

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Mariana Gonçalves Coelho de Azevedo

**AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LINGUIÇAS COMERCIALIZADAS NOS  
MUNICÍPIOS DO RIO DE JANEIRO (RJ) E PORTO ALEGRE (RS)**

Rio de Janeiro

2020

Mariana Gonçalves Coelho de Azevedo

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LINGUIÇAS COMERCIALIZADAS NOS  
MUNICÍPIOS DO RIO DE JANEIRO (RJ) E PORTO ALEGRE (RS)

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Silvia Maria dos Reis Lopes

Preceptora: Valéria de Melo Medeiros

Rio de Janeiro

2020

## Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Azevedo, Mariana Gonçalves Coelho de

Avaliação microbiológica de linguiças comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro (RJ) e Porto Alegre (RS). / Mariana Gonçalves Coelho de Azevedo. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2020.

37 f. : fig.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2020.

Tutora: Silvia Maria dos Reis Lopes.

Preceptor: Valéria de Mello Medeiros.

1. Salmonella. 2. Listeria Monocytogenes. 3. Coliformes. 4. Microbiologia. 5. Controle de Qualidade. I. Título.

Microbiological evaluation of commercialized sausages in the municipalities of Rio de Janeiro (RJ) and Porto Alegre (RS).

Mariana Gonçalves Coelho de Azevedo

AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE LINGUIÇAS COMERCIALIZADAS NOS  
MUNICÍPIOS DO RIO DE JANEIRO (RJ) E PORTO ALEGRE (RS)

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Aprovado em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Fausto Klabund Ferraris (Doutor) - Presidente

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Nathália Gonçalves dos Santos Caldeira (Mestre)

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

---

Catia Aparecida Chaia Miranda (Doutora)

Instituto Oswaldo Cruz

---

Silvia Maria dos Reis Lopes (Mestre)

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a oportunidade de participar deste programa de pós-graduação em uma instituição tão renomada como a Fiocruz.

À minha família por todo o apoio prestado durante toda a minha vida e, principalmente, no período de realização deste trabalho.

Ao meu namorado pelo companheirismo, compreensão e carinho durante o período de desenvolvimento deste trabalho.

A todos os trabalhadores do INCQS que contribuíram para a realização do meu trabalho, em especial os funcionários do Setor de Alimentos do Laboratório de Alimentos e Saneantes, Setor de Meio de Cultura e da Central de Esterilização do Departamento de Microbiologia.

Aos meus colegas de turma da residência pelo companheirismo durante o período do curso, em todas as disciplinas, nas duas Jornadas Científicas que participamos e nos encontros marcados fora da Fiocruz.

Aos professores das disciplinas ministradas durante o curso por todo o conhecimento transmitido e pelo bom relacionamento com a turma.

Aos meus amigos de colégio, faculdade e da vida que me acompanham por todos esses anos e torcem pelo meu sucesso.

## RESUMO

Alimentos contaminados constituem um dos maiores problemas de saúde pública no mundo e provocam redução na produtividade econômica. *Listeria monocytogenes* e *Salmonella* spp são frequentemente listadas como principais agentes etiológicos causadores de Doenças Transmitidas por Alimentos. A enumeração de coliformes a 45°C é comumente utilizada como um indicador de higiene na produção e/ou manipulação de alimentos, uma vez que a espécie *Escherichia coli* é considerada um microrganismo indicador de contaminação fecal. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a qualidade microbiológica de linguiças comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro (RJ) e Porto Alegre (RS). Em parceria com o programa de monitoramento do teor de sódio (PATEN-SÓDIO) do Setor de Elementos Inorgânicos do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), foram recebidas vinte e cinco amostras provenientes das apreensões, sendo 23 do município do Rio de Janeiro e duas do município de Porto Alegre, e cinco amostras foram adquiridas em um mercado varejista do município do Rio de Janeiro. As análises de contagem de coliformes a 45°C e pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* foram realizadas no Setor de Alimentos do Departamento de Microbiologia do INCQS no período de junho a dezembro de 2019. A metodologia seguiu as recomendações do *Bacteriological Analytical Manual/FDA* (BAM) e da *American Public Health Association* (APHA). Para interpretação dos resultados obtidos as amostras foram classificadas de acordo com os critérios do anexo I da Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Os resultados obtidos atenderam aos limites estabelecidos na legislação vigente no período de realização das análises. Dessa forma, todas as amostras encontravam-se com qualidade microbiológica satisfatória, atendendo aos parâmetros estabelecidos na legislação vigente.

Palavras-chave: *Salmonella* spp. *Listeria Monocytogenes*. Coliformes Termotolerantes. Qualidade Microbiológica.

## ABSTRACT

Contaminated food is one of the biggest health problems in the world and causes a reduction in economic productivity. *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp are often listed as the main causative agents of Foodborne Diseases. Enumeration of coliforms at 45°C is commonly used as an indicator of hygiene in food production and / or handling, as *Escherichia coli* is considered a microorganism indicative of fecal contamination. The objective of the present study was to evaluate the microbiological quality of sausages sold in the municipalities of Rio de Janeiro (RJ) and Porto Alegre (RS). In partnership with the sodium content monitoring program (PATEN-SODIUM) of the Inorganic Elements Sector of the Chemistry Department of the National Institute for Quality Control in Health (INCQS), twenty-five samples from the apprehension were received, 23 of which from the city of Rio de Janeiro and two from the city of Porto Alegre, and five samples were acquired in a retail market in the city of Rio de Janeiro. Enumeration of coliform at 45°C and detection of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* were performed at the Food Sector of the Department of Microbiology of INCQS from June to December 2019. The methodology followed the recommendations of the Bacteriological Analytical Manual / FDA and the American Public Health Association (APHA). For the interpretation of the results obtained, the samples were classified according to the criteria in Annex I of the Resolution of the Collegiate Board of Directors nº 12 of January 2<sup>nd</sup>, 2001. The results obtained comply with the limits established in the current legislation. Thus, all samples were found to have satisfactory microbiological quality, meeting the parameters established in current legislation.

Key words: *Salmonella* spp. *Listeria Monocytogenes*. Thermotolerant Coliforms. Microbiological Quality.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C - graus Celsius

APHA - American Public Health Association

BAM - Bacteriological Analytical Manual

BLEB - Buffered Listeria Enrichment Broth

BPF – Boas Práticas de Fabricação

CMS - Carne Mecanicamente Separada

DTA - Doenças Transmitidas por Alimentos

EAggEC - *E. coli* enteroagregativa

EHEC - *E. coli* enterohemorrágica

EIEC - *E. coli* enteroinvasiva

EPEC - *E. coli* enteropatogênica

ETEC - *E. coli* enterotoxigênica

h - hora

HK - ágar Hektoen

IN - Instrução Normativa

INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

g - grama

LIA - ágar lisina ferro

mL - mililitro

OMS - Organização Mundial de Saúde

pH - potencial hidrogeniônico

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

RTIQ - Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade

RV - Rappaport-Vassiliadis

SIE - Serviço de Inspeção Estadual

SIF - Serviço de Inspeção Federal

SIM - Sulfide Indole Motility

STEC - Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*

TSAYe - Tryptone Soya Yeast Extract Agar

TSBye - Tryptic Soy Yeast Extract Broth

TSI - Triple Sugar Iron Agar



UE - União Europeia

UFC - unidade formadora de colônia

VRBA - Violet Red Bile Agar

XLD - ágar xilose lisina desoxicolato

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Etapas da análise para coliformes a 45°C. ....	20
Figura 2 - Colônias características de <i>Salmonella</i> spp. em ágar XLD.....	22
Figura 3 - Colônias características de <i>Salmonella</i> spp. em ágar HK.....	23
Figura 4 - Colônias de coliformes em ágar XLD (A) e em ágar HK (B). ....	23
Figura 5 - Resultados esperados na triagem bioquímica e prova da urease. ....	24
Figura 6 - Resultados positivo e negativo para a prova da catalase. ....	25
Figura 7 - Perfis de atividade hemolítica. ....	26
Figura 8 - Resultado de prova da mobilidade a 25°C com crescimento característico de <i>L. monocytogenes</i> . ....	26

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - subitem “i” do item 5 (carnes e produtos cárneos) do Anexo I da RDC nº 12. .....	27
Quadro 2 - subitem “f” do item 5 (carnes e produtos cárneos) do Anexo I da RDC nº 12. .....	28

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>1.1 Segurança de alimentos</b> .....	11
<b>1.2 Coliformes termotolerantes</b> .....	13
<b>1.3 <i>Listeria monocytogenes</i></b> .....	14
<b>1.4 <i>Salmonella spp.</i></b> .....	15
<b>1.5 Linguiça</b> .....	15
<b>1.6 Justificativa</b> .....	16
<b>2 OBJETIVO</b> .....	17
<b>2.1 Objetivo geral</b> .....	17
<b>2.2 Objetivos específicos</b> .....	17
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	18
<b>3.1 Obtenção das amostras</b> .....	18
<b>3.2 Local e período de realização das análises</b> .....	18
<b>3.3 Processamento das amostras</b> .....	19
<b>3.4 Contagem de coliformes a 45°C</b> .....	19
<b>3.5 Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i></b> .....	20
<b>3.6 Pesquisa de <i>Listeria monocytogenes</i></b> .....	24
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
<b>5 CONCLUSÃO</b> .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Segurança de alimentos

Alimentos contaminados constituem um dos maiores problemas de saúde pública no mundo e provocam redução na produtividade econômica (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2015). Segundo o relatório de 2015 da Organização Mundial de Saúde (OMS), com base em dados de 2010, ocorrem por ano cerca de 600 milhões de casos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) e 420 mil mortes associadas no mundo. Alimentos de origem animal têm sido identificados como os principais veículos de transmissão de patógenos causadores de DTA (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2013).

De acordo com a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 331, de 23 de dezembro de 2019, as DTA são doenças causadas pela ingestão de alimento contaminado por microrganismos patogênicos, toxinas ou seus metabólitos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019).

Em 2017 foram reportados 5.079 surtos de DTA na União Europeia (UE). A zoonose mais comumente encontrada foi a Campilobacteriose. *Salmonella* spp. foi o agente etiológico detectado com mais frequência, sendo a *Salmonella* Enteritidis o agente causador de um em cada sete surtos. *Listeria monocytogenes* foi identificada em 10 surtos de DTA em 2017, afetando 39 pessoas (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2018).

No Brasil a vigilância de surtos de DTA teve início em 1999. No período de 2000 a 2017 foram registrados 12.503 surtos (BRASIL, 2018). Foram registrados 598 surtos em 2017. O agente etiológico mais comum foi a *Escherichia coli* seguido por *Salmonella* spp. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019).

Deve-se levar em consideração que muitas vezes os números de surtos registrados são subestimados. Isso ocorre devido à dificuldade em estabelecer a relação entre a contaminação de determinado alimento com o desenvolvimento de doença, além de muitas vezes os indivíduos acometidos não procurarem atendimento médico, pois os sintomas são brandos e autolimitantes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2015;

DRAEGER et al., 2018). Somado a isso, estudos já constataram que o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmitidas por Alimentos do Brasil não apresenta um bom nível de notificações completas, uma vez que dos 7037 casos registrados entre 2007 e 2018, 77,32% não estavam adequadamente completos (DRAEGER et al., 2018).

A RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004 define as Boas Práticas de Fabricação (BPF) como procedimentos que devem ser adotados por serviços de alimentação a fim de garantir a qualidade higiênico-sanitária e a conformidade dos alimentos com a legislação sanitária (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004). As Boas Práticas de Fabricação (BPF) são fundamentais para prevenir a contaminação dos alimentos durante seu processamento, tanto na cadeia produtiva, como nos estabelecimentos comercializadores.

Para que as BPF sejam implementadas de forma efetiva é preciso realizar a capacitação dos manipuladores de alimentos. Após execução de curso de capacitação em BPF, Devides, Maffei e Catanozi (2014) constataram melhora significativa no nível de conhecimento dos manipuladores que participaram do estudo. Boaventura et al (2017) aplicaram questionário antes e após o treinamento de manipuladores e demonstraram que o nível de conhecimento em determinados assuntos aumentou significativamente, embora o resultado geral do questionário não tenha apresentado incremento estatisticamente significativo.

Muitos microrganismos possuem a capacidade de formar biofilme em superfícies bióticas e abióticas. Os biofilmes são comunidades de bactérias, podendo ser formadas por uma ou mais espécies, que permitem que as mesmas sobrevivam em condições ambientais desfavoráveis (FROZI; ESPER; FRANCO, 2017). Frozi, Esper e Franco (2017) verificaram a capacidade de formação de biofilme em superfície de aço inoxidável de cepas de *E. coli*, *Staphylococcus aureus* e *Salmonella* spp. isoladas de peixe cru e unidades processadoras de pescado. O biofilme aumenta a resistência das células bacterianas e reduz a eficácia do processo de sanitização. Dessa forma, pode se tornar uma fonte de contaminação para os alimentos durante o processamento (FERNANDES; KABUKI; KUAYNE, 2015).

A maioria dos microrganismos é sensível ao calor, sendo eliminados com a correta cocção do alimento. A RDC nº 216 de 15 de setembro de 2004 determina que o tratamento térmico deve assegurar que todas as partes do alimento atinjam a

temperatura de, no mínimo, 70°C. Temperaturas inferiores podem ser utilizadas desde que as combinações de tempo e temperatura sejam suficientes para garantir a qualidade higiênico-sanitária dos alimentos. (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2004). No entanto, se a temperatura ou tempo de cocção não for suficiente, uma porcentagem das bactérias presentes no alimento cru pode permanecer no alimento cozido, representando um risco para os consumidores (LAHOU et al., 2015; ROCCATO et al., 2015). É possível ocorrer a contaminação cruzada ou recontaminação dos alimentos prontos para o consumo. Por exemplo, ao utilizar uma tábua para cortar e preparar frango cru e depois utilizar a mesma tábua para cortar e preparar saladas ou cortar o frango cozido (CHAITIEMWONG, et al., 2014; GOH et al., 2014; SCOLLON; WANG; RYSER, 2016; WANG; RYSER, 2016; DANTAS et al., 2018).

## 1.2 Coliformes termotolerantes

Coliforme é um termo genérico para bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas, em forma de bastonetes, capazes de fermentar a glicose, produzindo ácido e gás. Os coliformes termotolerantes são definidos como coliformes capazes de fermentar a lactose com produção de gás, no período de 48 horas, a 45°C (FORSYTHE, 2013).

A enumeração de coliformes a 45°C é comumente utilizada como um indicador de higiene na produção e/ou manipulação de alimentos, uma vez que a espécie *Escherichia coli* é considerada um microrganismo indicador de contaminação fecal (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Além disso, cepas de *E. coli* podem ser patogênicas, sendo a mais conhecida e estudada a O157:H7 por ocasionar quadro clínico mais grave. As cepas patogênicas de *E. coli* são divididas em grupos, de acordo com os sintomas clínicos e com os mecanismos de patogenicidade. Os grupos são: *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), *E. coli* enterotoxigênica (ETEC), *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroagregativa (EAaggEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) (FORSYTHE, 2013).

Em 2017 foram reportados na UE, 6.073 casos confirmados de infecção por *E. coli* produtora da toxina Shiga (STEC). O sorogrupo de STEC mais encontrado nos casos confirmados foi O157, com 31,9% dos casos (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2018).

### 1.3 *Listeria monocytogenes*

*Listeria monocytogenes* é uma espécie representante do gênero *Listeria*. É uma bactéria Gram-positiva que não forma endosporos, capaz de se multiplicar entre 0 e 42°C, podendo assim apresentar crescimento durante o armazenamento sob refrigeração, diferentemente da maioria dos patógenos alimentares. A espécie *L. monocytogenes* é patogênica para humanos e animais (FORSYTHE, 2013). Com base nos antígenos somático e flagelar é possível classificá-la em 13 sorotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e e três deles (1/2a, 1/2b, 4b) são mais frequentemente observados em casos de listeriose humana (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2012).

Em humanos a infecção por *Listeria* sp ocorre principalmente através da ingestão de alimentos contaminados com o microrganismo. Apresenta duas formas de infecção, invasiva e não invasiva (BORGES et al, 2009). A listeriose não invasiva se caracteriza por ser uma infecção mais branda, podendo ser uma gastroenterite febril ou apresentar sintomas semelhantes a uma gripe (CARRIQUE-MAS et al., 2003; GAHAN; HILL, 2005). A infecção invasiva pode se manifestar como meningite, sepse, infecção corioamniótica e abortamento (GEBRETSADIK et al., 2011). Indivíduos imunocomprometidos, tais como idosos, grávidas, portadores de HIV e pacientes em tratamento com drogas imunossupressoras, são os mais suscetíveis à infecção invasiva (GOULET et al., 2012; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2013).

Em 2017 foram reportados 2.480 casos confirmados de listeriose humana invasiva na UE. A taxa de mortalidade foi de 13.8% entre os 1.633 casos confirmados com desfecho conhecido (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2018).

Algumas cepas de *L. monocytogenes* tem a capacidade de formar biofilme. Em estudo de Laer et al. (2009) foi verificado que a matéria-prima de linguiça mista não apresentou contaminação por *L. monocytogenes*, porém todas as amostras de produto final apresentavam contaminação por este microrganismo, indicando que a contaminação ocorria durante o processamento, possivelmente devido à presença de biofilme na área de produção.



#### 1.4 *Salmonella* spp

O gênero *Salmonella* é composto por apenas duas espécies: *S. enterica* e *S. bongori*. No entanto, são conhecidos 2.579 sorovares distintos (GRIMONT; WEILL, 2007). São bactérias Gram-negativas, anaeróbias facultativas, não formam endósporos e têm forma de bastonetes. Grande parte das infecções humanas por *Salmonella* são associadas à transmissão de origem alimentar a partir de carne e de produtos lácteos (FORSYTHE, 2013). Os sintomas das enterocolites causadas por *Salmonella* são, em geral, inespecíficos, incluindo: diarreia, náusea, dor abdominal, febre e vômitos (FRANCO; LANDGRAF, 2008). Existem cepas de *Salmonella* spp. multidroga resistentes, o que dificulta o tratamento de infecções (LI et al., 2019; SÁNCHEZ-SALAZAR et al., 2019). Já foram descritas cepas de *Salmonella* spp. com capacidade de formação de biofilme em superfícies de aço inoxidável, polipropileno e vidro (MORAES et al., 2018; MORAES et al., 2019).

Em 2017 foram reportados 91.662 casos confirmados de salmonelose humana na UE. *Salmonella* spp. foi o agente etiológico responsável por 1.241 surtos de DTA na UE em 2017, representando 24,4% dos surtos registrados. (EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2018).

#### 1.5 Linguiça

A definição de linguiça dada pelo Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade (RTIQ) de Linguiça é produto cárneo industrializado, obtido de carnes de animais de açougue, adicionados ou não de tecidos adiposos, ingredientes, embutido em envoltório natural ou artificial, e submetido ao processo tecnológico adequado. Pode ser classificada como produto fresco, produto seco, curado e/ou maturado, produto cozido e outros, dependendo da tecnologia empregada na fabricação. (BRASIL, 2000).

O RTIQ de linguiça traz as seguintes definições:

- Linguiça Calabresa: produto obtido exclusivamente de carnes suína, curado, adicionado de ingredientes, devendo ter o sabor picante característico da pimenta

calabresa submetidas ou não ao processo de estufagem ou similar para desidratação e ou cozimento, sendo o processo de defumação opcional.

- Linguiça Portuguesa: produto obtido exclusivamente de carnes suína, curado, adicionado de ingredientes, submetido a ação do calor com defumação. A forma de apresentação consagrada do produto é a de uma "ferradura", e com sabor acentuado de alho.

- Linguiça Toscana: produto cru e curado obtido exclusivamente de carnes suína, adicionada de gordura suína e ingredientes.

- Paio: produto obtido de carnes suína e bovina (máximo de 20%) embutida em tripas natural ou artificial comestível, curado e adicionado de ingredientes, submetida a ação do calor com defumação.

Nas linguiças denominadas Tipo Calabresa, Tipo Portuguesa e Paio, que são submetidas ao processo de cozimento, é permitida a utilização de até 20% de carne mecanicamente separada (CMS). A CMS utilizada poderá ser substituída por carne de diferentes espécies de animais de açougue, até o limite máximo de 20%. O uso de CMS em linguiças frescas é proibido (BRASIL, 2000).

A matéria-prima utilizada para a fabricação de linguiça entra em contato com vários equipamentos (moedor de carne, misturador de ingredientes, embutideira) que, se não forem bem higienizados e sanitizados, podem funcionar como fonte de contaminação do produto (LAER et al, 2009).

## **1.6 Justificativa**

Considerando as características dos microrganismos estudados e sua relevância em saúde pública nota-se a importância do controle da qualidade microbiológica de alimentos.

Tendo em vista que linguiças são comumente consumidas em churrascos, onde a temperatura no interior do alimento não alcança os níveis considerados seguros, é importante que o controle microbiológico do produto seja rígido para que não represente um risco à saúde dos consumidores.

Assim, o presente trabalho poderá contribuir como fonte de dados para a Vigilância Sanitária e para estudos futuros.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a qualidade microbiológica de linguiças comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro (RJ) e Porto Alegre (RS).

### **2.2 Objetivos específicos**

- Enumerar os coliformes termotolerantes;
- Pesquisar a presença de *Salmonella* spp.;
- Pesquisar a presença de *L. monocytogenes*;
- Avaliar os resultados obtidos em relação à legislação vigente.

### **3 METODOLOGIA**

#### **3.1 Obtenção das amostras**

Em parceria com o programa de monitoramento do teor de sódio (PATEN-SÓDIO) do Setor de Elementos Inorgânicos do Departamento de Química do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), foram recebidas vinte e cinco amostras indicativas provenientes das apreensões, sendo 23 do município do Rio de Janeiro e duas do município de Porto Alegre, e cinco amostras indicativas foram adquiridas em um mercado varejista do município do Rio de Janeiro.

Todas as amostras possuíam algum tipo de Serviço de Inspeção, fosse ele Estadual (SIE) ou Federal (SIF). As amostras pertenciam a 12 marcas diferentes, sendo uma amostra da marca A, uma amostra da marca B, uma amostra da marca C, duas amostras da marca D, duas amostras da marca E, duas amostras da marca F, duas amostras da marca G, duas amostras da marca H, três amostras da marca I, quatro amostras da marca J, cinco amostras da marca K e cinco amostras da marca L. Todas as amostras foram de lotes diferentes. Oito amostras foram de linguiças frescas e 22 amostras foram de linguiças semidefumadas, fumadas e/ou cozidas.

Dentre os tipos de linguiças analisadas estão: paio (2), tipo calabresa (4), portuguesa (1), tipo portuguesa (3), toscana (4), linguiça de frango (1), linguiça de frango fumada (3), linguiça de pernil com ervas finas (1), linguiça mista cozida e fumada (3), linguiça de carne suína semidefumada (5), linguiça de carne suína (1), linguiça com pimenta biquinho (1) e linguiça tipo calabresa frescal apimentada (1).

#### **3.2 Local e período de realização das análises**

As análises de contagem de coliformes a 45°C, pesquisa de *Salmonella* spp. e *Listeria monocytogenes* foram realizadas no Setor de Alimentos do Laboratório de Alimentos e Saneantes do Departamento de Microbiologia do INCQS no período de junho a dezembro de 2019.

### 3.3 Processamento das amostras

As embalagens das amostras foram higienizadas com álcool 70% antes de serem abertas. A abertura das embalagens foi feita com tesoura estéril. As amostras foram pesadas em placas de Petri estéreis, utilizando pinças e tesouras estéreis para fracionamento das amostras. Todas as análises foram realizadas em cabine de segurança bacteriológica do tipo II.

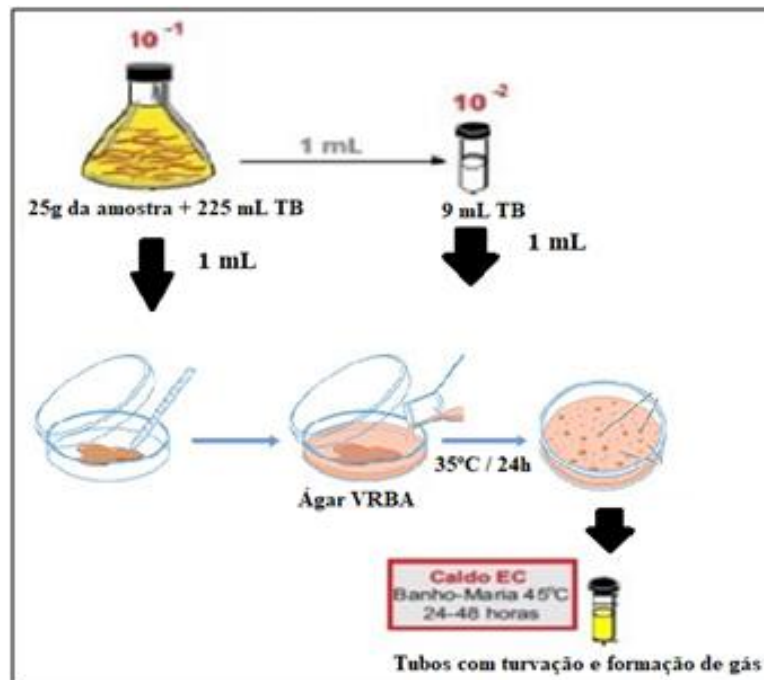
### 3.4 Contagem de coliformes a 45°C

A contagem de coliformes a 45°C obedeceu a metodologia de contagem em placas proposta por Kornacki e Johnson (2001).

Para o preparo do homogenato foram pesados asepticamente, aproximadamente, 25g de cada amostra, homogeneizados em 225mL de tampão de Butterfield, formulado no Setor de Meio de Cultura, obtendo-se a diluição  $10^{-1}$ . A obtenção da diluição  $10^{-2}$  se deu através da transferência de 1mL da diluição  $10^{-1}$  para tubo de ensaio contendo 9mL de tampão de Butterfield.

A análise de cada amostra foi realizada semeando alíquotas de 1 mL de cada diluição, em duplicata, em placa de Petri estéril e vertendo o meio ágar cristal violeta vermelho neutro bile (VRBA), da marca Difco, para o ensaio presuntivo. O meio e o inóculo foram homogeneizados através de movimentos circulares no sentido horário e anti-horário. Após a solidificação do meio foram adicionados mais 5 mL do meio VRBA, formando uma sobrecamada. As placas foram incubadas em estufa a  $35 \pm 2$  °C por 24h. Foram utilizadas no controle desta etapa cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *E. coli* INCQS 0033 (ATCC 25922) e *S. aureus* INCQS 0015 (ATCC 25923). A Figura 1 ilustra as etapas da análise.

Figura 1 - Etapas da análise para coliformes a 45°C.



Fonte: Adaptado do relatório de estágio supervisionado “Controle de qualidade de alimentos e água no laboratório de prestação de serviços da UTFPR”, 2014 e <https://s-media-cache-ak0.pinimg.com/736x/3b/5e/4d/3b5e4d6c72d43f66998ab4cabb37e12c.jpg>.

Quando houve crescimento de colônias características, vermelho-violeta com diâmetro maior ou igual a 0,5mm com halo de precipitação de sais biliares, estas foram selecionadas para o ensaio confirmatório para coliformes a 45°C em tubos contendo 10mL de caldo *Escherichia coli* (EC), da marca Difco, que foram incubados em banho-termostático com sistema de circulação de água a  $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$  por até 48h. Para o controle desta etapa foram utilizadas cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *E. coli* INCQS 0033 (ATCC 25922) e *Pseudomonas aeruginosa* INCQS 0099 (ATCC 27853).

### 3.5 Pesquisa de *Salmonella* spp.

A pesquisa de *Salmonella* spp. seguiu a metodologia de enriquecimento seletivo descrita por Andrews, Jacobson e Hammack (2011) em cinco etapas, são elas: pré-enriquecimento, enriquecimento seletivo, plaqueamento seletivo, triagem bioquímica e sorologia polivalente.

Para a etapa de pré-enriquecimento foram pesados assepticamente, aproximadamente, 25g de cada amostra, homogeneizados em 225mL de caldo

lactosado, da marca IonLab. O meio de enriquecimento com a amostra permaneceu em temperatura ambiente por uma hora. Após esse período foi verificado o pH com auxílio de fita indicadora de pH. O ajuste de pH para  $6,8 \pm 0,2$  foi feito utilizando solução de hidróxido de sódio 1N e/ou ácido clorídrico 1N estéril, quando necessário. Após o ajuste de pH foi realizada a incubação a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h.

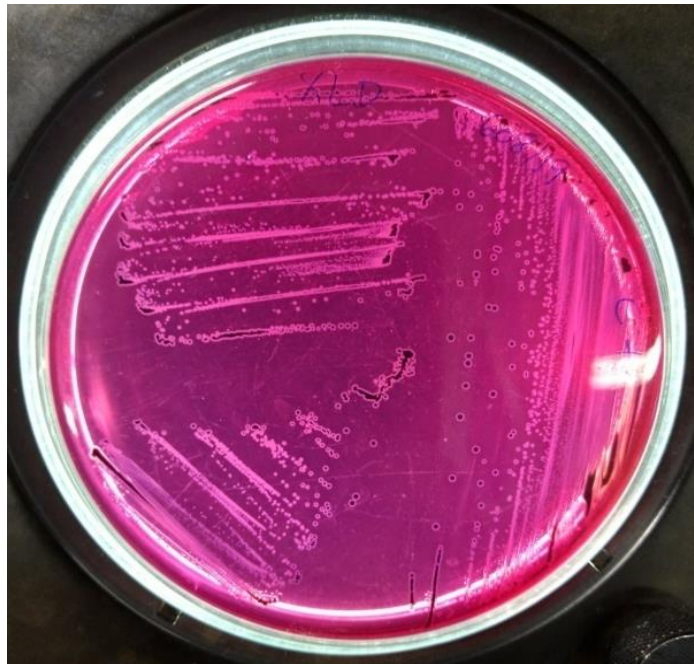
A etapa de enriquecimento seletivo se deu através da semeadura de alíquotas de 0,1mL do pré-enriquecimento para tubo de ensaio contendo 10mL caldo Rappaport-Vassiliadis (RV), da marca Merk, e 1,0mL do pré-enriquecimento para tubo de ensaio contendo 10mL de caldo tetrionato, da marca Neogen, com posterior homogeneização em agitador tipo “vortex”. No momento de utilização do caldo tetrionato, antes da semeadura do inóculo, foram adicionados ao meio 0,1mL de solução de verde brilhante a 0,1% e 0,2mL de solução de iodo-iodeto de potássio. A incubação do meio RV foi feita a  $42 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h e do meio tetrionato, por ser esperada baixa carga microbiana, a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h.

O plaqueamento seletivo foi realizado através do esgotamento de uma alçada de cada meio do enriquecimento seletivo em placas previamente envasadas de meio ágar xilose lisina desoxicolato (XLD), da marca IonLab, e ágar entérico Hektoen (HK), da marca Difco. Estas placas foram incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h. Colônias características de *Salmonella* spp. no ágar XLD são vermelhas transparentes, com ou sem centro negro brilhoso, ou totalmente negras e brilhosas (Figura 1A). Colônias características de *Salmonella* spp. no ágar HK são verde-azuladas ou azuis, com ou sem centro negro brilhoso ou totalmente negras e brilhosas (Figura 1B). Na ausência de colônias características, algumas colônias amarelas, com ou sem centro negro, foram selecionadas para triagem bioquímica devido à possibilidade da ocorrência de colônias atípicas. Foram utilizadas no controle desta etapa cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *S. Typhimurium* INCQS 150 (ATCC 14028) (controle positivo), *E. coli* INCQS 0033 (ATCC 25922) (controle negativo de indicação), e *S. aureus* INCQS 0015 (ATCC 25923) (controle negativo de seleção).

As colônias suspeitas foram semeadas em ágar nutriente e submetidas à triagem bioquímica e prova da urease. A triagem bioquímica foi feita em ágar tríplice açúcar ferro (TSI) inclinado, da marca BD, e ágar lisina ferro (LIA), da marca Neogen, inclinado e a prova da urease em ágar ureia, da marca Isofar, inclinado incubados a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24h. No meio TSI colônias de *Salmonella* spp. apresentam resultado com superfície inclinada

alcalina (vermelha) e base ácida (amarela), com ou sem produção de H<sub>2</sub>S (escurecimento do meio). No meio LIA colônias de *Salmonella* spp. apresentam reação alcalina (roxo) na base e na superfície inclinada do tubo com ou sem produção de H<sub>2</sub>S (escurecimento do meio). Na prova da urease colônias de *Salmonella* spp. não causam modificação na coloração do meio, pois são urease negativas. *Proteus vulgaris* é urease positiva, alterando a cor do meio para rosa intenso. Foram utilizadas no controle desta etapa, cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *S. Typhimurium* INCQS 150 (ATCC 14028) (controle positivo dos meios TSI e LIA e negativo da prova da urease), *E. coli* INCQS 0033 (ATCC 25922) (controle negativo dos meios TSI e LIA) e *Proteus vulgaris* INCQS 106 (ATCC 13315) (controle positivo da prova da urease).

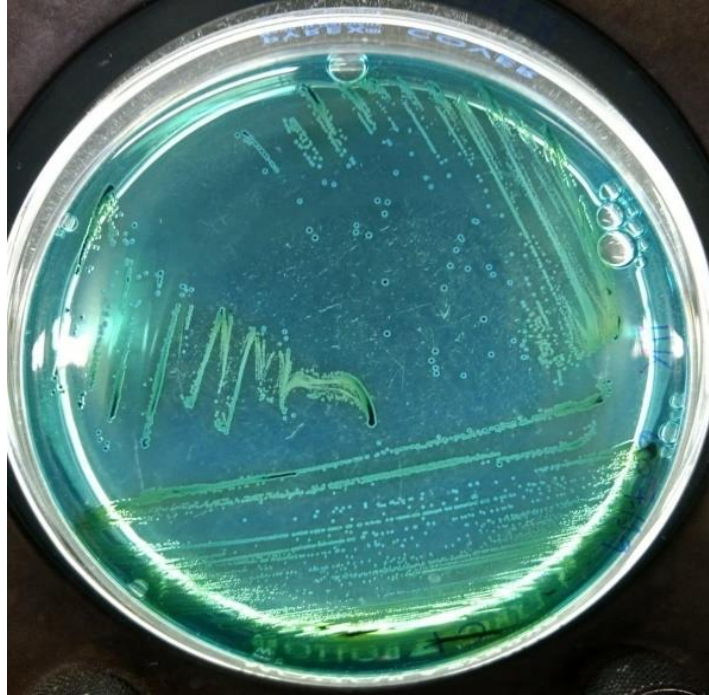
Figura 2 - Colônias características de *Salmonella* spp. em ágar XLD.



Fonte: Do autor, 2019.

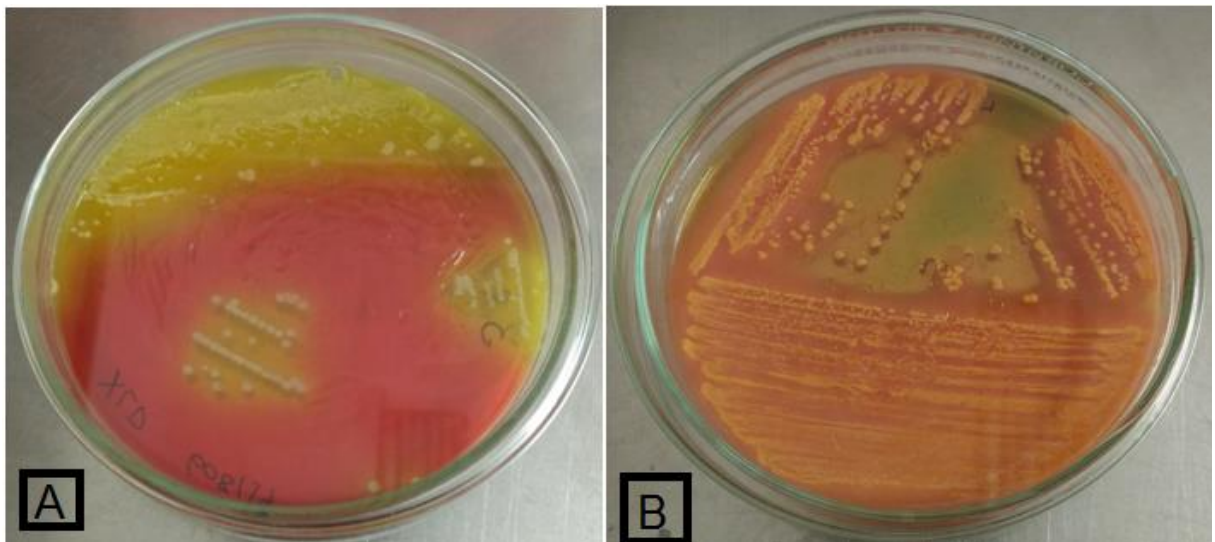


Figura 3 - Colônias características de *Salmonella* spp. em ágar HK.



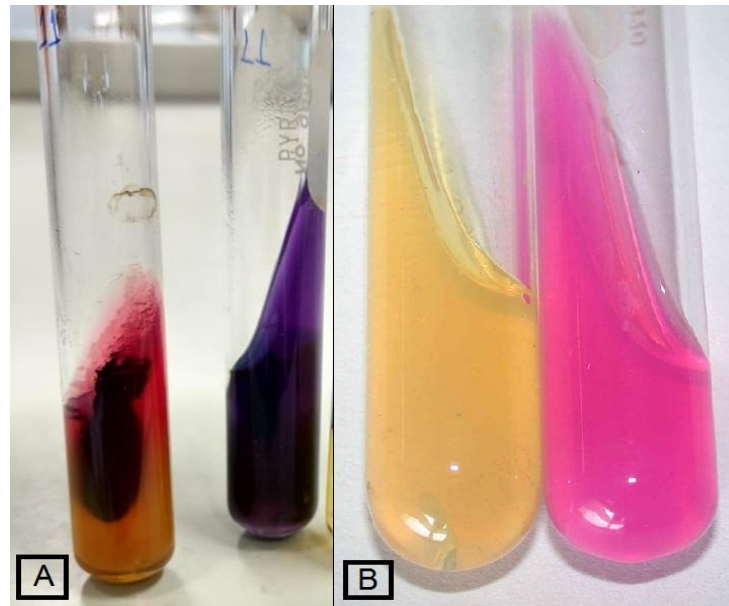
Fonte: Do autor, 2019.

Figura 4 - Colônias de coliformes em ágar XLD (A) e em ágar HK (B).



Fonte: Do autor, 2019.

Figura 5 - Resultados esperados na triagem bioquímica e prova da urease.



A) Reação de colônias características de *Salmonella* spp. em ágar TSI, LIA. B) Reação de colônias características de *Salmonella* spp. (tubo à esquerda) e *P. vulgaris* (tubo à direita) em ágar ureia.  
 Fonte: A) Do autor, 2019. B) <http://microbesinfo.com/2013/05/urea-hydrolysis-urease-test-christensens-method/>.

### 3.6 Pesquisa de *Listeria monocytogenes*

A pesquisa de *Listeria monocytogenes* foi realizada de acordo com a metodologia de enriquecimento seletivo descrita por Ryser e Donnelly (2001).

Para o preparo do homogenato para o enriquecimento seletivo foram pesados assepticamente, aproximadamente, 25g de cada amostra, homogeneizados em 225mL de caldo de enriquecimento tamponado para *Listeria* (BLEB), formulado no Setor de Meio de Cultura, sem os agentes seletivos. O homogenato foi incubado a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  por quatro horas, em seguida foram adicionados os três agentes seletivos, são eles: solução de ácido nalidíxico a 0,5% p/v, solução de acriflavina a 0,5% p/v e solução de cicloheximida a 1% p/v. Após a adição dos agentes seletivos o meio foi incubado a  $30 \pm 2^\circ\text{C}$  até completar 48h. Foram utilizadas no controle desta etapa, cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *L. monocytogenes* INCQS 266 (ATCC 7644) e *E. coli* INCQS 0033 (ATCC 25922).

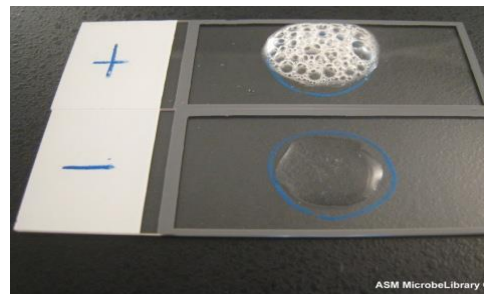
Após a incubação, o homogenato foi semeado por esgotamento em placa de ágar cromogênico para *Listeria*, da marca Oxoid. As placas foram incubadas a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  por 24 a 48h. Foram utilizadas no controle desta etapa, cepas da Coleção de Bactérias de

Referência em Vigilância Sanitária de *L. monocytogenes* INCQS 266 (ATCC 7644) e de *Enterococcus faecalis* INCQS 0017 (ATCC 4083).

Quando houve crescimento de colônias características, verdes com ou sem halo branco, foram selecionadas pelo menos três delas para realização dos ensaios presuntivos para identificação de *L. monocytogenes*. As colônias selecionadas foram semeadas em tubo inclinado de ágar tripticaseína de soja, da marca IonLab, contendo 0,6% de extrato de levedura, da marca Bacto, (TSAye) e tubo de caldo tripticaseína de soja, da marca Merk, contendo 0,6% de extrato de levedura (TSBye).

O ensaio presuntivo é composto pela prova da catalase (Figura 7) e características morfotintoriais. *Listeria monocytogenes* produz a enzima catalase, apresentando formação de bolhas na presença do peróxido de oxigênio, e são bacilos Gram positivos curtos, podendo apresentar forma cocoide. Para o controle desta etapa foram utilizadas cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *L. monocytogenes* INCQS 266 (ATCC 7644) (controle positivo da prova da catalase e da coloração de Gram) e de *Enterococcus faecalis* INCQS 0017 (ATCC 4083) (controle negativo da prova da catalase).

Figura 6 - Resultados positivo e negativo para a prova da catalase.



Fonte: REINER, 2010.

As provas confirmatórias para identificação de *L. monocytogenes* são: prova da utilização de carboidratos, prova da mobilidade e prova de atividade hemolítica. Todas as bactérias do gênero *Listeria* utilizam a glicose, maltose e esculina, *L. monocytogenes* utiliza a ramnose e não utiliza o manitol e a xilose. A utilização do carboidrato é verificada pela alteração da coloração do caldo púrpura de bromocresol, da marca Difco, de roxa para amarela devido à acidificação do pH. Bactérias do gênero *Listeria* são móveis a 25°C, com mobilidade característica em forma de guarda chuva (Figura 3), verificada no meio semissólido para motilidade (SIM) da marca BD. Quanto à atividade hemolítica, avaliada em ágar sangue da marca Isofar, *L. monocytogenes* apresenta reação fraca, *L.*

*ivanovii* apresenta reação forte e *L. innocua* não apresenta atividade hemolítica (Figura 8). Para controle da prova da utilização dos carboidratos e de atividade hemolítica foram usadas cepas da Coleção de Bactérias de Referência em Vigilância Sanitária de *L. monocytogenes* INCQS 266 (ATCC 7644), *L. innocua* 354 (ATCC 33090), e *L. ivanovii* INCQS 355 (ATCC 19119). Para o controle da prova da mobilidade foram usadas cepas de referência de *L. monocytogenes* INCQS 266 (ATCC 7644) (controle positivo) e de *Klebsiella pneumoniae* subsp. *Pneumoniae* (CT) INCQS 147 (ATCC 13883) (controle negativo).

Figura 7 - Perfis de atividade hemolítica.



α equivale a reação fraca, β equivale a reação forte e γ indica a não reação de hemólise.  
Fonte: BUXTON, 2005.

Figura 8 - Resultado de prova da mobilidade a 25°C com crescimento característico de *L. monocytogenes*.



Fonte: Do autor, 2019.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período de realização das análises a legislação vigente para padrões microbiológicos em alimentos era a RDC nº 12 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001). A RDC nº 331 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019), que revoga a RDC nº 12 de 2001, e a IN nº 60 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2019) foram publicadas no Diário Oficial da União em 26 de dezembro de 2019 e entram em vigor no prazo de 12 meses da data de publicação. Portanto, os resultados obtidos foram interpretados com base nos padrões estabelecidos na RDC nº 12 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001).

Para interpretação dos resultados as amostras de linguiças cozidas e/ou defumadas foram enquadradas no subitem “i” do item 5 (carnes e produtos cárneos) do Anexo I da RDC nº 12 (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001). Os parâmetros preconizados para as análises realizadas, em amostras indicativas, são ausência de *Salmonella* spp. em 25g e  $10^3$  UFC/g para coliformes termotolerantes (Quadro 1).

Quadro 1 - subitem “i” do item 5 (carnes e produtos cárneos) do Anexo I da RDC nº 12

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
i) produtos cárneos cozidos ou não, embutidos ou não (mortadela, salsicha, presunto, fiambre, morcela e outros); produtos a base de sangue e derivados, processados	Coliformes a 45°C/g	$10^3$	5	2	$10^2$	$10^3$
	Estaf.coag.positiva/g	$3 \times 10^3$	5	1	$10^2$	$3 \times 10^3$
	C. sulfito redutor a 46°C	$5 \times 10^2$	5	1	$10^2$	$5 \times 10^2$
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-

Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001.

Para interpretação dos resultados as amostras de linguiças frescas (toscano, linguiça tipo calabresa frescal apimentada e linguiça de frango) foram enquadradas no



subitem “f” dentro do item 5 da RDC nº 12 (Quadro 2). Os padrões definidos para as análises realizadas, em amostras indicativas, são ausência de *Salmonella* spp. em 25g e  $5 \times 10^3$  UFC/g para coliformes termotolerantes.

Quadro 2 - subitem “f” do item 5 (carnes e produtos cárneos) do Anexo I da RDC nº 12

GRUPO DE ALIMENTOS	MICROORGANISMO	Tolerância para Amostra INDICATIVA	Tolerância para Amostra Representativa			
			n	c	m	M
f) produtos cárneos crus, refrigerados ou congelados (hamburgueses, almôndegas, quibe e similares); produtos a base de sangue e derivados "in natura"; embutidos frescos (linguiças cruas e similares)	Coliformes a 45°C/g	$5 \times 10^3$	5	3	$5 \times 10^2$	$5 \times 10^3$
	Estaf.coag.positiva/g	$5 \times 10^3$	5	2	$10^3$	$5 \times 10^3$
	C. sulfito redutor a 46°C/g	$3 \times 10^3$	5	2	$5 \times 10^2$	$3 \times 10^3$
	Salmonella sp/25g	Aus	5	0	Aus	-

Fonte: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2001.

A enumeração dos coliformes termotolerantes é utilizada em alimentos como forma de verificar a qualidade higiênico-sanitária dos produtos. No presente estudo observou-se resultado  $<10$  UFC/g em todas as amostras. Estes resultados diferem dos encontrados por Souza et al (2014), no qual na análise de 20 amostras de linguiças frescas produzidas artesanalmente e 20 amostras de linguiças frescas inspecionadas dos municípios de Cascavel e Toledo (PR) encontraram 80% (16 amostras) das linguiças artesanais e 25% (cinco amostras) das linguiças inspecionadas em desacordo com este parâmetro da legislação. Cavalin et al (2018) não enumeraram os coliformes termotolerantes, mas realizaram a pesquisa de *E. coli*, que é um representante deste grupo, em 46 amostras de linguiças frescas do município de Londrina (PR) e detectaram a presença desta bactéria em 33 amostras (71.3%).

A *Salmonella* spp. é um importante patógeno causador de DTA, estando envolvido em inúmeros surtos em todo o mundo. Todas as amostras deste estudo apresentaram ausência deste microrganismo. Os resultados encontrados divergem dos observados por

outros autores, como Valiatti et al (2016), ao analisarem 30 amostras de linguiças tipo frescal do município de Ji-Paraná (RO) encontraram 20% (6 amostras) com presença de *Salmonella* spp. em 25g. Em estudo com 46 amostras de linguiças frescas Cavalin et al (2018) detectaram presença de *Salmonella* spp. em 13 amostras (28.3%). Trimoulinard et al. (2017) ao analisarem 203 amostras de linguiças de frango e de porco da Ilha da Reunião (África) encontraram presença de *Salmonella* spp. em 24 amostras (11,8%) e observaram que linguiças de porco estavam mais contaminadas por este microrganismo do que as de frango.

A legislação vigente não estabelece padrão para *L. monocytogenes* no tipo de produto avaliado neste estudo. No entanto, devido à sua importância clínica considerou-se válido verificar sua presença nas amostras estudadas. Todas as amostras apresentaram ausência deste patógeno. Resultados similares foram encontrados por Valiatti et al. (2016) que também encontraram ausência de *L. monocytogenes* nas 30 amostras de linguiça tipo frescal analisadas. Resultados diferentes foram observados por Trimoulinard et al. (2017) ao analisarem 203 amostras de linguiças de frango e de porco, encontrando presença de *L. monocytogenes* em 12 amostras (5,9%). Além disso, os autores constataram que as linguiças não defumadas em geral encontravam-se mais contaminadas por este patógeno do que as defumadas.

Estudos mostram que diversos condimentos podem apresentar atividade inibitória do crescimento microbiano. Alguns exemplos são: cúrcuma, pimenta preta, pimenta vermelha, tomilho, páprica, sábio e orégano (ZARRINGHALAM et al., 2013; AHMAD; ABBASI; FAZAL, 2016; IRSHAD et al., 2018; SAKAI; TSUCHIDO; FURUTA, 2018). Esse fator pode estar relacionado com os resultados encontrados no presente estudo uma vez que todas as amostras analisadas apresentavam condimentos em suas formulações. Além disso, por serem produtos industrializados são pouco manipulados, estando menos sujeitos à contaminação quando os procedimentos de limpeza e sanitização são seguidos adequadamente.

O processo de sanitização dos equipamentos é uma importante etapa das BPF na prevenção da contaminação do alimento. Frozi, Esper e Franco (2017) avaliaram o processo de sanitização em biofilmes produzidos por cepas de *E. coli*, *S. aureus* e *Salmonella* spp., em superfície de aço inoxidável, utilizando solução de hipoclorito em concentração de 200 ppm por 10 minutos e não foi observado crescimento após o procedimento de sanitização.

É sabido que o processo de defumação tem efeitos antimicrobianos nos alimentos, sendo usado como método de preservação por séculos. Com o desenvolvimento de novas tecnologias, surgiu a fumaça líquida que é amplamente utilizada na fabricação de produtos defumados na atualidade. Este método de defumação também tem propriedades antimicrobianas nos alimentos, embora menos eficazes do que a defumação a quente (BHUYAN et al., 2018). Estudo de Soares et al (2016) demonstrou que a fumaça líquida teve efeito inibitório em cepas de *E. coli*, *Salmonella Choleraesuis*, *S. aureus* e *L. monocytogenes*. As amostras de linguiças defumadas analisadas neste estudo continham fumaça líquida em sua composição. Este pode ser outro fator determinante para os resultados encontrados.



## **5 CONCLUSÃO**

Não foram encontrados os microrganismos pesquisados nas amostras de linguiças comercializadas nos municípios do Rio de Janeiro e Porto Alegre. Portanto, todas as amostras encontram-se com qualidade microbiológica satisfatória, atendendo aos parâmetros estabelecidos na legislação vigente.

Destaca-se a importância da realização de outros estudos, com maior número de amostras, a fim de comprovar os resultados observados e verificar também se os novos padrões microbiológicos serão atendidos.

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Instrução Normativa nº 60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019. Seção 1, p. 133.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 de 02 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico Sobre Padrões Microbiológicos Para Alimentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Poder Executivo, Brasília, DF, 10 de janeiro de 2001. Seção 1, p.45.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada nº 216 de 15 de setembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Poder Executivo, Brasília, DF, 16 de setembro de 2004. Seção 1, p. 25.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Resolução da Diretoria Colegiada nº 331 de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 26 de dezembro de 2019. Seção 1, p. 96.
- AHMAD, N.; ABBASI, B. H.; FAZAL, H. Effect of different in vitro culture extracts of black pepper (*Piper nigrum* L.) on toxic metabolites-producing strains. **Toxicology and Industrial Health**, v. 32, n. 3, p. 500–506, 2016.
- ANDREWS, W. H.; JACOBSON, A.; HAMMACK, T. *Salmonella*. In: FDA. **Bacteriological analytical manual**. FDA, 2011. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070149.htm>. Acesso em: 22 jul. 2019.
- BHUYAN, D. *et al.* Effect of different smoking methods on the quality of pork sausages. **Veterinary World**, v. 11, n. 12, p. 1712-1719, 2018.
- BOAVENTURA, L. T. A. *et al.* Conhecimento de Manipuladores de Alimentos sobre Higiene Pessoal e Boas Práticas na Produção de Alimentos. **Revista Univap**, São José dos Campos, SP, v. 23, n. 43, dez. 2017.
- BORGES, M. F. *et al.* **Listeria monocytogenes em leite e produtos lácteos**. Brasília: Embrapa Agroindústria Tropical, 2009. 31 p. (Documentos 119).
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. 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 Linguiça e de Salsicha. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 05 de abril de 2000. Seção 1, p. 6.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil**. 2018. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/janeiro/17/Apresentacao-Surtos-DTA-2018.pdf>. Acesso em: 23 jul. 2018.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. **Surtos de doenças transmitidas por alimentos no Brasil Informe 2018**. 2019. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/fevereiro/15/Apresenta----o-Surtos-DTA---Fevereiro-2019.pdf>. Acesso em: 06 jan. 2020.

BUXTON, R. Blood agar plates and hemolysis protocols. **American Society for Microbiology**, 2005.

CARRIQUE-MAS, J. J. *et al.* Febrile gastroenteritis after eating on-farm manufactured fresh cheese – an outbreak of listeriosis? **Epidemiology and Infection**, London, v. 130, n.1, p. 79-86, feb. 2003.

CAVALIN, P. B. B. *et al.* Detection of *Salmonella* spp. and diarrheagenic *Escherichia coli* in fresh pork sausages. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 4, p. 1533-1546, jul./ago. 2018

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Vital signs: Listeria illnesses, deaths, and outbreaks – United States, 2009–2011. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 62, p. 448–452, 2013.

CHAITIEMWONG, M. *et al.* Quantification of transfer of *Listeria monocytogenes* between cooked ham and slicing machine surfaces. **Food Control**, v. 44, p. 117-184, 2014.

DANTAS, S. T. A. *et al.* Cross-Contamination and Biofilm Formation by *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis on Various Cutting Boards. **Foodborne Pathogens And Disease**, v. 15, n. 2, 2018.

DEVIDES, G. G. G.; MAFFEI, D. F.; CATANOZI, M. P. L. M. Perfil socioeconômico e profissional de manipuladores de alimentos e o impacto positivo de um curso de capacitação em Boas Práticas de Fabricação. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 17, n. 2, p. 166-176, abr./jun. 2014

DRAEGER, C. L. *et al.* Epidemiological surveillance system on foodborne diseases in Brazil after 10-years of its implementation: completeness evaluation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, p. 2284, 2018. DOI: 10.3390/ijerph15102284.

DRAEGER, C. L. *et al.* Brazilian Foodborne Disease National Survey: Evaluating the Landscape after 11 Years of Implementation to Advance Research, Policy, and Practice in Public Health. **Nutrients**, v. 11, p. 40, 2019. DOI: 10.3390/nu11010040.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY); EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union summary report on trends and

sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2011. **EFSA J.**, v. 11, n. 4, p. 3129, 2013. DOI: 10.2903/j.efsa.2013.3129.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. **EFSA Journal**, v. 16, n. 12, p. 262, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>. Acesso em: 10 de dezembro de 2019.

FERNANDES, M. S.; KABUKI, D. Y.; KUAYNE, A. Y. Behavior of *Listeria monocytogenes* in a multi-species biofilm with *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* and control through sanitation procedures. **International Journal of Food Microbiology**, v. 200, p. 5-12, may 2015.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bad bug book, foodborne pathogenic microorganisms and natural toxins**. 2. ed. Silver Spring: U.S. Food and Drug Administration, 2012. p. 99-103. Disponível em: <http://www.fda.gov/Food/FoodborneIllnessContaminants/CausesOfIllnessBadBugBook/>. Acesso em: 20 dez. 2019.

FORSYTHE S. J. **Microbiologia da segurança dos alimentos**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF M. **Microbiologia dos alimentos**. São Paulo: Atheneu, 2008.

FROZI, J. B.; ESPER, L. M. R.; FRANCO, R. M. Single- and Multispecies Biofilms by *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Salmonella* spp. Isolated from Raw Fish and a Fish Processing Unit. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.47, n.10, 2017.

GAHAN, C. G. M.; HILL, C. A review: Gastrointestinal phase of *Listeria monocytogenes* infection. **Journal of Applied Microbiology**, Oxford, v. 98, n. 6, p. 1345-1353, June, 2005.

GEBRETSADIK, S. *et al.* Isolation and characterization of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in foods of animal origin in Addis Ababa, Ethiopia. **Journal of Infection and Public Health**, v. 4, p. 22-29, 2011.

GOH, S. G. *et al.* Transmission of *Listeria monocytogenes* from raw chicken meat to cooked chicken meat through cutting boards. **Food Control**, v. 37, p. 51-55, mar. 2014.

GOULET, V. *et al.* Incidence of listeriosis and related mortality among groups at risk of acquiring listeriosis. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, p. 652-660, 2012.

GRIMONT, P. A. D.; WEILL, F.X. **Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars**. Paris, France: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, 2007. 166 p.

IRSHAD, S. *et al.* *Curcuma longa* (Turmeric): An auspicious spice for antibacterial, phytochemical and antioxidant activities. **Pak. J. Pharm. Sci.**, v. 31, n. 6, suppl., p. 2689-2696, nov. 2018.

KORNACKI, J. L.; JOHNSON, J. L. Enterobacteriaceae, Coliforms, and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. *In*: DOWNES, F. P.; ITO, K. **Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods**. 4th ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. Chap. 8, p. 69-82.

LAER, A. E. *et al.* Characterization of *Listeria Monocytogenes* Isolated From A Fresh Mixed Sausage Processing Line In Pelotas-Rs By PFGE. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 40, p. 574-582, 2009.

LAHOU, E. *et al.* Effectiveness of inactivation of foodborne pathogens during simulated home pan frying of steak, hamburger or meat strips. **International Journal of Food Microbiology**, v. 206, p. 118-129, aug. 2015.

LI, Q. *et al.* Serotype distribution, antimicrobial susceptibility, antimicrobial resistance genes and virulence genes of *Salmonella* isolated from a pig slaughterhouse in Yangzhou, China. **AMB Express**, v. 9, p. 210, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0936-9>. Acesso em: 10 de dezembro de 2019.

MORAES, J. O. *et al.* An ordinal logistic regression approach to predict the variability on biofilm formation stages by five *Salmonella enterica* strains on polypropylene and glass surfaces as affected by pH, temperature and NaCl. **Food Microbiology**, v. 83, p. 95-103, 2019.

MORAES, J. O. *et al.* Predicting adhesion and biofilm formation boundaries on stainless steel surfaces by five *Salmonella enterica* strains belonging to different serovars as a function of pH, temperature and NaCl concentration. **International Journal of Food Microbiology**, v. 281, p. 90–100, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **OMS estimates of the global burden of foodborne diseases**. 2015. Disponível em: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165\\_eng.pdf?ua=1/](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/199350/1/9789241565165_eng.pdf?ua=1/). Acesso em: 20 jan. 2020.

REINER, K. Catalase test protocol. **American Society for Microbiology**, 2010.

ROCCATO, A. *et al.* Survival of *Salmonella* Typhimurium in poultry-based meat preparations during grilling, frying and baking. **International Journal of Food Microbiology**, v. 197, p. 1-8, mar. 2015.

RYSER, E.T.; DONNELLY, C.W. *Listeria monocytogenes*. *In*: DOWNES, F.P.; ITO, K. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4th ed. Washington, D.C.: APHA, 2001. Chap. 36, p. 343-356.

SAKAI T., TSUCHIDO T., FURUTA M. Inhibitory Effect of Spice Powders on the Development of Heated and Irradiated *Bacillus subtilis* Spores as Evaluated by Calorimetry. **Biocontrol Science**, 2018, Vol. 23, No. 3, pp. 121 – 128

SÁNCHEZ-SALAZAR, E. *et al.* Antibiotic resistance of *Salmonella* strains from layer poultry farms in central Ecuador. **Journal of Applied Microbiology**, dec. 2019. DOI:10.1111/jam.14562.

SCOLLON, A.M.; WANG, H.; RYSER, E.T. Transfer of *Listeria monocytogenes* during mechanical slicing of onions. **Food Control**, v. 65, p. 160-167, 2016.

SOARES, J. M. *et al.* Antimicrobial and antioxidant activity of liquid smoke and its potential application to bacon. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 38, p. 189–197, 2016.

SOUZA, M. *et al.* Qualidade higiênico-sanitária e prevalência de sorovares de *Salmonella* em linguças frescas produzidas artesanalmente e inspecionadas, comercializadas no oeste do Paraná, Brasil. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.81, n.2, p. 107-112, 2014.

TRIMOULINARD, A. *et al.* Contamination by *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. and *Listeria* spp. of most popular chicken- and pork-sausages sold in Reunion Island. **International Journal of Food Microbiology**, v. 250, p. 68–74, 2017.

VALIATTI, T. B. *et al.* Avaliação Microbiológica De Linguças Tipo Frescal Comercializadas Em Supermercados Do Município De Ji-Paraná, Rondônia. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 14, n. 2, p. 678-686, ago./dez. 2016.

WANG, H.; RYSER, E.T. Quantitative transfer of *Salmonella* during mechanical slicing of tomatoes as impacted by multiple processing variables. **International Journal of Food Microbiology**, v. 234, p. 76-82, 2016.

ZARRINGHALAMA, M. *et al.* Inhibitory Effect of Black and Red Pepper and Thyme Extracts and Essential Oils on Enterohemorrhagic *Escherichia coli* and DNase Activity of *Staphylococcus aureus*. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 363-3, 2013.