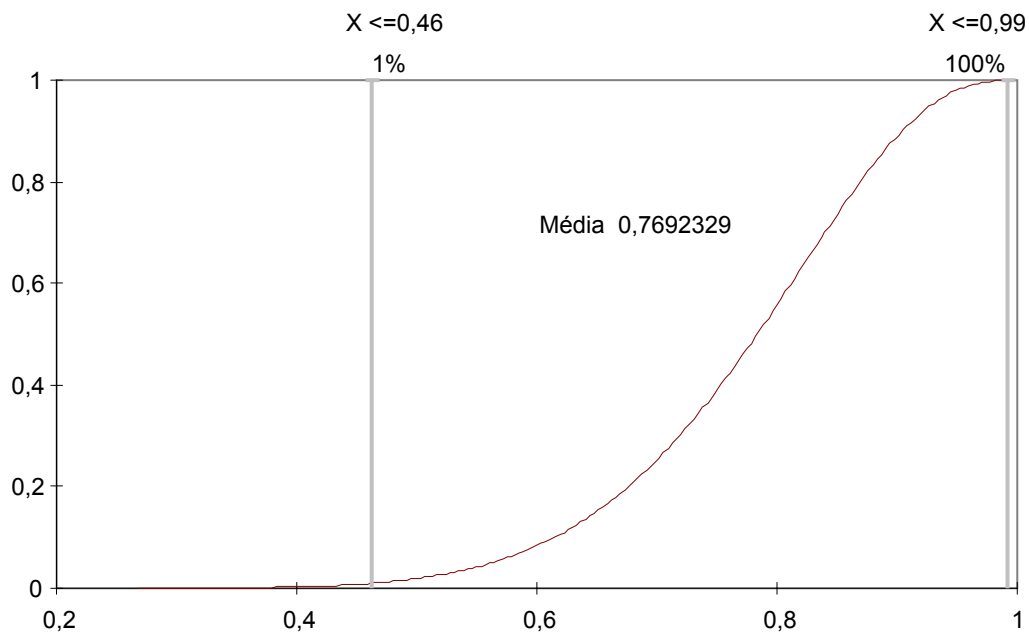


Gráfico 13 - Distribuição da freqüência de *Listeria* spp. em salsichas da indústria 01, no varejo, comercializadas a granel, com 99% de confiança de que no mínimo 46% esteja contaminada.

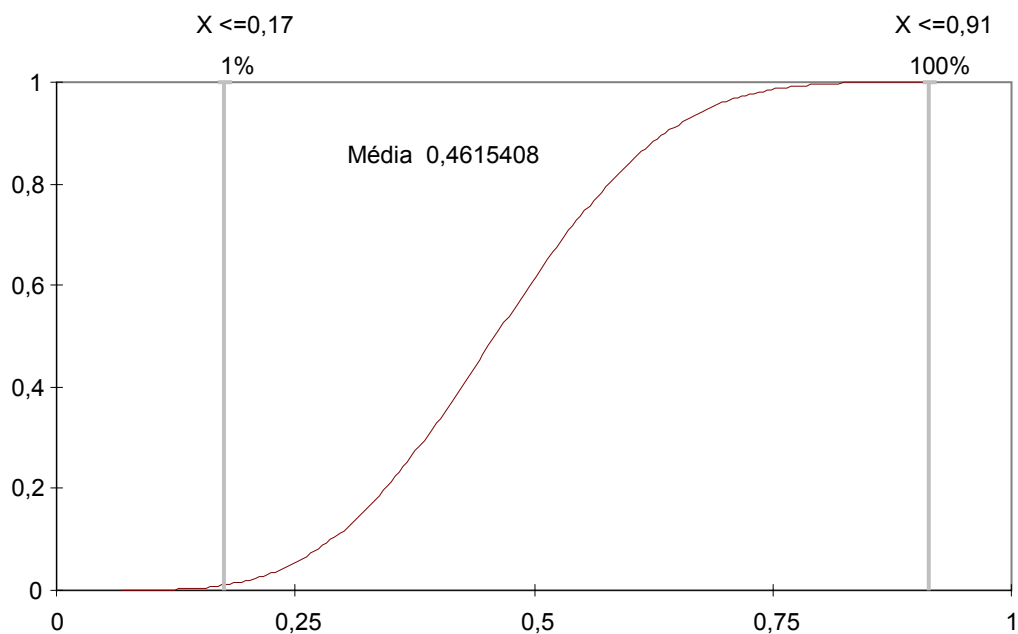


Gráfico 14 - Distribuição da freqüência de *Listeria* spp. em salsichas da indústria 02, no varejo, comercializadas a granel, com 99% de confiança de que no mínimo 17% esteja contaminada.

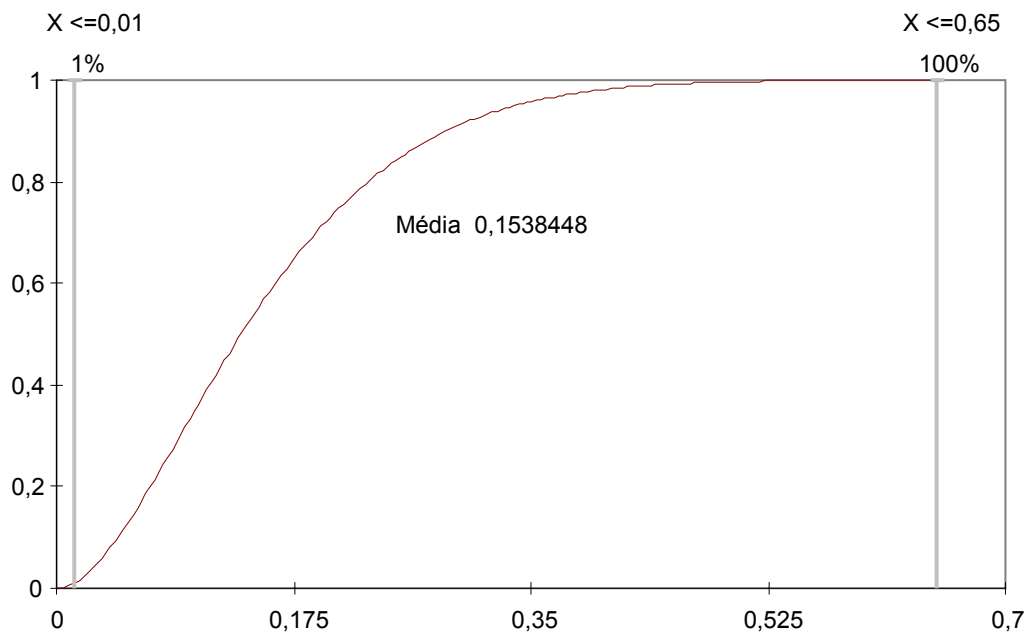


Gráfico 15 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas da indústria 01, no varejo, comercializadas a granel, com 99% de confiança de que no mínimo 1% esteja contaminada.

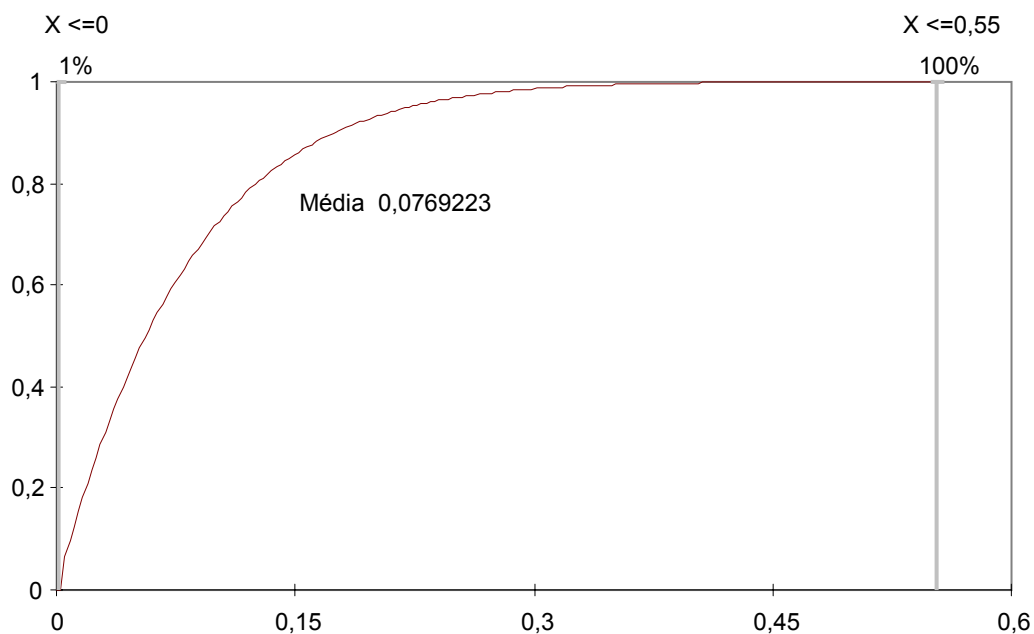
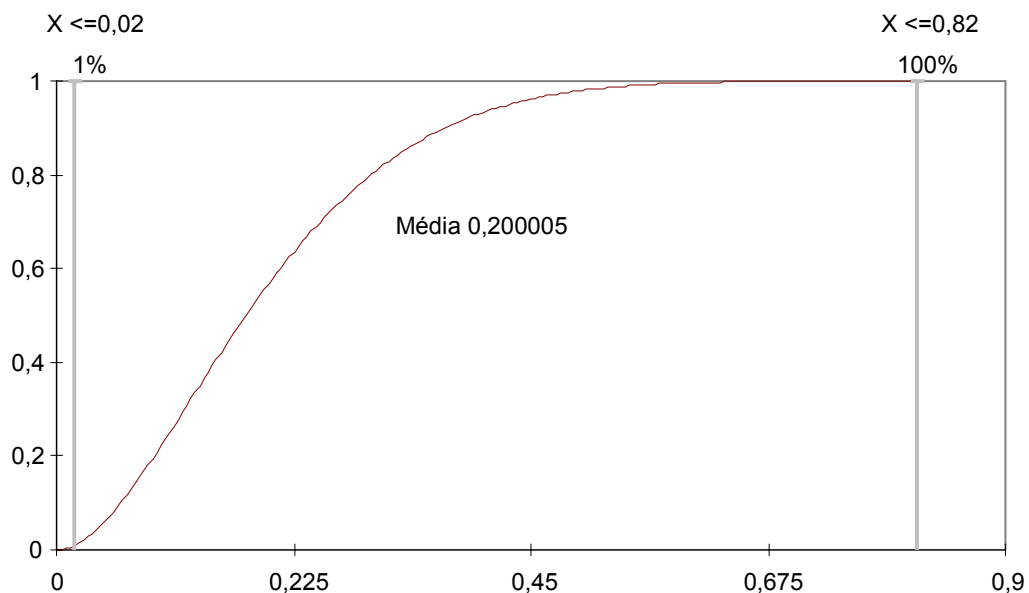
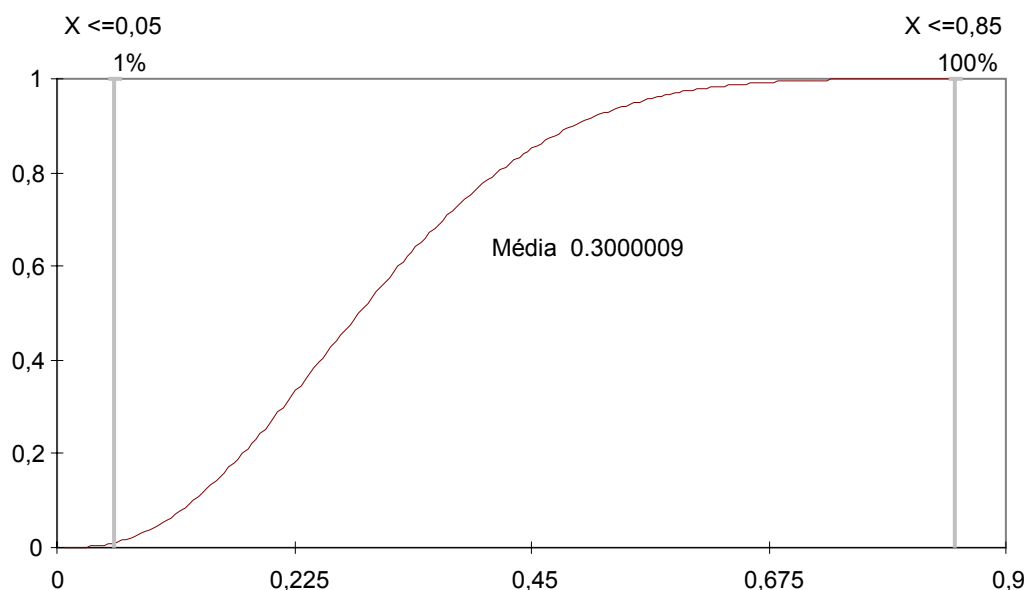


Gráfico 16 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas da indústria 02, no varejo, comercializadas a granel, com 99% de confiança de que em média 7% esteja contaminada.



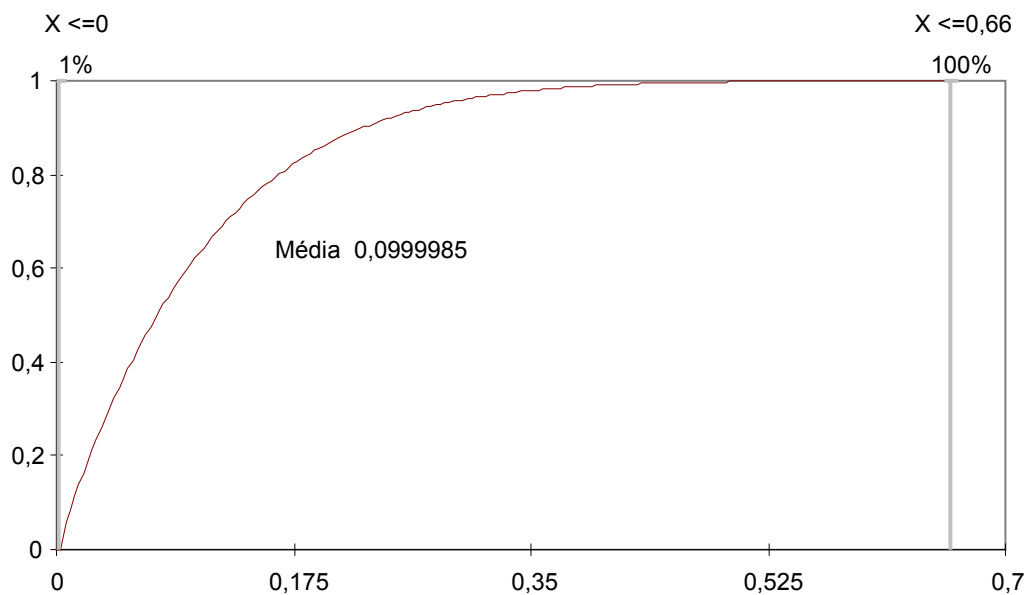


Gráfico 19 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas da indústria 01, no varejo, comercializadas na embalagem original, com 99% de confiança de em média 9% esteja contaminada.

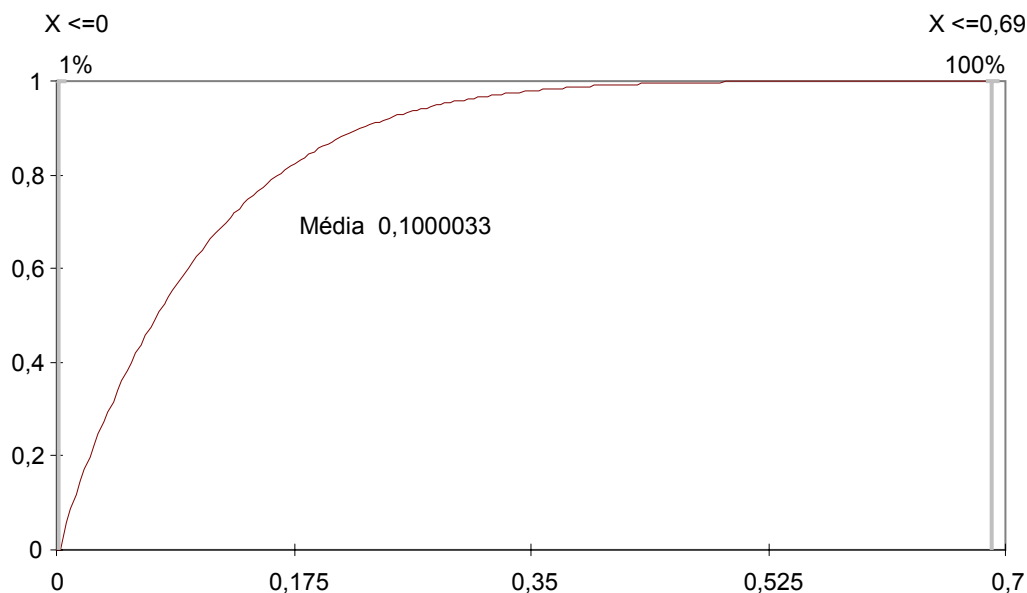


Gráfico 20 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas da indústria 02, no varejo, comercializadas na embalagem original, com 99% de confiança de que em média 10% esteja

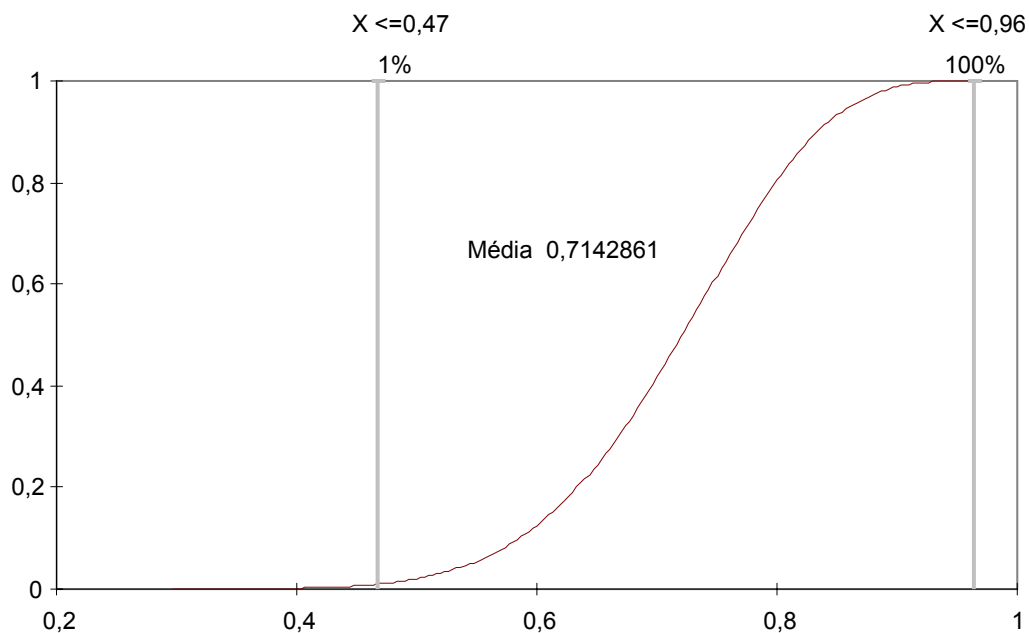


Gráfico 21 - Distribuição da frequência de *Listeria* spp. em salsichas das indústrias 01 e 02, no varejo, comercializadas a granel, com 99% de confiança de que no mínimo 47% esteja contaminada.

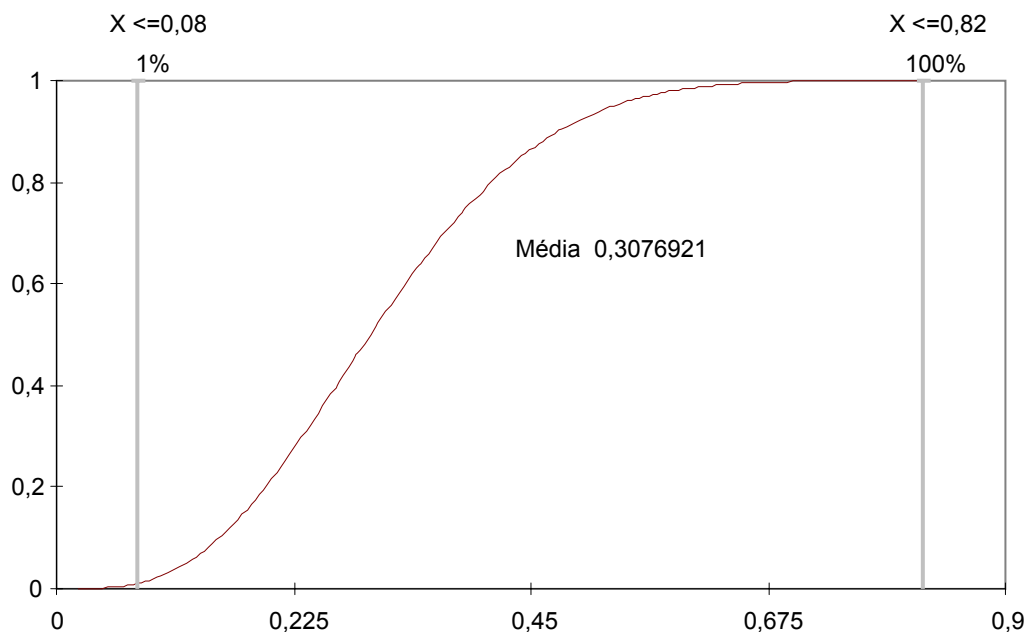


Gráfico 22 - Distribuição da frequência de *Listeria* spp. em salsichas das indústrias 01 e 02, no varejo, comercializadas na embalagem original, com 99% de confiança de que 8% esteja contaminada.

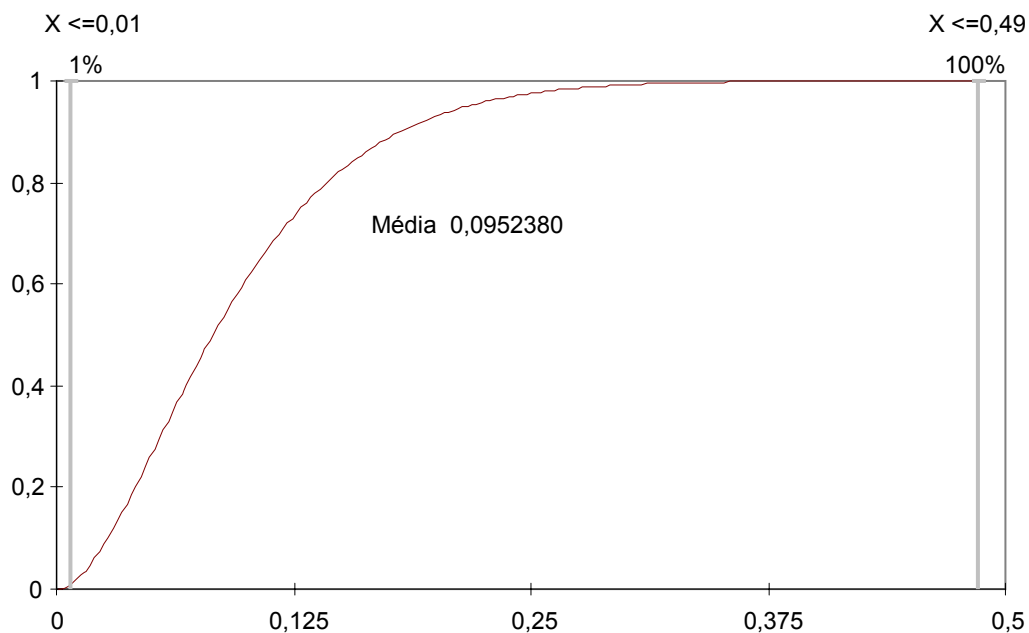


Gráfico 23 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas das indústrias 01 e 02, no varejo, comercializadas a granel, com 99% de confiança de que 1% esteja contaminada.

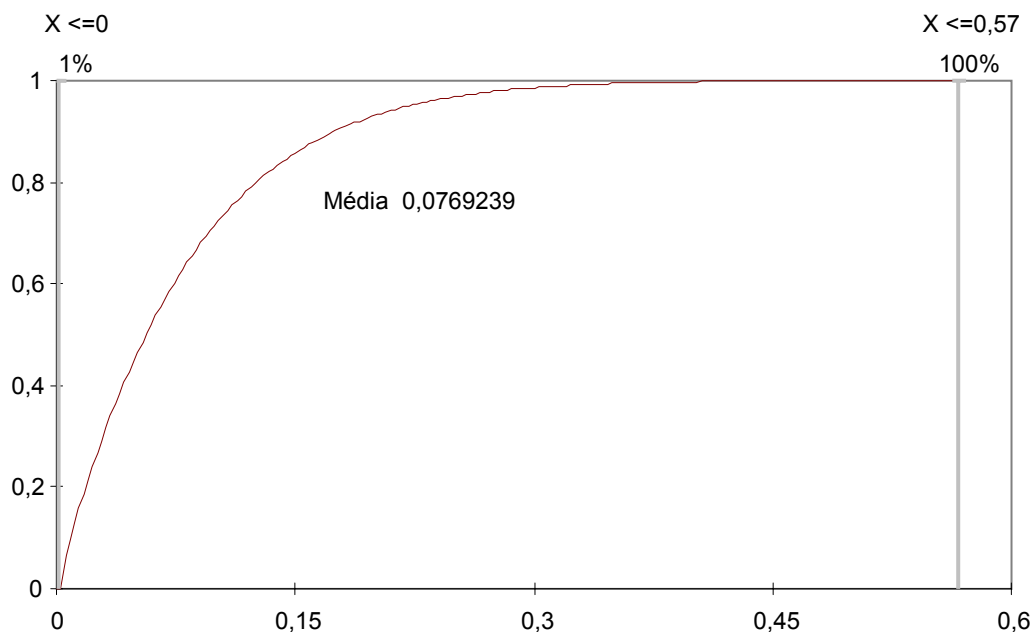


Gráfico 24 - Distribuição da frequência de *L. monocytogenes* em salsichas das indústrias 01 e 02, no varejo, comercializadas na embalagem original, com 99% de confiança de que em média 7% esteja contaminada.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)